



UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN



FACULTAD DE CIENCIAS
AMBIENTALES

Evaluación de procesos de desinfección (Cloro y UV) en sistemas de tratamiento de aguas servidas descentralizados (Humedales construidos)

Habilitación presentada para optar al título de
Ingeniero Ambiental

Loreto Soledad Acevedo Moraga

CONCEPCION – CHILE

2015



UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN



FACULTAD DE CIENCIAS
AMBIENTALES

Evaluación de procesos de desinfección (Cloro y UV) en sistemas de tratamiento de aguas servidas descentralizados (Humedales construidos)

Habilitación presentada para optar al título de
Ingeniero Ambiental

Alumna: Loreto Soledad Acevedo Moraga

Profesor guía: Dra. Ana Carolina Baeza Freer

Profesor Co-guía: Dra. Gladys Vidal Sáez

CONCEPCION- CHILE

2015

NOMENCLATURA

| | | |
|--------------------------------|--|------------------------|
| CxT | Concentración por tiempo de contacto | (mg·min/L) |
| DBO ₅ | Demanda Biológica de Oxígeno | (mg/L) |
| DQO | Demanda Química de Oxígeno | (mg/L) |
| HFHS | Humedal de Flujo Horizontal Superficial | |
| HFHSS | Humedal de Flujo Horizontal Subsuperficial | |
| HFVSS | Humedal de Flujo Vertical Subsuperficial | |
| IxT | Irradiación por tiempo de contacto | (mWs/cm ²) |
| IPD | Influente del Proceso de Desinfección | |
| NH ₄ ⁺ | Amonio | (mg/L) |
| N-NH ₄ ⁺ | Amonio medido como Nitrógeno | (mg/L) |
| PTAS | Planta de Tratamiento de Aguas Servidas | |
| SST | Solidos Suspendidos Totales | (mg/L) |
| COT | Carbono Orgánico Total | (mg/L) |
| TRH | Tiempo de Retención Hidráulico | (d) |
| UV | Ultravioleta | |

INDICE

| | |
|---|----|
| AGRADECIMIENTOS | 10 |
| RESUMEN | 11 |
| 1. INTRODUCCIÓN | 13 |
| 1.1 ANTECEDENTES GENERALES. | 13 |
| 1.2 AGUAS SERVIDAS..... | 14 |
| 1.2.1 Características generales..... | 14 |
| 1.2.2 Características microbiológicas..... | 16 |
| 1.2.3 Tratamiento de aguas servidas. | 18 |
| 1.3 SISTEMAS DESCENTRALIZADOS..... | 19 |
| 1.3.1 Humedales construidos..... | 20 |
| 1.3.2 Clasificación de humedales construidos..... | 21 |
| 1.3.3 Humedales de flujo horizontal subsuperficial (HFHSS)..... | 22 |
| 1.3.4 Mecanismos de eliminación y tipos de contaminantes..... | 23 |
| 1.3.5 Eliminación de patógenos. | 24 |
| 1.4 DESINFECCIÓN. | 26 |
| 1.4.1 Cloro..... | 27 |
| 1.4.1.1 Reacciones del cloro en medio acuoso..... | 27 |
| 1.4.1.2 Mecanismos de acción. | 31 |
| 1.4.1.3 Dosis de cloro..... | 31 |
| 1.4.1.4 Factores que condicionan la cloración. | 32 |
| 1.4.2 Ultravioleta. | 35 |
| 1.4.2.1 Mecanismo de acción..... | 36 |
| 1.4.2.2 Dosis de UV. | 36 |

| | |
|---|----|
| 1.4.2.3 Factores que condicionan la desinfección UV | 37 |
| 1.5 Reúso de agua. | 40 |
| 2. OBJETIVOS | 42 |
| 2.1 Objetivo general. | 42 |
| 2.2 Objetivos específicos..... | 43 |
| 3. METODOLOGÍA..... | 43 |
| 3.1 Obtención del efluente de humedal construido que se utilizó como influente del proceso de desinfección (IPD)..... | 43 |
| 3.1.1 Área de estudio. | 43 |
| 3.1.2 Características de las unidades de HFHSS. | 45 |
| 3.1.3 Extracción y almacenamiento del efluente de humedal construido que se utilizó como influente en el proceso de desinfección..... | 45 |
| 3.2 Caracterización del efluente de humedal construido que se utilizó como influente en el proceso de desinfección. | 46 |
| 3.3 Sistema de desinfección con cloro. | 47 |
| 3.3.1 Reactor..... | 47 |
| 3.3.2 Enfoque experimental..... | 47 |
| 3.4 Sistema de desinfección con luz Ultravioleta (UV). | 48 |
| 3.4.1 Reactor..... | 49 |
| 3.4.2 Enfoque experimental..... | 49 |
| 3.5 Técnicas analíticas..... | 50 |
| 3.5.1 Parámetros físico-químicos. | 50 |
| 3.5.2 Patógenos. | 52 |
| 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN..... | 56 |

| | |
|--|----|
| 4.1 Caracterización del efluente de humedal construido que se utilizó como influente en el proceso de desinfección. | 56 |
| 4.1.1 Caracterización fisicoquímica de los IPD. | 56 |
| 4.1.2 Evaluación de la presencia de patógenos de los influentes del proceso de desinfección durante el periodo de almacenamiento. | 58 |
| 4.1.2.1 Coliformes. | 58 |
| 4.1.2.2 Colifagos somáticos. | 60 |
| 4.2 Experimentos de desinfección del influente con aplicación de cloro. | 62 |
| 4.2.1 Experimentos preliminares de desinfección con cloro. | 62 |
| 4.2.2 Estrategias implementadas en el proceso de desinfección con cloro. | 65 |
| 4.2.3 Comparación de estrategias implementadas en los procesos de desinfección con cloro. | 75 |
| 4.3 Experimentos de desinfección del influente con aplicación de luz ultravioleta (UV)..... | 77 |
| 4.3.1 Comparación de las estrategias implementadas en los procesos de desinfección con luz UV. | 80 |
| 4.4 Comparación y evaluación de los resultados obtenidos en los procesos de desinfección, con respecto a la bibliografía relacionada al reúso de aguas servidas tratadas. | 84 |
| 5. CONCLUSIONES..... | 92 |
| 6. RECOMENDACIONES | 94 |
| 7. REFERENCIAS..... | 95 |

INDICE DE TABLAS

| | |
|---|----|
| Tabla 1. Composición típica de aguas servidas..... | 15 |
| Tabla 2. Patógenos presentes en aguas residuales domésticas no tratadas. | 16 |
| Tabla 3. Dosis de desinfección de cloro (mg/L) para sistemas descentralizados. 32 | |
| Tabla 4. Parámetros de diseño típicos de sistemas de desinfección UV..... | 37 |
| Tabla 5. Efecto de los constituyentes sobre desinfección UV de las aguas servidas..... | 39 |
| Tabla 6. Fechas de obtención de efluentes que se utilizaron como influente en el proceso de desinfección (IPD). | 46 |
| Tabla 7. Resumen de experimentos realizados con Cloro..... | 54 |
| Tabla 8. Resumen de experimentos realizados con luz ultravioleta. | 55 |
| Tabla 9. Resumen de la caracterización fisicoquímica de los IPD..... | 56 |
| Tabla 10. Resumen de resultados correspondientes a los experimentos preliminares de la desinfección con cloro en función de CxT..... | 63 |
| Tabla 11. Resumen de los valores CxT de cloro total, cloro libre y cloro combinado..... | 73 |
| Tabla 12. Resumen de resultados obtenidos en las estrategias de desinfección con cloro en función del CxT..... | 74 |
| Tabla 13. Resumen de resultados obtenidos en las estrategias de desinfección con luz ultravioleta en función del IxT. | 83 |
| Tabla 14. Resumen de concentraciones de microorganismos indicadores detectados luego de la desinfección con cloro, junto con las dosis medidas. | 85 |
| Tabla 15. Resumen de concentraciones de microorganismos indicadores detectados luego de la desinfección con luz UV. | 85 |

| | |
|--|----|
| Tabla 16. Valores recomendados por EPA para reuso de agua destinado a la agricultura..... | 86 |
| Tabla 17. Requisitos de agua para riego según la Norma Chilena (NCh.) 1333... | 89 |

INDICE DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1. Curva general de <i>Breakpoint</i> obtenida durante la cloración de aguas servidas. | 30 |
| Figura 2. Ubicación de la planta piloto en la PTAS de la comuna de Hualqui. (36°59'26.93" latitud sur y 72°56'47.23" de longitud oeste). | 44 |
| Figura 3. Esquema del funcionamiento de la planta piloto de HFHSS ubicada en la PTAS de Hualqui, región del Biobío. | 45 |
| Figura 4. Esquema del sistema de desinfección con cloro. | 47 |
| Figura 5. Esquema del sistema de desinfección con ultravioleta. | 49 |
| Figura 6. Comportamiento de las concentraciones de coliformes durante el periodo de almacenamiento. | 60 |
| Figura 7. Comportamiento de las concentraciones de colifagos somáticos durante el periodo de almacenamiento. | 61 |
| Figura 8. Experimentos preliminares de desinfección con cloro. | 64 |
| Figura 9. Estrategia CI1 de experimentos de desinfección con cloro. | 67 |
| Figura 10. Estrategia CI2 de experimentos de desinfección con cloro. | 68 |
| Figura 11. Estrategia CI3 de experimentos de desinfección con cloro. | 70 |
| Figura 12. Estrategia CI4 de experimentos de desinfección con cloro. | 72 |
| Figura 13. Comparación de eficiencias de eliminación logradas en las estrategias, correspondientes a procesos de desinfección con cloro. | 77 |
| Figura 14. Experimentos del proceso de desinfección con luz UV. | 79 |
| Figura 15. Comparación de las eficiencias de inactivación alcanzadas en las diferentes estrategias correspondientes a los procesos de desinfección con luz UV. | 80 |

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, debo dirigir estos agradecimientos a mis padres, Elisa y Luis, quienes han estado siempre atentos en todo mi proceso de formación universitaria y a mis hermanos Andrés y Catalina, con quienes siempre puedo contar en todo momento.

Gracias a las amigas que logré en estos años universitarios: Paula, Julia y Coni, con ustedes viví los momentos más estresantes y los momentos más felices mientras estudiamos. Obviamente espero que nuestra amistad siga luego de estos 6 años universitarios. Quisiera agradecer a quienes conocí durante este proceso: a Pablo, con quien he vivido y sigo viviendo momentos de mucha felicidad, gracias por tu apoyo y cariño incondicional. Agradecer también a mi amiga Jeni, con quien me ha otorgado su confianza y apoyo en todo momento. Por último agradecer a Polo, Manu y Aquiles por los momentos de risas, paseos y celebraciones inolvidables.

Quiero agradecer a las profesoras quienes me apoyaron y ayudaron en mi habilitación profesional. Gracias a la Dra. Gladys Vidal, quien me permitió ser partícipe de esta investigación y por permitirme ser parte del equipo GIBA. Gracias a la Dra. Carolina Baeza, quien fue mi profesora guía y me ayudó a completar este importante proceso, con su apoyo y confianza. Además, quiero agradecer a todos los integrantes del grupo GIBA, con quienes compartí durante todo este proceso, entre ellos están Francisca, María José, Daniela, Carolina, Soledad y Patricio, quienes me brindaron su apoyo, conocimientos y consejos durante este proceso.

Finalmente, gracias a quienes financiaron esta investigación. Al Proyecto INNOVA BIO BIO N° 13.3327-IN.IIP "Recuperación de agua mediante jardines depuradores a partir de aguas servidas rurales: Aplicaciones innovadoras con impacto para la comunidad rural" y al Proyecto FONDAP "Centro de Recursos Hídricos para la Agricultura y la Minería" CHRIAM por la beca otorgada para realizar esta tesis.

RESUMEN

Del total de la población en Chile, sólo el 13% vive en sectores rurales. De ellos, solo un 14% (aproximadamente 180.000 personas) cuenta con recolección y disposición de aguas servidas, es decir, queda un porcentaje de la población rural que no posee un tratamiento adecuado de sus aguas residuales. Es por ello que, una opción es la implementación de sistemas descentralizados como los humedales construidos, que corresponden a tecnologías naturales, factibles debido a su bajo costo, facilidad de instalación y utilización, además de tener resultados positivos en la eliminación de diferentes componentes del agua residual, como materia orgánica, sólidos suspendidos e incluso patógenos. Sin embargo, el humedal no asegura una completa eliminación de patógenos. Es por esto, que se hace necesario implementar sistemas de desinfección que aseguren su completa eliminación. Dentro de este contexto, se deben utilizar opciones de desinfección aptos para estos sistemas. Idealmente deben ser de fácil operación, mantenimiento y eficientes en eliminar patógenos. Para ello, existen dos opciones que cumplen con estas características: el cloro y la luz ultravioleta. El cloro es ampliamente utilizado por su capacidad de eliminar una amplia gama de patógenos, además de tener un bajo costo y ser de fácil acceso, sin embargo existen riesgos en la interacción de cloro con otros componentes del agua residual (materia orgánica) pudiendo generar subproductos de desinfección que son tóxicos para la salud humana y medio ambiente. Por otro lado, la luz UV también es capaz de eliminar patógenos de manera óptima y al ser proceso físico no deja químicos en el agua, siendo más amigable con el medio ambiente y además es de fácil manipulación.

El objetivo de esta investigación fue evaluar la eficiencia de desinfección de cloro y UV sobre efluentes de aguas servidas rurales depuradas por humedales construidos de flujo horizontal subsuperficial (HFHSS). Esto se realizó con efluentes obtenido de humedales HFHSS ubicados en las instalaciones de la

planta de tratamiento de aguas servidas de Hualqui, perteneciente a la empresa sanitaria ESSBIO S.A. Se realizó la caracterización físico-química del efluente, donde se midió la concentración de organismos indicadores de patógenos (colifagos somáticos, coliformes fecales y totales), DQO, DBO₅, SST, N-NH₄⁺, turbidez, pH y color. La medición de amonio (N-NH₄⁺) es importante para el proceso de desinfección con cloro, debido a la formación de cloro combinado (cloraminas). En los experimentos de cloración, se utilizó hipoclorito de sodio como desinfectante. En el caso de desinfección con UV se utilizaron 4 lámparas de baja presión con una longitud de onda de 254 nm y con una potencia de 8 W cada una. Posteriormente, en cada experimento se analizaron los parámetros microbiológicos para evaluar la eficiencia de desinfección.

Finalmente, en esta investigación fue posible determinar la efectiva eliminación de coliformes con la aplicación de concentraciones de cloro de 10 mg/L, logrando valores mínimos de <1,8 NMP/100 mL. Sin embargo, no fue posible una completa eliminación de colifagos somáticos, aún con la aplicación de alícuotas de 10 mg/L de cloro cada 60 y 120 minutos durante un tiempo de contacto total de 240 minutos, registrando valores mínimos de 2 UFP/100 mL. Al contrario de la desinfección con luz UV, se obtuvieron valores mínimos de colifagos somáticos de 0 UFP/100 mL con una intensidad promedio de 2,5 mW/cm² en tiempos de contacto entre 3 a 5 minutos. No obstante, no fue posible lograr concentraciones de coliformes tan bajas como en la cloración, registrando valores mínimos de 2 NMP/100 mL, aun cuando el tiempo de contacto máximo aplicado fue de 15 minutos a la misma intensidad. Además, fue posible determinar que los efluentes provenientes de los humedales construidos de flujo horizontal subsuperficial de Hualqui, al ser sometidos a un proceso de desinfección, cumplirían con la calidad bacteriológica que recomiendan entidades como EPA, para aguas regeneradas destinadas a reúso en riego de cultivos (alimentarios y no alimentarios), sin embargo, es necesario tener en cuenta otros parámetros, tales como DBO₅, SST y turbidez, para hacer efectiva la reutilización de estas aguas.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 ANTECEDENTES GENERALES.

Los recursos limitados de agua y su distribución de forma desigual, en conjunto con el crecimiento de la población mundial, conduce a una escasez de agua cada vez mayor en diferentes partes del mundo. Cerca de 1200 millones de personas, casi una quinta parte de la población mundial, vive en áreas de escasez física de agua. Otros 1600 millones, alrededor de un cuarto de la población mundial, se enfrentan a situaciones de escasez económica de agua, donde los países carecen de la infraestructura necesaria para transportar el agua desde ríos y acuíferos (PNUD, 2006). En este contexto, se ha generado una especial atención a un recurso cercano de agua para su reutilización, cuya calidad es relativamente conocida: las aguas servidas. En algunos casos, las aguas residuales son el único recurso hídrico de las comunidades vulnerables que subsisten por medio de la agricultura. Sin embargo, el uso no controlado de esas aguas podría estar relacionado con impactos sobre la salud humana (enfermedades por patógenos), los cuales pueden ser minimizados al implementar buenas prácticas de manejo (tratamiento de las aguas servidas).

Hoy en día, aún existen lugares que carecen de instalaciones de saneamiento apropiadas, dando lugar a que las enfermedades transmitidas por el agua se propaguen con gran rapidez. Esto sucede cuando excrementos portadores de organismos infecciosos contaminan el agua potable y los alimentos. Pero gracias al tratamiento de las aguas residuales, hay disminución de las infecciones transmitidas y también permite que éstas puedan ser usadas nuevamente.

Proporcionar tratamiento de aguas residuales fiables y asequibles en las zonas rurales es un desafío en muchas partes del mundo, particularmente en los países en desarrollo. Por esto, es de gran importancia poder solucionarlo con tecnologías depuradoras de aguas servidas que sean lo más amigables al estilo de vida y

situación socioeconómica de la población. Para ello, se buscan tecnologías que sean de fácil mantenimiento y utilización, bajo costo, que puedan otorgar una calidad de agua que permita su reutilización y lo más importante, que sean viables y sostenibles en el tiempo.

Se sabe que los sistemas de tratamiento naturales, como los humedales construidos son una opción viable para tratar aguas residuales, por ser tecnologías de tratamiento simples de operar, con baja producción de lodos residuales y minimizan la necesidad de equipos mecánicos y consumo de electricidad (García y Corzo, 2008; EPA, 2000). Además, se ha descubierto que son capaces de disminuir la carga orgánica eficientemente e incluso eliminar patógenos, aunque no totalmente. Es por esto que se busca estudiar procesos de desinfección, acordes a estos sistemas naturales, para eliminar los patógenos de las aguas residuales y otorgar un efluente que pudiera ser apto para su reutilización.

1.2 AGUAS SERVIDAS.

1.2.1 Características generales.

El agua que entra a los hogares e industrias no tiene la misma calidad a la salida, después de haber sido usada, por lo que debe de ser tratada antes de ser regresada al ambiente. Estas se denominan “aguas servidas” o “aguas residuales”, las cuales se puede definir como una combinación de los líquidos o desechos transportados por el agua que son expulsados de residencias, instituciones, establecimientos comerciales e industriales, así como las aguas subterráneas, las aguas superficiales y de las aguas pluviales que puedan estar presentes (Metcalf y Eddy, 2003). En Chile, las descargas de aguas servidas tratadas de sistemas centralizados se encuentran normadas por el Decreto Supremo (D.S) 90, que corresponde a la norma de emisión para la regulación de contaminantes asociados a las descargas de residuos líquidos a aguas marinas y continentales superficiales y el D.S 46, que corresponde a la norma de emisión de

residuos líquidos a aguas subterráneas. Estas aguas no pueden ser desechadas en ríos, lagos o mares sin algún tipo de tratamiento, porque pueden generar problemas como contaminación de agua potable o eutrofización, debido a su concentración de nutrientes y materia orgánica. Las aguas servidas están compuestas por distintos constituyentes, como los que se muestran en la Tabla 1.

Debido a los recursos limitados de agua, se está prestando una gran atención a la recuperación y la reutilización de las aguas residuales, sobre todo para el riego. En todos los casos, las normas de calidad de agua son cada vez más estrictas (Bayo *et al.*, 2009).

Tabla 1. Composición típica de aguas servidas.

| CONSTITUYENTE | UNIDAD | CONCENTRACIÓN | | |
|---------------------------------------|------------|----------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|
| | | DEBIL ^a | MEDIA ^b | FUERTE ^c |
| Sólidos suspendidos, total (TSS) | mg/L | 120 | 210 | 400 |
| Volátiles | mg/L | 95 | 160 | 315 |
| Sólidos sedimentables | mg/L | 5 | 10 | 20 |
| DBO ₅ (20°C) | mg/L | 110 | 190 | 350 |
| COT | mg/L | 80 | 140 | 260 |
| DQO | mg/L | 250 | 430 | 800 |
| Nitrógeno total | mg/L | 20 | 40 | 70 |
| Orgánico | mg/L | 8 | 15 | 25 |
| Amoníaco libre | mg/L | 12 | 25 | 45 |
| Nitritos | mg/L | 0 | 0 | 0 |
| Nitratos | mg/L | 0 | 0 | 0 |
| Fosforo total | mg/L | 4 | 7 | 12 |
| Orgánico | mg/L | 1 | 2 | 4 |
| Inorgánico | mg/L | 3 | 5 | 10 |
| Cloruros | mg/L | 30 | 50 | 90 |
| Sulfatos | mg/L | 20 | 30 | 50 |
| Aceites y grasas | mg/L | 50 | 90 | 100 |
| Compuestos orgánicos volátiles (COVs) | mg/L | <100 | 100-400 | >400 |
| Coliformes totales | NMP/100 mL | 10 ⁶ -10 ⁸ | 10 ⁷ -10 ⁹ | 10 ⁷ -10 ¹⁰ |
| Coliformes fecales | NMP/100 mL | 10 ³ -10 ⁵ | 10 ⁴ -10 ⁶ | 10 ⁵ -10 ⁸ |
| Colifagos | NMP/100 mL | - | 10 ³ -10 ⁴ | - |

^aConcentración débil está basada en un caudal de aguas servidas aproximadamente de 750 (L/capita·d). ^bConcentración media está basada en un caudal de aguas servidas aproximadamente de 460 (L/capita·d). ^cConcentración fuerte está basada en un caudal de aguas servidas aproximadamente de 240 (L/capita·d). NMP=Número más probable. Fuente: Metcalf y Eddy, 2003.

1.2.2 Características microbiológicas.

En las aguas servidas, nos encontramos con una gran variedad de patógenos que comúnmente subsisten en ese ambiente, los cuales son generalmente infecciosos para el ser humano. En la Tabla 2 se presentan los grupos de microorganismos que se encuentran comúnmente en aguas servidas. A continuación se comentarán algunos de estos grupos de microorganismos, que son con los que se trabajará en este estudio.

Tabla 2. Patógenos presentes en aguas residuales domésticas no tratadas.

| ORGANISMO | ENFERMEDAD CAUSADA |
|--|---|
| Bacterias | |
| <i>Escherichiacoli</i> | Gastroenteritis |
| <i>Leptospira</i> (spp.) | Leptospirosis |
| <i>Salmonella typhi</i> | Fiebre tifoidea |
| <i>Salmonella</i> (2,100 serotipos) | Salmonelosis |
| <i>Shigella</i> (4 spp.) | Shigelosis (disentería bacilar) |
| <i>Vibrio cholerae</i> | Cólera |
| Protozoos | |
| <i>Balantidiumcoli</i> | Balantidiasis |
| <i>Cryptosporidiumparvum</i> | Cryptosporidiasis |
| <i>Entamoebahistolytica</i> | Amebiasis (disentería amoébrica) |
| <i>Giardialambliia</i> | Giardiasis |
| Helmintos | |
| <i>Ascarislumbricoides</i> | Ascariasis |
| <i>T. solium</i> | Teniasis |
| <i>Trichuristrichiura</i> | Tricuriasis |
| Virus | |
| Virus entéricos (72 tipos, por ejemplo virus <i>echo</i> y <i>coxsackie</i> del polio) | Gastroenteritis, anomalías del corazón y meningitis |
| Hepatitis A | Hepatitis de tipo infeccioso |
| Agente de Norwalk | Gastroenteritis |
| Rotavirus | Gastroenteritis |

Fuente: Folleto informativo de tecnología de aguas residuales. U.S.EPA, 1999.

Las bacterias presentes en aguas servidas, corresponden a bacterias entéricas, las cuales se definen como microorganismos gram negativos, con un tamaño por lo general entre 0,5 y 5 μm de longitud (Madigan *et al.*, 2003; Bitton, 2005). Para analizar su presencia en aguas servidas, se utilizan los indicadores coliformes. Dentro de estos, se encuentran los coliformes totales, los cuales pertenecen a la

familia de las enterobacterias (bacterias entéricas) que fermentan la lactosa con producción de gas dentro de las 48 horas a 35°C (APHA, 1989). Los coliformes totales, se descargan en grandes cantidades (2×10^9 coliformes/día/cápita) en heces humanas y animales, pero no todos ellos son de origen fecal. Estos indicadores son útiles para determinar la calidad del agua potable en las plantas de tratamiento de agua, los coliformes totales son uno de los mejores indicadores de la eficiencia de tratamiento de la planta (Bitton, 2005). Dentro de los indicadores bacterianos, también se encuentran los coliformes fecales, lo que corresponde a todos los coliformes que pueden fermentar la lactosa a 44,5°C (APHA, 1989). El grupo de coliformes fecales comprende bacterias tales como *Escherichia coli* o *Klebsiella pneumoniae*. La presencia de estos microorganismos indica la presencia de materia fecal de animales de sangre caliente. Sin embargo, las fuentes humanas y animales de contaminación no se pueden diferenciar. Algunos investigadores han sugerido el uso exclusivo de *E. coli* como un indicador de la contaminación fecal, ya que se puede distinguir fácilmente de los otros miembros del grupo de coliformes fecales (Bitton, 2005).

Además de las bacterias, existen otros microorganismos patógenos de importancia, tales como los virus. Estos microorganismos patógenos corresponden a elementos genéticos cubiertos de una capa proteica que contienen material genético en su interior (ADN o ARN) (Madigan *et al.*, 2003). Dentro del grupo de virus, están los virus entéricos o también llamados virus digestivos, debido a que se multiplican en el tracto gastrointestinal y son excretados en grandes cantidades en las heces de individuos infectados. En aguas servidas, los virus entéricos están presentes en concentraciones relativamente bajas (10^3 - 10^4 NMP/100 mL) (Metcalf y Eddy, 2003; Bitton, 2005). Los organismos indicadores de estos virus entéricos son llamados bacteriófagos, los cuales corresponden a virus que infectan a las bacterias (Madigan *et al.*, 2003). Un ejemplo de bacteriófago indicador de virus entéricos son los colifagos somáticos, debido a que comparten muchas características, tales como su composición, morfología y modo de replicación, lo

cual los hace comportarse de manera similar encunto a su persistencia ambiental, variación estacional y grado de resistenciaa algunos procesos de desinfección (Solano, 2012). Además, los colifagos somáticos son más rápidos y fáciles de ser detectados en muestras ambientales y se encuentran en números más altos que los virus entéricos en aguas residuales y otros entornos (Bitton, 2005). No obstante, en aguas servidas existen otros tipos de virus de importancia en la salud pública que no pueden ser detectados a través de los colifagos somáticos, tales como rotavirus y hepatitis A. Los rotavirus, son agentes patógenos responsables de casos de diarrea en niños en todo el mundo, constituyendo una de las principales causas de mortalidad infantil. El agente de la hepatitis vírica de tipo A, es un virus que es excretado en las heces durante un periodo relativamente prolongado y a menudo se disemina por medio del agua (OMS, 1979).

1.2.3 Tratamiento de aguas servidas.

En zonas urbanas, el agua utilizada debe entrar a una planta de tratamiento de aguas servidas (PTAS), que corresponden a sistemas complejos donde diferentes propiedades fisicoquímicas y fenómenos biológicos tienen lugar simultáneamente para la depuración del agua residual. Las PTAS en general cuentan con etapas fundamentales de tratamiento: 1) tratamiento preliminar en el cual se retiran sólidos gruesos a través de rejillas; 2) tratamiento primario, remueve una porción de sólidos suspendidos y materia orgánica; 3) tratamiento secundario en el cual es posible eliminar hasta el 90 por ciento de la materia orgánica de las aguas residuales mediante el uso de procesos de tratamiento biológico (por ejemplo: lodos activados); 4) tratamiento terciario, en el cual se busca remover nitrógeno y fósforo, aunque no es tan utilizado. Y finalmente, 5) Proceso de desinfección, donde objetivo es eliminar o desactivar organismos nocivos (patógenos) y así ser devuelta al medio ambiente o ser reutilizada.

En Chile, el tratamiento de las aguas servidas se ha incrementado sustancialmente en los últimos años, alcanzando un nivel de cobertura del 99,93%, sólo en zonas urbanas (SISS, 2013). Sin embargo, aunque la cobertura en zonas urbanas es alta, existen lugares que no se encuentran conectados a un sistema de tratamiento de aguas servidas. Estos lugares corresponden a zonas rurales, que se caracterizan por ser zonas de baja densidad poblacional (menos de 2.000 habitantes) (INE, 2004). Del total de la población de Chile, sólo el 13% vive en sectores rurales, lo que comprende a 2.226.103 habitantes (INE, 2010). De ellos, solo un 14% (aproximadamente 180.000 personas) cuenta con recolección y disposición de aguas servidas (AIDIS, 2012).

Los problemas y limitaciones de los sistemas centralizados de tratamiento de aguas residuales están surgiendo progresivamente. Estos sistemas centralizados son costosos de construir y operar, especialmente en las zonas con baja densidad poblacional y hogares dispersos (Massoud *et al.*, 2009). En este caso, los sistemas descentralizados de tratamiento de aguas residuales pueden ser una solución para aliviar el problema de falta de cobertura.

1.3 SISTEMAS DESCENTRALIZADOS.

Un sistema descentralizado se encarga de tratar las aguas residuales de los hogares y las empresas que no están conectados a una planta de tratamiento de aguas residuales (sistema centralizado) (U.S.EPA, 2004). Al igual que cualquier otro sistema, deben ser diseñados, mantenidos y operados para proporcionar beneficios óptimos.

Los sistemas de tratamiento descentralizados incluyen sistemas on-site (*in situ*), los cuales dependen de los procesos naturales, aunque suelen contener componentes mecánicos para recolectar, tratar, transportar o recuperar las aguas servidas de una sola vivienda o edificio (U.S.EPA, 2004). Estos sistemas desempeñan un papel muy importante, ya que suelen ser más asequibles que las

plantas de tratamiento centralizadas y pueden ser diseñados para operar bajo una variedad de condiciones específicas del sitio en donde se desee instalar. La buena gestión y diseño de estos sistemas *in situ*, pueden proporcionar un tratamiento de aguas equivalente a una planta centralizada y a un costo menor (U.S.EPA, 2005). Algunos de estos sistemas son conocidos como “sistemas naturales” o “tecnologías no convencionales”, las cuales prometen la depuración de aguas servidas a través de mecanismos y procesos naturales que no requieren de energía externa ni de aditivos químicos (García y Corzo, 2008).

Dentro de estos sistemas naturales (tecnologías no convencionales) encontramos tratamientos como los filtros verdes, los cuales se basan en la utilización de una superficie de terreno, con plantaciones de especie forestal a la que se le aplica el agua residual a tratar, generalmente por inundación o surcos. También están los sistemas de lagunaje que consisten en balsas artificiales donde el agua circula y se almacena por un período de tiempo suficiente, de tal manera que de forma natural, se logre la depuración deseada. Los lombrifiltros (o biofiltros), que consisten en sistemas de tratamiento biológico de cultivo fijo, en base a lombrices y bacterias, combinado con diferentes estratos filtrantes inertes y orgánicos. Por último, encontramos los humedales construidos los cuales corresponden a terrenos inundados (de menos de 1 m), impermeabilizados y con macrófitas emergentes (Andrés y Rodríguez, 2008; Araya *et al.*, 2014).

1.3.1 Humedales construidos.

Los humedales construidos son sistemas de ingeniería conocidos como tecnologías naturales, que han sido diseñados y construidos para utilizar los procesos naturales que involucran vegetación, suelos y ensamblajes microbianos para tratar las aguas servidas (Vymazal, 2007). Estos procesos naturales físicos, químicos y biológicos de los humedales se han recreado y mejorado en los humedales artificiales, diseñados específicamente para tratar las aguas residuales

de industrias, de pequeñas comunidades o aguas lluvia de zonas urbanas y agrícolas.

Los humedales artificiales son especialmente apropiados para el tratamiento de aguas residuales de pequeñas poblaciones (Fernández *et al.*, 2004.), además estos sistemas se han utilizado de forma creciente gracias a sus características de construcción y funcionamiento, tales como su bajo costo de inversión en comparación a otros sistemas, requieren de poco personal para su mantenimiento y no presentan consumo energético (García y Corzo, 2008).

1.3.2 Clasificación de humedales construidos.

Los humedales construidos se clasifican dependiendo del tipo de circulación del agua, donde se encuentran los Humedales de flujo horizontal superficial (HFHS), donde el agua está expuesta directamente a la atmósfera y circula preferentemente a través de los tallos y hojas de las plantas; Humedales de flujo horizontal subsuperficial (HFHSS), donde la circulación del agua es de tipo subterráneo a través de un medio granular y en contacto con las raíces y rizomas de las plantas; Humedales de flujo vertical (HFVSS) donde el agua es distribuida sobre la superficie de un lecho de grava o arena, plantado con vegetación de humedal y el agua es tratada cuando percola a través del medio granular y las raíces de las plantas. De forma similar, los humedales horizontales y verticales están constituidos por los siguientes elementos: estructuras de entrada del influente, impermeabilización, medio granular, vegetación y estructuras de salida. Adicionalmente suelen incluir tuberías de aireación (García y Corzo, 2008).

Para tratar las aguas residuales generadas en casas, viviendas aisladas y núcleos de menos de 2000 habitantes (zonas rurales), comúnmente se utilizan humedales de flujo horizontal subsuperficial (HFHSS), debido a que son instalaciones de menor tamaño (Blanco, 2010).

1.3.3 Humedales de flujo horizontal subsuperficial (HFHSS).

En este punto, se describirá específicamente el humedal HFHSS debido a que fue el sistema de tratamiento de depuración de aguas servidas utilizado en este estudio.

En este tipo de humedales, el agua residual se alimenta en la entrada y fluye lentamente a través del medio poroso bajo la superficie, alrededor de las raíces y rizomas de las plantas en una trayectoria más o menos horizontal hasta que llega a la zona de salida (Vymazal, 2008). Al ser de flujo subsuperficial, el agua no está expuesta a la superficie durante el proceso de tratamiento, por lo que el riesgo asociado al contacto entre organismos patógenos con los humanos o fauna se reduce al mínimo. Además, un HFHSS bien operado no proporciona un hábitat adecuado para que se generen vectores, como los mosquitos (Kadlec, 2009).

En los HFHSS, la vegetación emergente más comúnmente utilizada incluye las espadañas y aneas (*Typhaspp.*), los juncos (*Schoenoplectus spp.*) y los carrizos (*Phragmitesspp.*). En Europa, los *Phragmitesson* las plantas preferidas para esta aplicación, debido a que se trata de una planta durable, de rápido crecimiento y no es una fuente alimenticia para aves o la vida silvestre, por lo que disminuye el acercamiento de la fauna a estos sistemas (U.S.EPA, 2000).

El esquema del proceso de depuración de estos sistemas es semejante al de untratamiento convencional, el cual consta de un pre-tratamiento, tratamiento primario, tratamientosecundario y, opcionalmente, tratamiento terciario. El tratamiento secundario está constituido por los propios humedales construidos, que sealimentan con los efluentes procedentes de las fosas sépticas o de tanques Imhoff (pre-tratamiento) (U.S.EPA, 2000).

1.3.4 Mecanismos de eliminación y tipos de contaminantes.

Los contaminantes presentes en aguas residuales pueden ser eliminados por procesos físicos-químicos y biológicos. Dentro de los procesos físico-químicos encontramos mecanismos de eliminación tales como sedimentación, filtración, adsorción, absorción, extracción y lixiviación. En los procesos biológicos encontramos que las plantas de los humedales son capaces de captar y acumular contaminantes, además los microorganismos también pueden captar y almacenar concentraciones de contaminantes en sus procesos metabólicos, donde se destaca por ejemplo, la remoción importante de materia orgánica.

Los tipos de contaminantes que pueden ser eliminados a través de estos procesos son (García y Corzo, 2008; U.S.EPA, 1999):

a) Materia en suspensión, la cual queda retenida en los humedales mediante la combinación de diferentes fenómenos físicos que se conocen como filtración del medio granular. Además, el rendimiento de eliminación, tanto en sistemas horizontales como en verticales, suele ser muy elevado. En efluentes con concentraciones menores a 20 mg/L, más del 90% es eliminado a través de estos sistemas, aunque un contenido excesivo de materia en suspensión en el agua residual puede provocar una pronta colmatación de los humedales.

b) Materia orgánica particulada, la cual es retenida por filtración, cerca de la entrada en humedales horizontales y cerca de la superficie en humedales verticales y al igual como son eliminados los sólidos suspendidos, también ocurren procesos de sedimentación y floculación.

c) Materia orgánica disuelta, que es degradada por distintos tipos de microorganismos que intervienen (dependiendo de la disponibilidad de oxígeno) dando lugar a reacciones de óxido-reducción, hidrólisis y fotólisis con el fin de

poder extraer energía de estos compuestos o utilizarlos como materias primas para la síntesis de diferentes productos o biomasa.

d) Nitrógeno, donde el principal mecanismo de eliminación es de tipo microbiano y consiste en la nitrificación seguida de desnitrificación. Sin embargo, en los humedales horizontales la transferencia de oxígeno es baja y hay pocas zonas aeróbicas, por lo que la nitrificación no es destacable y el rendimiento de eliminación del amonio no supera generalmente el 30%. El nitrógeno se encuentra normalmente en forma de amonio y nitrógeno orgánico y no se suele encontrar habitualmente concentraciones importantes de nitrato y nitrito. Las plantas pueden eliminar nitrógeno mediante la asimilación de amonio o nitrato.

e) Fósforo, donde su eliminación puede ser de tipo biótico que incluye la asimilación por parte de las plantas y los microorganismos y eliminación de tipo abiótico que abarcan fundamentalmente la adsorción por el medio granular. En general no se suele eliminar más del 10-20%, sin haber grandes diferencias entre sistemas horizontales y verticales.

1.3.5 Eliminación de patógenos.

Para tener una medida de la eficiencia de eliminación de patógenos en humedales, es una práctica común utilizar indicadores de contaminación fecal. Los coliformes, son un tipo de indicador que corresponden a una familia de bacterias que se encuentran comúnmente en las plantas, el suelo y los animales, incluyendo a los humanos (Orozco, 2010). Los colifagos somáticos, también son un tipo de indicador, utilizado para medir la presencia de virus entéricos (Solano, 2012). Frecuentemente, los colifagos somáticos estarán en aguas que contienen *E. coli* (su huésped) y por tanto son indicadores de contaminación fecal (Díaz, 2006).

En relación a la eficiencia de eliminación de patógenos de los HFHSS, se ha detectado que al aumentar los tiempos de residencia hidráulicos (TRH), la inactivación también se ve aumentada. Sin embargo, se ha detectado que para coliformes fecales, TRH sobre 3 días no presentan una disminución significativa en la concentración de microorganismos en el efluente (Verlicchi, 2009). Por otro lado, Headley (2013) afirma que la eliminación de *E. coli* depende en gran medida en el diseño del humedal construido. Los colifagos somáticos, son eliminados por los humedales HFHSS en el orden de 1,14 uLog (unidades logarítmicas) aproximadamente (Kadlec, 2009).

Por otra parte, también se ha descubierto que existe una relación entre la estación del año en donde se efectúa el tratamiento y la eliminación de patógenos en humedales construidos. Para coliformes totales, en otoño, verano e invierno se observaron valores sobre 96% de eliminación, pero en primavera la eficiencia bajó a un 74%. No obstante, para coliformes fecales no se observaron variaciones, presentando valores sobre el 94% en todas las estaciones del año. (Molleda *et al.*, 2008).

En general, el grado de eliminación de patógenos obtenido en sistemas horizontales, varía aproximadamente entre 1 a 2 unidades logarítmicas/100 mL (García y Corzo, 2008). Sin embargo, específicamente en el caso de humedales de flujo horizontal subsuperficial, no pueden ser diseñados para lograr una eliminación completa de bacterias coliformes (U.S.EPA, 2000), por lo que no son suficientes para producir efluentes de buena calidad sanitaria. Por lo tanto, es recomendable disponer de un sistema de desinfección para maximizar la eliminación de patógenos (García y Corzo, 2008). Además, en un sistema *in situ* la desinfección es requerida si el suelo es insuficiente (profundidad de las aguas subterráneas) con el fin de cumplir con los estándares de calidad de aguas subterráneas, si se utiliza la reutilización inmediata (reciclaje in situ) de los

efluentes, por ejemplo el riego de la vegetación (superficie aplicación del efluente) y si un proceso requiere una descarga superficial (Fedrel *et al.*, 2012).

1.4 DESINFECCIÓN.

La desinfección es la barrera final contra contaminación bacteriológica, tanto en el agua potable como en efluentes de aguas servidas. Esta etapa depende de distintos factores que influyen la acción de los desinfectantes, entre ellos está el pH, la temperatura, el tiempo de contacto (que corresponde quizás a la variable más importante en el proceso de desinfección), la concentración del desinfectante a utilizar, la temperatura, los tipos de organismos a ser eliminados y, la naturaleza y composición del agua a tratar (Metcalf y Eddy, 2003; Gross y Farrel-Poe, 2004).

Un desinfectante elimina o inactiva a los microorganismos de distintas maneras, ya sea dañando la pared celular, alterando la permeabilidad de la célula, alterando la naturaleza coloidal del protoplasma, alterando a nivel de ADN o ARN e inhibiendo la actividad enzimática. Para ello, se requiere de un desinfectante ideal, el cual debe tener características tales como: a) Disponibilidad, que incluye su fácil acceso y precios razonables; b) capacidad de desodorización (eliminación de olores); c) debe ser homogéneo (la solución debe ser uniforme en composición); d) no debe ser absorbido por materia orgánica que no sea células de las bacterias; e) no debe ser corrosivo; f) no debe ser tóxico para humanos y animales; g) debe ser capaz de penetrar a través de las superficies; h) seguro de usar, transportar y almacenar; i) que sea soluble en agua; j) que sea estable; y k) debe ser eficaz en el rango de temperatura ambiente (Metcalf y Eddy, 2003). Sin embargo, estas características definen mejor a un desinfectante utilizado en plantas de tratamiento de aguas servidas urbanas (centralizadas).

Para el caso de sistemas descentralizados o sistemas *in situ*, el desinfectante ideal, además de cumplir con las características descritas anteriormente, se destaca que debe ser principalmente sencillo de operar y seguro (U.S.EPA, 2002).

En sistemas descentralizados, los procedimientos de mantenimiento adecuados son a veces difíciles de implementar. Por ello, se requiere un proceso que opere de forma fiable durante un largo período de tiempo entre las actividades de mantenimiento (Leverenz *et al.*, 2006).

El cloro, la radiación ultravioleta e incluso el ozono, son los desinfectantes más nombrados en lo que se refiere a sistemas *in situ* (Gross y Farrel-Poe, 2004). Sin embargo, el ozono no es recomendado, debido a que es más costoso y complejo de operar (U.S.EPA, 2002). En este caso, los desinfectantes ideales para sistemas descentralizados, por cumplir con las características anteriormente mencionadas, son el cloro y la radiación ultravioleta (U.S.EPA, 2002).

1.4.1 Cloro.

De todos los desinfectantes, el cloro es el más común y se ha utilizado durante mucho tiempo en las plantas de tratamiento como desinfectante de agua potable y aguas servidas de todo el mundo (Metcalf y Eddy, 2003). Fundamentalmente, se considera desinfectante debido a su fuerte capacidad de oxidación, que destruye o inhibe el crecimiento de bacterias y algas. Por otro lado, elimina o reduce colores y olores, lo cual se utiliza en muchos tratamientos industriales (industrias de conservas, lecheras, papel, textiles, etc.) (Ramalho, 1983).

En cuanto a su uso, el cloro puede ser adicionado al agua en forma de gas (Cl_2), líquido (NaOCl , hipoclorito de sodio) o sólido ($[\text{Ca}(\text{OCl}_2)]$, hipoclorito de calcio). En el caso del cloro gas, este suele tener muchos riesgos relacionados con su transporte, almacenamiento y alimentación, lo que se ha solucionado mediante el uso de hipoclorito de sodio o hipoclorito de calcio (Metcalf y Eddy, 2003), los cuales son recomendados para utilizarse en sistemas descentralizados (U.S.EPA, 2002; Leverenz *et al.*, 2006).

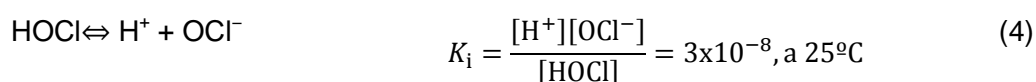
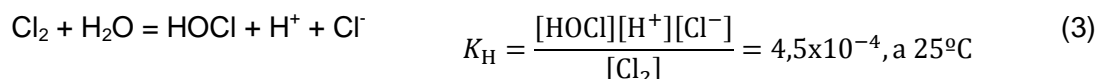
1.4.1.1 Reacciones del cloro en medio acuoso.

a) Demanda de cloro

Corresponde a la cantidad de cloro utilizada o consumida por bacterias, algas, compuestos orgánicos y sustancias inorgánicas, tales como hierro, manganeso y amoníaco. Esta reacción es instantánea y al completarse la demanda comienza a aparecer el cloro residual libre, el cual se encarga de la desinfección desde su aparición, por lo tanto, la desinfección no se produce hasta que el cloro se combina con las sustancias presentes en el agua (Lindsay, 2004).

b) Cloro libre

Cuando se añade cloro al agua, se forma por hidrólisis el ácido hipocloroso (HOCl), que luego se disocia en un protón (H⁺) y en ión hipoclorito (OCl⁻), como se muestra en las ecuaciones (3) y (4). Se indica las constantes de equilibrio (K_H) y de ionización (K_i).



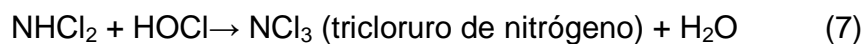
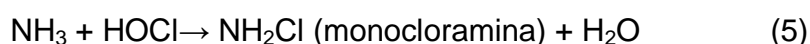
El HOCl y el OCl⁻ son las formas de cloro más efectivos para lograr la desinfección y forman lo que se conoce como “cloro libre”. El cloro libre corresponde al cloro que está disuelto en el agua y que no está asociado a la materia orgánica.

El grado de disociación del HOCl y OCl⁻ es dependiente del pH. A un pH < 5,0 aproximadamente el 100% del cloro está en forma de HOCl, que cae a un 50% a un pH de 7,5 aproximadamente, mientras que a un pH > 9,0 el 100% de cloro se encuentra en forma de OCl⁻. Por otro lado, la temperatura también tiene efecto

sobre la disociación de estas especies, aunque en menor medida, causando que ocurra la reacción a valores de pH ligeramente más altos a temperaturas más bajas (Percival *et al.*, 2014).

c) Cloro combinado

Las aguas residuales contienen nitrógeno en forma de amoníaco, el cual reacciona con el ácido hipocloroso que se forma al adicionar cloro al agua, dando lugar a tres tipos de cloraminas: monocloramina, dicloramina y tricloruro de nitrógeno. Las cloraminas reaccionan con el HOCl como se observa en las siguientes reacciones sucesivas (Metcalf y Eddy, 2003).



Las proporciones de estos compuestos dependen del pH y de la concentración de amoníaco presente. En relación a la acción germicida, se debería a la aparición de cloro cuando se forma ácido hipocloroso (Brooks, 1999). El cloro combinado es mucho menos eficiente como desinfectante, en comparación al cloro libre, debido a que requiere de tiempos de contacto muchos más largos para lograr el mismo grado de desinfección. Por lo mismo, el cloro combinado se utiliza muy poco como el principal desinfectante (Percival *et al.*, 2014).

d) Cloro total

Corresponde a la suma entre el cloro libre y el cloro combinado. Junto al cloro libre, el cloro total puede determinarse a través del método DPD, con ayuda de un

colorímetro (HACH, 2000). Luego de tener ambas mediciones se puede establecer el valor del cloro combinado a partir de la ecuación correspondiente (8).

$$\text{Cloro Combinado} = \text{Cloro Total} - \text{Cloro Libre} \quad (8)$$

e) Punto de quiebre o *Breakpoint*

"*Breakpoint*" es el término que se aplica al proceso mediante el cual se añade suficiente cloro para reaccionar con todas las sustancias oxidables, tales que si se añade cloro adicional este se mantendrá como cloro libre (Figura 1).

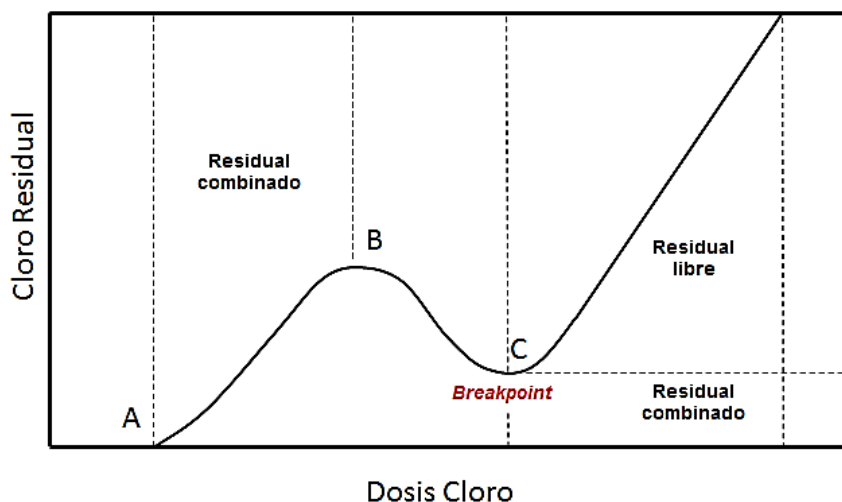


Figura 1. Curva general de *Breakpoint* obtenida durante la cloración de aguas servidas.

Fuente: Metcalf y Eddy, 2003.

Cuando se añade el cloro, reacciona con todas las sustancias oxidables, como ion ferroso (Fe^{+2}) o ion manganeso (Mn^{+2}) y la materia orgánica, para ser reducido a ion cloruro y no forma un residual detectable. Esto se referencia en la Figura 1 hasta antes del punto A (Metcalf y Eddy, 2003; Ibarguen y Bernal, 2008).

Entre los puntos A y B reacciona con todo el amoníaco y las aminas orgánicas presentes para formar un residual de cloro combinado (cloraminas). Entre los puntos B y C (*breakpoint*), la destrucción de las cloraminas reduce el cloro residual, formándose tricloruro de nitrógeno, óxido nitroso (N_2O) y nitrógeno (N_2) (Metcalf y Eddy, 2003; Ibarguen y Bernal, 2008).

Luego de que se completa la oxidación de los compuestos oxidables y al seguir añadiendo cloro, se sobrepasa el *breakpoint* y comienzan a aumentar los niveles de cloro libre. Teóricamente, la relación entre el cloro y el nitrógeno amoniacal es de 7,6:1 en este punto. Este corresponde a una relación estequiométrica, donde se expresa el amoniaco como nitrógeno (N) y el ácido hipocloroso (HOCl) se expresa como cloro gas (Cl_2) (Metcalf y Eddy, 2003).

1.4.1.2 Mecanismos de acción.

El mecanismo de acción del cloro sobre los microorganismos se basa en la inactivación de las reacciones enzimáticas, ácidos nucleicos y la desnaturalización de proteínas de las células bacterianas. De esta manera, concluyen las funciones vitales y se produce la muerte del microorganismo (Negroni, 2009). Sin embargo, se ha observado que algunos microorganismos han desarrollado resistencia al cloro, como los quistes de *Cryptosporidium parvum* y *Giardia lamblia* (Rojas *et al.*, 2008).

1.4.1.3 Dosis de cloro.

Para lograr el grado de desinfección requerido, puede obtenerse a través de la variación de la concentración de cloro y el tiempo de contacto, los cuales conforman la dosis de cloro, generalmente medida en mg·min/L y representada como CxT (concentración por el tiempo de contacto). Las dosis de cloro varían según las características del agua (U.S.EPA, 1999).

Algunos microorganismos como las bacterias y virus, presentan distintas eficiencias de eliminación dependiendo del desinfectante y de las distintas dosis (CxT) a que podrían sometidos. Según Metcalf y Eddy (2003), para lograr 4 uLog de eliminación de bacterias se necesitan CxT de cloro libre entre 10 a 12 mg·min/L, mientras que los virus, son necesarios CxT de 6 a 7 mg·min/L. Para lograr esta misma eficiencia de eliminación (4 uLog), usando cloraminas, son necesarios CxT entre 200 a 250 mg·min/L para la eliminación de bacterias y CxT entre 200 a 1200 mg·min/L para la inactivación de virus. Por lo tanto, dependiendo del microorganismo, es importante la concentración, el tiempo de contacto y el tipo de desinfectante aplicado (Metcalf y Eddy, 2003).

Para el caso de sistemas descentralizados, las dosis desinfectantes de cloro recomendadas son las que se muestran en la Tabla 3. Estas varían según la tecnología de donde provenga el agua, el pH y la temperatura.

Tabla 3. Dosis de desinfección de cloro (mg/L) para sistemas descentralizados.

| Hipoclorito de calcio | Efluente de tanque séptico | Efluente de tratamiento biológico | Efluente de filtro de arenas |
|-----------------------|----------------------------|-----------------------------------|------------------------------|
| pH 6 | 35-50 | 15-30 | 2-10 |
| pH 7 | 40-55 | 20-35 | 10-20 |
| pH 8 | 50-65 | 30-45 | 20-35 |

Nota: Tiempo de contacto = 1 hora a caudal medio y temperatura 20°C. Aumentar el tiempo de contacto a 2 horas a 10°C y 8 horas a 5°C. Dosis = mg/L como Cl. Dosis asumen demanda típica de cloro y son estimaciones conservadoras basadas en los datos de coliformes fecales. Fuente: U.S.EPA, 2002.

1.4.1.4 Factores que condicionan la cloración.

En esta sección, se mencionaran algunos parámetros y factores que influyen en el proceso de desinfección de aguas servidas con aplicación de cloro.

a) pH del agua: En la relación al ácido hipocloroso (HOCl), cuanto mayor es el pH del agua, este compuesto tiende a ionizarse y el equilibrio de la reacción se desplaza hacia la formación de ión hipoclorito, cuyo potencial redox es menor y la acción germicida es mucho más lenta. Cuando el valor del pH es de 8,5 el 90% del cloro se encuentra en la forma del ión hipoclorito, por lo que cuando las aguas son ligeramente básicas, se requiere aumentar drásticamente las concentraciones de cloro añadidas al agua para generar el efecto bactericida (Metcalf y Eddy, 2003).

b) Temperatura: A mayor temperatura, mayor es la acción desinfectante del cloro, pero a su vez es más inestable y se evapora con mayor rapidez. Como en la práctica la cloración depende de la temperatura ambiente, no es un factor determinante y sólo sería necesario ajustar la dosis en función del efecto esperado (Metcalf y Eddy, 2003).

c) Tiempo de contacto: Es un factor muy importante en el proceso de cloración. El tiempo mínimo de contacto debe ser de 30 minutos, pero a veces es conveniente aumentar este tiempo para lograr la correcta desinfección. Debido a que la oxidación de la materia orgánica es lenta y en el caso de que se encuentre en gran cantidad, es necesario aumentar las concentraciones de cloro para aumentar el tiempo de contacto (Metcalf y Eddy, 2003).

d) Características de los organismos: Algunos microorganismos parecen aumentar su resistencia al ser sometidos a procesos con altas tasas de inactivación, mientras otros la disminuyen, por lo que hay mucha controversia al respecto. Varios quistes de protozoos, tales como amebas, *Giardia* y *Cryptosporidium*, son capaces de sobrevivir a la cloración del agua y producir enfermedades diarreicas (Metcalf y Eddy, 2003).

e) Asociación de los microorganismos: Uno de los factores más importantes es el tamaño de los microorganismos. Los virus, al ser de pequeño tamaño pueden asociarse a partículas mucho más pequeñas y protegerse, en comparación con bacterias y protozoos. Se postula que la eficacia de la desinfección está determinada por la naturaleza de este mecanismo de asociación (Metcalf y Eddy, 2003).

f) Otras consideraciones: El cloro libre que queda en el agua, incluso a bajas concentraciones, es altamente tóxico para los organismos acuáticos. A pesar de su gran potencial de desinfección contra varios tipos de patógenos, es bien sabido que diferentes sustancias pueden reaccionar con cloro en el proceso de desinfección del agua para producir subproductos de desinfección (DBPs, por sus siglas en inglés) (Bayo *et al.*, 2009). Los DBPs se forman a través de una serie de reacciones complejas entre el cloro libre y un grupo de ácidos orgánicos conocidos generalmente como ácidos húmicos (Metcalf y Eddy, 2003). Las reacciones conducen a la formación de moléculas de carbono individuales que a menudo se designan como HCX_3 , donde X puede ser un átomo de cloro o bromuro (Metcalf y Eddy, 2003). Los DBPs relacionados con el cloro se pueden separar en seis grupos: los trihalometanos, acetonitrilos halogenados, aldehídos halogenados, cetonas halogenadas y los fenoles clorados. Por otro lado, se ha descubierto otro tipo de DBP llamado N-nitrosodimetilamina (NDMA), que corresponde al grupo de los compuestos conocidos como nitrosaminas. Estos compuestos son altamente cancerígenos y se forman por la reacción entre ácido nitroso (formado por anión nitrito (NO_2^-) y ácido hipocloroso (HOCl)) y dimetilamina (Metcalf y Eddy, 2003).

La utilización no adecuada de dosis de desinfectante y tiempos de contacto, incrementa la formación de compuestos indeseables (Pérez y Espigares, 1999), además, investigaciones concluyen que los DBPs que se forman en las aguas servidas cloradas pueden ser tóxicos y pueden tener un impacto perjudicial sobre los organismos acuáticos que están expuestos a ellos y por lo tanto, la cloración

no puede ser una estrategia de tratamiento adecuada para la protección de la vida en las aguas receptoras (Watson *et al.*, 2012).

Por otra parte, cuando se piensa en las aguas servidas tratadas con cloro para reutilizarlas en riego, es preocupante la presencia de DBPs. Al regar con agua con estas características, se espera que los contaminantes sean absorbidos por el suelo y degradados por microorganismos, sin embargo, la naturaleza química de estos compuestos (DBPs) varía enormemente. En general, no existe suficiente información técnica para evaluar los posibles efectos adversos de estos contaminantes en este ámbito (Chenet *et al.*, 2013).

Además de ser preocupante la presencia de DBPs en la reutilización de aguas servidas desinfectadas con cloro, existe otra limitación con este desinfectante, el cual no inactiva completamente a patógenos como *Giardia* y virus, los cuales pueden resistir a la cloración. Debido a esto, una persona podría enfermar por la ingestión de estos agentes patógenos presentes en la vegetación contaminada, al ser regada con agua de estas características (Chenet *et al.*, 2013).

1.4.2 Ultravioleta.

La desinfección Ultravioleta (UV) es un proceso físico, que se basa en la transferencia de energía electromagnética desde una fuente (lámpara UV) al material genético de un microorganismo (ARN y ADN). Las lámparas ultravioleta emiten una luz en un rango de 200 – 400 nm de longitud de onda, sin embargo, el rango de longitud de onda óptimo para el efecto germicida va desde los 250 a los 270 nm (Bolton, 2008; Gross y Farrel-Poe, 2004; U.S.EPA, 1999).

Dentro de sus características, está la ventaja de que el proceso de desinfección UV es rápido y al no usar químicos no añade toxicidad a aguas residuales. Además, no se ha encontrado generación de subproductos de desinfección a

partir de la desinfección UV que impacten negativamente a los cuerpos receptores (EPA Victoria, 2002).

1.4.2.1 Mecanismo de acción.

La luz UV penetra la pared celular de los microorganismos, siendo absorbida por el material genético (ADN o ARN), generando daños y retardando la capacidad de los microorganismos para sobrevivir, lo que lleva su inactivación (incapacidad de replicación) o muerte de la célula (Bolton, 2008; U.S.EPA 2002; U.S.EPA 2004). Sin embargo, algunos microorganismos son capaces de reparar y revertir los efectos destructivos de la radiación UV cuando se aplica en dosis bajas. Estas reactivaciones se conocen como fotoreactivación, la cual necesita luz solar para efectuarse y la reactivación en oscuro, donde el microorganismo se repara en ausencia de luz solar. (U.S.EPA, 2004; Bolton,2008).

1.4.2.2 Dosis de UV.

La efectividad de la desinfección UV depende factores como el tiempo de contacto, la intensidad de la luz UV, el grosor del líquido, la absorbancia del agua residual, la turbidez, la configuración del sistema y la temperatura (U.S.EPA, 2002). El tiempo de contacto y la intensidad de la luz UV, conforman la dosis, la cual se expresa como el producto de la intensidad de luz UV, expresado en miliwatts, por centímetro cuadrado (mW/cm^2) y el tiempo de exposición del fluido o partícula a ser tratada, expresado en segundos (s). Las unidades de dosis de UV se expresan como milijoule por centímetro cuadrado (mJ/cm^2), que es equivalente al segundo miliwatts por centímetro cuadrado ($\text{mW}\cdot\text{s} / \text{cm}^2$).

La dosis aplicada, varía según el microorganismo patógeno a desinfectar. Para las bacterias, las dosis UV varían entre 80 a 100 mJ/cm^2 , mientras que para los virus, la dosis varía entre 70 a 90 mJ/cm^2 (Metcalf y Eddy, 2003).

Para sistemas descentralizados, EPA (2002) recomienda ciertos rangos de dosis para la inactivación de microorganismos patógenos, que también dependen de otros parámetros de diseño, lo cual se presenta en la Tabla 4.

Tabla 4. Parámetros de diseño típicos de sistemas de desinfección UV.

| Parámetros de diseño | Valor de diseño típico |
|--------------------------|---|
| Dosis UV | 20 – 140 mW-s/cm ² |
| Tiempo de contacto | 6 – 40 segundos |
| Intensidad UV | 3 – 12 mW-s/cm ² |
| Transmitancia UV | 50 – 70 % |
| Velocidad aguas servidas | 2 – 15 pulgadas por segundo (0,05 - 0,38 metros por segundo) |

Fuente: U.S.EPA, 2002.

1.4.2.3 Factores que condicionan la desinfección UV.

a) Propiedades hidráulicas del reactor: Para lograr una máxima exposición a la radiación UV, este sistema de desinfección debe tener un flujo uniforme, debido a que la trayectoria que sigue un organismo dentro del reactor es determinante para la desactivación del mismo (Chan, 2008).

b) Intensidad de la radiación UV:Depende de factores como el recubrimiento de las lámparas UV con suciedad, el tiempo de operación de la lámpara UV, la configuración y ubicación en el reactor. El recubrimiento de las lámparas depende de la dureza, alcalinidad, temperatura de la lámpara, pH y la concentración de calcio y hierro. El color del agua y la turbidez, también son factores que hacen variar la efectividad de la radiación UV.Un agua residual con alto contenido de sólidos suspendidos totales (>30 mg/L) y de microorganismos asociados con las partículas, interfieren en la cantidad de radiación UV que debería llegar a los organismos patógenos para su desactivación (Metcalf y Eddy, 2003). Sin

embargo, estos problemas pueden minimizarse con la limpieza, actividades de operación y mantención apropiadas (Chan, 2008).

c) Características del agua residual: Dependiendo de los constituyentes pueden haber distintos efectos en la desinfección UV, como se muestra en la Tabla 5. Uno de los mayores problemas en la desinfección UV es la variación observada en la absorbancia (o transmitancia). Los contaminantes disueltos pueden impactar directamente sobre la absorbancia o mediante el ensuciamiento de las lámparas UV, de tal manera que la intensidad se vea reducida (Metcalf y Eddy, 2003).

d) Otras consideraciones: La desinfección UV no cambia significativamente la calidad del agua y no existe residual de desinfectante en comparación con desinfectantes químicos a base de cloro. Es por esto último que el cloro y cloraminas son con frecuencia utilizados, seguidos de la desinfección UV, para proporcionar un residual de desinfectante. En este aspecto, investigaciones han demostrado que la combinación UV/cloro puede aumentar, hasta 15 veces, la formación de cierto DBP llamado tricloronitrometano (TCNM) y también la formación de dimetilamina (DMA) y metilamina (MA), lo cual se ve influenciado por la luz UV, dosis de cloro y pH del agua. Este fenómeno puede ocurrir tanto en agua potable como en aguas servidas (Denget *al.*, 2014).

Por otro lado, el proceso de desinfección UV contiene ventajas importantes, tales como su efectividad para la eliminación de *Cryptosporidium* y *Giardia*. El pH, COT (Carbono Orgánico Total) y turbidez, no se ven mayoritariamente afectados, tampoco se ha observado corrosividad y formación potencial de DBPs, debido a que es un proceso físico. Además, la tecnología es relativamente económica en comparación con otras opciones de desinfección, es relativamente fácil de operar, no se necesitan químicos por lo que lo hace más amigable con el medio ambiente y sus tiempos de contacto están en el rango de unos pocos segundos, siendo una desinfección rápida (Metcalf y Eddy, 2003).

Como limitación, actualmente no es posible la supervisión continua de la dosis de UV, por lo que los operadores tienen que depender de mediciones secundarias (lecturas de los sensores, tasas de flujo de agua, etc.). Por último, en relación a las lámparas, algunas al ser de mercurio son un potencial riesgo si es que llegan a romperse y al ser dependientes de una fuente de alimentación eléctrica, la desinfección podría ser objeto de interrupciones por cortes de luz (U.S.EPA, 1999).

Tabla 5. Efecto de los constituyentes sobre desinfección UV de las aguas servidas.

| Constituyente | Efecto |
|---------------------------|---|
| Materiales húmicos | Fuertes absorbedores de la radiación UV. |
| Aceites y grasas | Pueden acumularse en las lámparas UV y pueden absorber la radiación UV. |

| | |
|--|---|
| Sólidos Suspendidos Totales (SST) | Absorbedores de radiación UV y protegen a las bacterias. |
| Alcalinidad | Afecta la solubilidad de los metales que pueden absorber la luz UV. |
| Dureza | Calcio, magnesio y otras sales pueden formar depósitos minerales en los tubos de cuarzo, especialmente a elevadas temperaturas. |
| Amonio | No hay efecto o hay un menor efecto. |
| pH | Puede afectar la solubilidad de metales y carbonatos. |
| Sólidos Disueltos Totales (SDT) | Pueden provocar la formación de depósitos minerales. |
| Descargas Industriales | Dependiendo de los constituyentes, puede provocar variaciones en la transmitancia. |
| Entrada de aguas pluviales | Dependiendo de los constituyentes, puede provocar variaciones en la transmitancia. |

Fuente: Metcalf y Eddy, 2003.

1.5 Reúso de agua.

El término reutilización o reúso de aguas, corresponde al uso de aguas servidas tratadas o también llamadas aguas regeneradas, para un uso beneficioso, como el riego agrícola (Metcalf y Eddy, 2007; EPA, 2012). Las aguas servidas tratadas

representan una fuente más fiable y significativa de agua regenerada en comparación con las aguas residuales procedentes de la agricultura, desagües pluviales o vertidos industriales (Metcalf y Eddy, 2007).

El reúso del agua puede ser destinado a distintas categorías, las cuales según lo recomendado por EPA (2012), son:

a) Reúso urbano: Existe el reúso no restringido, el cual corresponde a usos no potables en entornos municipales donde el acceso público no está restringido y el uso restringido, el cual corresponde a usos no potables en entornos municipales, donde se controla o restringe el acceso del público a través de barreras físicas o institucionales, tales como vallas o señalizaciones.

b) Reúso en agricultura: donde existe el reúso para riego de cultivos destinados a consumo humano y, el reúso para cultivos procesados y no comestibles.

c) Reúso para embalses: el cual corresponde al uso de agua regenerada para embalses en el que se imponen limitaciones a las actividades acuáticas recreativas de contacto corporal y el uso de agua regenerada para embalses donde el contacto corporal está restringido.

d) Reúso ambiental: que corresponde al uso de agua regenerada para crear, mejorar, mantener, o aumentar los volúmenes de agua, incluidos los humedales y hábitats acuáticos.

e) Reúso industrial: el cual se refiere al uso de agua regenerada en aplicaciones industriales e instalaciones, para la producción de energía y la extracción de combustibles fósiles.

f) Recarga de aguas subterráneas: donde el uso de agua regenerada se destina a recargar los acuíferos que no se utilizan como fuente de agua potable.

Muchas comunidades se acercan a los límites de sus reservas de agua de fácil acceso. La recuperación y reutilización del agua se ha convertido en una opción atractiva para conservar y extender los suministros de agua disponible mediante su sustitución con agua regenerada.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo general.

Evaluar la eficiencia de desinfección de cloro y ultravioleta sobre efluentes de aguas servidas rurales provenientes de humedales construidos.

2.2 Objetivos específicos.

- a) Determinar la eficiencia de desinfección de cloro para la eliminación de patógenos, a través de la medición de organismos indicadores (colifagos, coliformes fecales y totales).

- b) Determinar la eficiencia y capacidad de desinfección de ultravioleta para la eliminación de patógenos, a través de la medición de organismos indicadores (colifagos, coliformes fecales y totales).

- c) Comparar resultados y evaluar la calidad microbiológica del agua post-desinfección para reúso de agua en riego según revisión bibliográfica.

3. METODOLOGÍA

3.1 Obtención del efluente de humedal construido que se utilizó como influente del proceso de desinfección(IPD).

3.1.1 Área de estudio.

La planta piloto está constituida por cuatro Humedales Construidos de Flujo Horizontal Subsuperficial (HFHSS), los cuales se denominan como celdas de humedales. La planta piloto se encuentra ubicada en la planta de tratamiento de aguas servidas (PTAS) de la empresa ESSBIO S.A., en la comuna de Hualqui, región del Biobío (Figura 2).

El influente utilizado en este estudio corresponde a la mezcla de los efluentes provenientes de los cuatro HFHSS.



Figura 2. Ubicación de la planta piloto en la PTAS de la comuna de Hualqui.(36°59'26.93" latitud sur y 72°56'47.23" de longitud oeste).

3.1.2 Características de las unidades de HFHSS.

El humedal consta de 4 celdas paralelas de HFHSS, con un área superficial de 4,5 m² cada una y un volumen aproximado de 1,52 m³. Se utiliza como medio de soporte gravilla de tamaño 3/4" a 1". El tiempo de retención hidráulico (TRH) varía entre 3 y 9 días, siendo función de la cantidad de agua servida aplicada. La Figura 3 ilustra la ubicación de cada celda de HFHSS y el sentido del flujo de agua en la planta piloto. Cada celda está plantada con un total de 18 ejemplares. Las celdas 1 y 3 están plantadas con la especie de macrófita *Phragmites australis*, mientras que las celdas 2 y 4, están plantadas con la especie *Schoenoplectus californicus*.

La planta piloto es alimentada con aguas servidas que provienen de la etapa posterior al tratamiento preliminar (cámara de rejillas y desarenador) y antes de ingresar al tratamiento biológico de la PTAS, la cual es extraída por una bomba para aguas negras modelo Vxm8/35-I (Marca Pedrollo). La planta piloto tiene implementado un sistema de tratamiento primario previo, el cual está constituido por un tanque desarenador-desengrasador de 630 L, una fosa séptica de 1200 L y un tanque de 630 L, que actúa como pozo de bombeo. Del pozo de bombeo se entrega agua a un nuevo tanque de distribución de 1000 L a las 4 celdas de HFHSS.

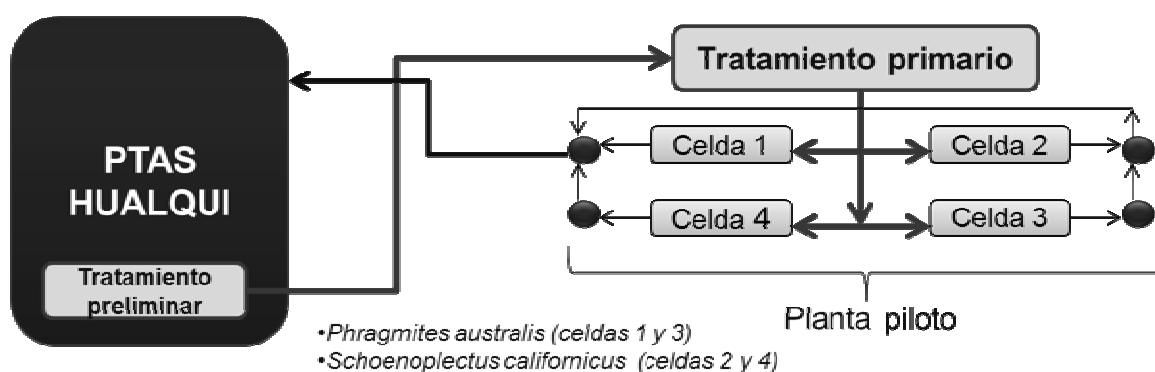


Figura 3. Esquema del funcionamiento de la planta piloto de HFHSS ubicada en la PTAS de Hualqui, región del Biobío.

3.1.3 Extracción y almacenamiento del efluente de humedal construido que se utilizó como influente en el proceso de desinfección.

Durante el periodo de este estudio (septiembre 2014 – enero 2015), se recolectó en 5 ocasiones, efluentes de los HFHSS para obtener el influente del proceso de desinfección (IPD). La Tabla 6, presenta las fechas en las que se recolectaron los IPD durante el periodo de estudio.

Tabla 6. Fechas de obtención de efluentes que se utilizaron como influente en el proceso de desinfección (IPD).

| INFLUENTES | Fechas |
|-------------------|--------------------------|
| IPD-1 | 29 de septiembre de 2014 |
| IPD-2 | 20 de noviembre de 2014 |
| IPD-3 | 12 de diciembre de 2014 |
| IPD-4 | 29 de diciembre de 2014 |
| IPD-5 | 15 de enero de 2015 |

Cada IPD fue refrigerado en cámara de frío a 4°C en bidones de plástico de 20 litros, previo a su utilización en los experimentos de desinfección. Los tiempos de almacenamiento variaron según el calendario de experimentos.

3.2 Caracterización del efluente de humedal construido que se utilizó como influente en el proceso de desinfección.

La caracterización físico-química consistió en evaluar las concentraciones de la Demanda Química de Oxígeno (DQO), Demanda Biológica de Oxígeno (DBO₅), Carbono Orgánico Total (COT), Sólidos Suspendidos Totales (SST), amonio (N-NH₄⁺), color, turbidez y pH.

La caracterización microbiológica consistió en evaluar la presencia y comportamiento de los patógenos, a partir de la medición de coliformes totales,

coliformes fecales y colifagos. Debido al tiempo en que cada IPD se mantuvo almacenado en cámara de frío, se debió continuar con la caracterización microbiológica cada vez que el IPD era retirado de la cámara de frío para su utilización. Estas caracterizaciones correspondieron a valores semanales y a las concentraciones iniciales de cada experimento (tiempo 0).

3.3 Sistema de desinfección con cloro.

3.3.1 Reactor.

Se utilizó un reactor batch conformado por un vaso precipitado de 1 L de vidrio borosilicato, con un volumen de 500 mL de IPD en constante agitación, al cual se le agregó una solución de concentración conocida de hipoclorito de sodio (NaClO) como desinfectante.

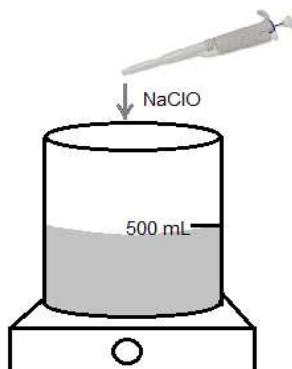


Figura 4. Esquema del sistema de desinfección con cloro.

3.3.2 Enfoque experimental.

Los experimentos realizados consistieron en evaluar los procesos de desinfección con cloro, en función de la aplicación de diferentes dosis de cloro y tiempos de contacto. Estos se efectuaron bajo condiciones de pH original ($7,3 \pm 0,7$) y temperatura ambiente ($17,5^{\circ}\text{C} \pm 3,5$). Para lograr las dosis de cloro de cada

experimento, se preparó una solución madre de NaOCl al 10% con agua destilada. De esta solución madre se obtuvieron volúmenes de alícuotas para conseguir las concentraciones iniciales de cloro total. En la Tabla 7, se encuentran indicadas con detalle las concentraciones de cloro aplicadas, los tiempos de contacto de cada experimento y los tiempos de contacto al cual se tomaron muestras.

Se realizaron tomas de muestra, a diferentes tiempos de contacto durante cada experimento, los cuales fueron utilizados para (a) el análisis de concentraciones de amonio (N-NH_4^+); (b) para la evaluación de la eficiencia de desinfección de patógenos (coliformes totales, coliformes fecales y colifagos) y (c) para el análisis de las concentraciones de cloro total y cloro libre. Las muestras para los análisis (a) y (b) fueron de cloradas con tiosulfato de sodio al 10% antes de analizar.

Los procesos de desinfección se iniciaron con experimentos preliminares, cuyo objetivo fue determinar el comportamiento de los coliformes en función de los parámetros tiempo de contacto y dosis de cloro. Según los resultados adquiridos en los experimentos preliminares, se establecieron estrategias de trabajo que consistieron en experimentos que se centraron en la eliminación de colifagos somáticos, en conjunto con el análisis de coliformes. Las estrategias CI1, CI2 y CI3, consistieron en la aplicación de una dosis inicial por un tiempo de contacto determinado. La estrategia CI4, se diferencia de las demás estrategias, en que la concentración de cloro se adicionó en tres puntos del experimento en forma escalonada con el objetivo de superar el punto de quiebre (o *Breakpoint*) para lograr concentraciones de cloro libre por sobre las de cloro combinado (o cloraminas). Estas estrategias se detallan en la Tabla 7, donde se indican las concentraciones de cloro aplicadas en cada estrategia, junto con los tiempos de contacto totales y los tiempos de contacto a los que se tomaron muestras.

3.4 Sistema de desinfección con luz Ultravioleta (UV).

3.4.1 Reactor.

Se utilizó un reactor batch conformado por una cámara UV cerrada para evitar entrada de luz externa

y con paredes color negro en su interior para evitar el desvío de los haces de luz UV y así asegurar la incidencia de luz de manera directa y perpendicular sobre la muestra. En el interior de la cámara se dispuso una Placa Petri con un volumen de IPD de 200 mL en constante agitación, como se ilustra en la Figura 5.

A la muestra se le aplicó una irradiación directa, con 4 lámparas UVC ($\lambda = 254 \text{ nm}$) de 8W a una distancia de 25 cm entre la lámpara y el área superficial de la solución IPD. La energía de radiación fue aproximadamente de $2,5 \text{ mW/cm}^2$ (miliWatts por centímetro cuadrado) en todos los experimentos, la cual fue medida con un radiómetro UVX de onda corta (Meter UVP J-225).

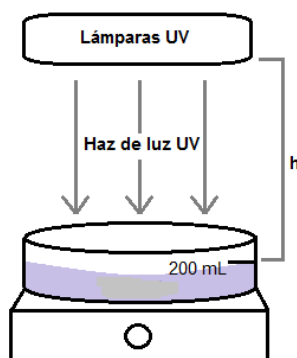


Figura 5. Esquema del sistema de desinfección con ultravioleta.

3.4.2 Enfoque experimental.

Los experimentos realizados consistieron en evaluar el proceso de desinfección con luz ultravioleta en función de la aplicación de una dosis correspondiente a una intensidad de luz UV de $2,5 \text{ mJ/cm}^2$ para todos los experimentos y el parámetro a

variar fue solo el tiempo de contacto. Todos los experimentos fueron realizados a pH original ($7,3 \pm 0,7$) y temperatura ambiente ($17,5^{\circ}\text{C} \pm 3,5$).

Las tomas de muestra se realizaron a diferentes tiempos de contacto, las cuales se utilizaron para el análisis de coliformes totales, coliformes fecales y colifagos. Estos experimentos se realizaron conforme a estrategias, las cuales se encuentran especificadas en la Tabla 8. Cada estrategia se divide según el tiempo de contacto total aplicado en cada experimento, donde se mantuvo una intensidad de luz UV constante y solo se variaron los tiempos de contacto.

3.5 Técnicas analíticas.

La determinación de los parámetros físico-químicos y análisis de patógenos, para el efluente de los humedales construidos que se utilizó como influente en el proceso de desinfección, se realizó mediante las técnicas analíticas que se detallan en las secciones 4.5.1 y 4.5.2.

3.5.1 Parámetros físico-químicos.

- **Demanda Química de Oxígeno (DQO):** Se determinó mediante el método colorimétrico de reflujó cerrado 5220-D del Standard Methods (APHA, 2005) a 600 nm, a través del equipo Thermo Spectronic, modelo Genesys 10 UV, después de 2 horas de digestión a temperatura 150°C .
- **Demanda Biológica de Oxígeno (DBO₅):** Se determinó por la prueba de DBO al quinto día, del Standard Methods 5210-B (APHA, 2005). La muestra se incubó a 20°C durante 5 días.
- **Sólidos Suspendidos Totales (SST):** Se determinaron a partir del método 2540-D del Standard Methods (APHA, 2005).

- **Carbono Orgánico Total (COT):** Se trataron las muestras según lo indicado en el 5310-A del Standard Methods (APHA, 2005) y fueron medidos a través del equipo TOC-L analyzer de Shimadzu.
- **Color:** Se determinó a través de un espectrofotómetro a una longitud de onda de 254nm, en cubeta de cuarzo 1x1 cm y a 440 nm en una cubeta de vidrio 1x1 cm, a través del equipo ThermoSpectronic modelo Genesys 10 UV. A la muestra utilizada se le ajustó el pH a 9, con ácido clorhídrico (HCl) o hidróxido de sodio (NaOH) según corresponda (Chamorro *et al.*, 2009).
- **Amonio (N-NH_4^+):** Se midió a través del método del fenol, según lo indicado en el método 4500-NH₄ del Standard Methods (APHA, 2005), donde se deja desarrollar el color durante una hora en oscuridad para luego medir la absorbancia a 640 nm en el equipo Thermo Spectronic modelo Genesys 10 UV.
- **pH y temperatura:** Fueron medidos a través del equipo HI 255 Combined Meter de Hanna Instruments.
- **Turbidez:** Fue medida a través de un turbidímetro portátil modelo 2100Q marca Hach.
- **Cloro libre y cloro total:** Se midieron a través del método DPD con ayuda de un colorímetro portátil marca HACH, modelo DR/890.

3.5.2 Patógenos.

- **Coliformes fecales y coliformes totales:** Se determinaron a través de la técnica de tubos múltiples mediante el número más probable (NMP), según lo indicado en el Standard Methods 9221-TC (APHA, 2005) y la Norma Chilena 2313/22 (Instituto de normalización, 1995). La técnica del NMP comprende siempre una prueba presuntiva y otra confirmativa. La prueba presuntiva consiste en una metodología de tipo general para cualquier grupo de bacterias. En esta prueba se utilizan tubos de cultivo que en su interior contienen el medio de cultivo Lauril Sulfato Triptosa (LST) y sumergida una campana Durham. Para llevar a cabo la prueba, se utilizan en total 15 tubos de cultivo por muestra, debido a que son 3 diluciones que constan de 5 tubos por cada dilución. Antes de efectuar los cultivos, la botella con la muestra y las diluciones, deben ser agitadas vigorosamente. Posteriormente, las muestras se inoculan en cada tubo de acuerdo a las diluciones seleccionadas y se incuban a una temperatura de 35 °C durante 24 - 48 horas. Después de 24 horas de incubación efectuar una primera lectura para observar si hay tubos positivos, es decir, con producción de ácido, si el medio contiene un indicador de pH, turbidez y producción de gas en la campana Durham. Después de 48 ± 2h a partir de la inoculación, se hace la lectura final. De los tubos que en esta lectura den positivos, se procede a hacer las pruebas confirmativas para coliformes totales y coliformes fecales.

Prueba confirmativa para coliformes totales: A partir de cada uno de los tubos que han resultado positivos en la prueba presuntiva, se deben traspasar con una a dosasadas desde los tubos con LST positivos hacia los tubos que contienen caldo Lactosa Bilis Verde Brillante (BVB). Luego, se incuban durante 48 ± 3 h a 35 ± 0,5 °C. Dentro de 48 ± 3 h constituye un ensayo confirmativo positivo.

Prueba confirmativa para coliformes fecales: Transferir una asada completa del cultivo viable desde los tubos positivos del ensayo presuntivo, a un tubo de fermentación con caldo EC. Incubar en baño termoregulado durante 24 horas a $44 \pm 0,5$ °C, observar presencia de turbidez y gas.

- **Colifagos somáticos:** Se determinó a través del método de capa simple, utilizando *E. coli* ATCC 13706 como cepa hospedadora (APHA, 2005; U.S.EPA, 2001; Solano, 2012). Esta cepa hospedera *E coli* ATCC 13706 es mantenida en cultivo stock de Agar Tripticasa Soya más glicerina y se reactiva en Caldo Tripticasa Soya, tomando una porción de la cepa con el asa extendida y se transfiere al caldo. Posteriormente se incuba a 35°C por un tiempo de 4-5 h antes de su uso.

En el caso de la muestra, deben filtrarse 100 mL, con filtro estéril de 0,22 µm. El filtrado debe disponerse en un matraz erlenmeyer de 250 mL estéril. Si la muestra presenta gran cantidad de material particulado es aconsejable realizar una filtración previa por un filtro con tamaño de poro 0,45 µm para continuar con filtración por 0,22 µm.

Posteriormente, para realizar el cultivo, se deben disolver los Agar Pac (previamente preparados y esterilizados). Calentar y mantener a 48°C, en baño termoregulado. A continuación, en el matraz de 250 mL que contiene 100 mL de muestra filtrada se debe agregar 1 mL de solución de cloruro de calcio y mantener a 48 °C. Luego, se deben agregar 5 mL de *E. coli* y dejar la mezcla a 48°C por 3 minutos en el baño termoregulado. Transcurrido este periodo, adicionar suavemente los 100 mL de Agar Pac disuelto para evitar formación de burbujas. Por último, Repartir la mezcla en placas Petri estéril de 90 mm de diámetro (6-8 placas), incubar a 37°C y leer a las 18 h de incubación.

Tabla 7. Resumen de experimentos realizados con Cloro.

| Experimentos | Influente utilizado | Dosis (mg/L) | Tiempo de contacto total (min) | Parámetros de muestreo y tiempos de muestra (min) | | |
|-----------------------|---------------------|--|--------------------------------|---|---------------|--------------|
| | | | | Amonio | Coliformes | Colifagos |
| Exp-CI 1 | IPD-1 | 20 | 60 | 0 , 60 | 0-15-30-45-60 | - |
| Exp-CI 2 | IPD-1 | 10 | 60 | 0 , 60 | 0-15-30-45-60 | - |
| Exp-CI 3 | IPD-1 | 10 | 30 | 0 , 60 | 0-5-10-15-30 | - |
| Exp-CI 4 | IPD-1 | 10 | 20 | 0 , 60 | 0-3-5-10-20 | 0-20 |
| Exp-CI 5 | IPD-1 | | | | 0-3-5-10-20 | |
| Exp-CI 6 | IPD-2 | | | | 0-3-5-15-20 | |
| Exp-CI 7 | IPD-2 | 10 | 60 | 0 , 60 | 0-20-45-60 | 0-20-60 |
| Exp-CI 8 ^a | IPD-3, IPD-5 | 10 | 240 | 0 , 240 | 0-60-120-240 | 0-60-120-240 |
| Exp-CI 9 ^b | IPD-3, IPD-5 | <u>Dosis inicial:</u> 10. <u>Dosis escalonada:</u> 60 min = 10 120 min = 10 | 240 | 0 , 240 | 0-60-120-240 | 0-60-120-240 |

^aSe realizó un experimento en las mismas condiciones por cada IPD, lo que en este caso corresponden a dos experimentos.

^bSe realizó un experimento en las mismas condiciones por cada IPD, lo que en este caso corresponden a dos experimentos.

^cSe agregó al IPD una alícuota de cloro inicial (tiempo 0) de 10 mg/L, luego se volvió a aplicar una alícuota a los 60 y 120 minutos de tiempo de contacto para aumentar en 10 mg/L la dosis.

Tabla 8. Resumen de experimentos realizados con luz ultravioleta.

| Experimentos | Influente utilizado | Intensidad ^a (mW/cm ²) | Tiempo de contacto total (min) | Parámetros de muestra contacto de toma de | |
|--------------|---------------------|--|--------------------------------|--|--|
| | | | | Coliformes | |
| UV 1 | IPD-2 | 2,5 | 5 | 0 - 1 - 3 - 5 | |
| UV 2 | IPD-3 | | 5 | 0 - 0,5 - 1 - 3 - 5 | |
| UV 3 | IPD-4 | | 10 | 0 - 1 - 3 - 5 - 10 | |
| UV 4 | IPD-5 | | 15 | 0 - 1 - 3 - 5 - 15 | |

^aCorresponde a la intensidad promedio medida con ayuda de un radiómetro de onda corta, durante todos los experimentos.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

4.1 Caracterización del efluente de humedal construido que se utilizó como influente en el proceso de desinfección.

4.1.1 Caracterización fisicoquímica de los IPD.

El resumen de la caracterización físico-química de los efluentes de los humedales construidos de flujo horizontal subsuperficial (HFHSS) de Hualqui, que corresponden a los IPD de esta investigación, se presenta en la Tabla 9.

Tabla 9. Resumen de la caracterización fisicoquímica de los IPD.

| Parámetro | Unidad | Rango | | Promedio |
|--------------------------------|--------|--------|--------|----------------|
| | | Mínimo | Máximo | |
| pH | - | 6,95 | 7,35 | 7,18 ± 0,15 |
| N-NH ₄ ⁺ | mg/L | 93,90 | 170,30 | 118,47 ± 27,0 |
| DBO ₅ | mg/L | 38,23 | 111,43 | 71,11 ± 28,98 |
| DQO | mg/L | 66,30 | 253,10 | 181,23 ± 63,7 |
| COT | mg/L | 21,31 | 39,21 | 32,42 ± 7,47 |
| SST | mg/L | 17,80 | 49,00 | 29,14 ± 10,78 |
| Color (440 nm) | abs | 0,07 | 0,24 | 0,15 ± 0,06 |
| Color (254 nm) | abs | 0,46 | 0,74 | 0,63 ± 0,10 |
| Turbidez | NTU | 23,80 | 314,00 | 153,16 ± 92,84 |

Las concentraciones de materia orgánica (DBO₅ y DQO) registradas en esta investigación, correspondientes a los efluentes de humedales construidos de flujo horizontal subsuperficial (HFHSS) de Hualqui, se encuentran dentro de los valores indicados por Vymazal (2008) para estos tipos de humedales, el cual realizó un estudio de recopilación de información relacionado con las eficiencias de eliminación de los HFHSS en base a lo que se ha obtenido a partir de datos de sistemas de tratamiento de aguas servidas de varios países (República Checa,

Dinamarca, Alemania, Polonia, Eslovenia, España, Suecia, EE.UU), mostrando valores medios para estos parámetros de $\text{DBO}_5 = 42 \text{ mg/L}$ y $\text{DQO} = 143 \text{ mg/L}$.

Para los SST, las concentraciones que se indican en la bibliografía según Vymazal (2008), corresponden a valores medios de $35,1 \text{ mg/L}$ para efluentes de HFHSS, lo cual se encuentra dentro del rango registrado en esta investigación.

Según Metcalf y Eddy (2003) el color medido en aguas servidas provenientes de efluentes secundarios en términos de absorbancia, medidos a una longitud de onda de 254 nm , se encuentran entre $0,3$ a $0,5/\text{cm}$. Sin embargo, en este estudio se detectaron valores de color (254 nm) en términos de absorbancia, de $0,63 \pm 0,1/\text{cm}$, lo cual se encuentra sobre el rango indicado en la bibliografía.

La turbidez en este estudio registró un valor promedio de $153,16 \pm 92,84 \text{ NTU}$, lo cual se encuentra sobre el rango indicado para efluentes provenientes de HFHSS, que en general presentan valores entre $12 - 67 \text{ NTU}$ (Quiñonez-Días *et al.*, 2001). La turbidez en el agua es causada principalmente por materia en suspensión, aunque los compuestos orgánicos solubles que dan color al agua también pueden contribuir (Kadlec, 2009), por lo tanto, los altos valores de turbidez medidos en esta investigación podrían asociarse a los altos valores de color detectados. Sin embargo, el tamaño, forma y el índice de refracción de las partículas en suspensión también afectan las propiedades de dispersión de la luz. Las partículas de color negro, pueden absorber luz e incrementar las lecturas de turbiedad (Mogollón, 2005).

Para el caso del N-NH_4^+ , la concentración promedio que se obtuvo en esta investigación es superior al indicado según Vymazal (2008), el cual muestra un valor medio de $22,1 \text{ mg/L}$ para aguas provenientes de humedales HFHSS. Sin embargo, hay que tener en cuenta la concentración de amonio del influente que utiliza específicamente el sistema de humedales HFHSS de Hualqui. Según Vidal

et al. (2012), se han encontrado rangos entre $83,3 \pm 22,2$ mg/L hasta $120,3 \pm 28,9$ mg/L de N-NH_4^+ durante los periodos de verano y otoño, con eficiencias promedio de eliminación de un 25%. Cabe destacar, que en humedales construidos, la reducción de NH_4^+ ocurre principalmente por el proceso de nitrificación, el cual requiere condiciones aeróbicas, es decir, depende de la disponibilidad de oxígeno. Sin embargo, en humedales como los utilizados en esta investigación (humedales HFHSS), no es posible la generación de condiciones aeróbicas, debido a que la transferencia de oxígeno es baja y prevalecen las zonas anaeróbicas, por lo tanto, se reduce la capacidad de eliminar el NH_4^+ por nitrificación en el sistema, conduciendo a un rendimiento de la eliminación de amonio que no supera el 30% (Lara, 1999; García y Corzo, 2008; Rojas, 2012). Dicho esto, se deduce que las altas concentraciones de amonio alcanzadas en esta investigación, podrían asociarse a las altas concentraciones del influente y la configuración del humedal que se utilizó para este estudio.

4.1.2 Evaluación de la presencia de patógenos de los influentes del proceso de desinfección durante el periodo de almacenamiento.

Los influentes del proceso de desinfección (IPD) fueron almacenados en cámara de frío a 4°C y sometidos a una evaluación de la concentración de patógenos. Esta evaluación permitió conocer la variación de estas concentraciones durante el tiempo que se mantuvo almacenado cada IPD. La presencia de patógenos se evaluó a partir de la medición de coliformes totales, coliformes fecales y colifagos somáticos.

4.1.2.1 Coliformes.

La variabilidad de las concentraciones de coliformes totales y fecales de los IPD durante el periodo de almacenamiento, se ilustra en la Figura 6. El periodo de almacenamiento corresponde a periodos semanales, que variaron de 1 a 5 semanas de almacenamiento. Cabe destacar, que de los cinco IPD, el IPD-3 fue el

único que no se mantuvo almacenado por más de una semana, por lo tanto no se agregó a este análisis.

En primer lugar, se observa que el IPD-1, al estar almacenado durante un periodo de 5 semanas, presentó una disminución de coliformes totales de 0,5 unidades logarítmicas (uLog) y una reducción de coliformes fecales de 2,4 uLog. Por otra parte, el IPD-2, se mantuvo almacenado por un periodo de 2 semanas, en las que no se observó una disminución de coliformes totales, manteniéndose valores iguales o mayores al nivel de detección del método ($\geq 1,6 \times 10^7$ NMP/100 mL), sin embargo, los valores de coliformes fecales de este IPD, mostraron una reducción de 0,24 uLog.

Los IPD-4 e IPD-5, a pesar de haber estado almacenados por un periodo similar (1 semana), presentaron valores variables en la disminución de la concentración de coliformes. El IPD-4 presentó una variación en la concentración de coliformes totales y fecales de 0,5 uLog y 0,25 uLog, respectivamente y el IPD-5 no mostró variaciones de coliformes totales, mientras que los coliformes fecales disminuyeron en 0,6 uLog.

En general, es evidente la disminución en las concentraciones de coliformes de las aguas servidas si se almacenan durante periodos prolongados. Sin embargo, la tendencia de las concentraciones no es clara, presentando variaciones de aumento o disminución, lo cual podría asociarse a la manipulación de las muestras, como por ejemplo la agitación poco homogénea antes de ser analizadas o también, podría asociarse a los altos errores que presenta el método de detección de coliformes utilizado en esta investigación.

No existe ningún método que permita conservar de manera perfecta la integridad de las muestras, independiente de cual sea su procedencia. Existen técnicas recomendadas, como enfriar o congelar la muestra, para intentar retardar la

degradación que se genera por diferentes procesos (físicos, químicos o biológicos) dentro de la muestra almacenada, sin embargo, ocurren inevitablemente. Por estas razones, es recomendable tener conocimiento de la duración del periodo de almacenamiento y la eficiencia de los métodos de conservación, teniendo en cuenta la naturaleza de la muestra. Para aguas servidas, se recomienda preservar las muestras a temperaturas entre 0 a 5°C y en oscuridad, las que en su mayoría son estables hasta por 24 horas. Si se mantienen bajo -20°C, el periodo de conservación puede ir desde pocas semanas a dos meses, dependiendo de la estabilidad de las muestras (Castillo, 2004).

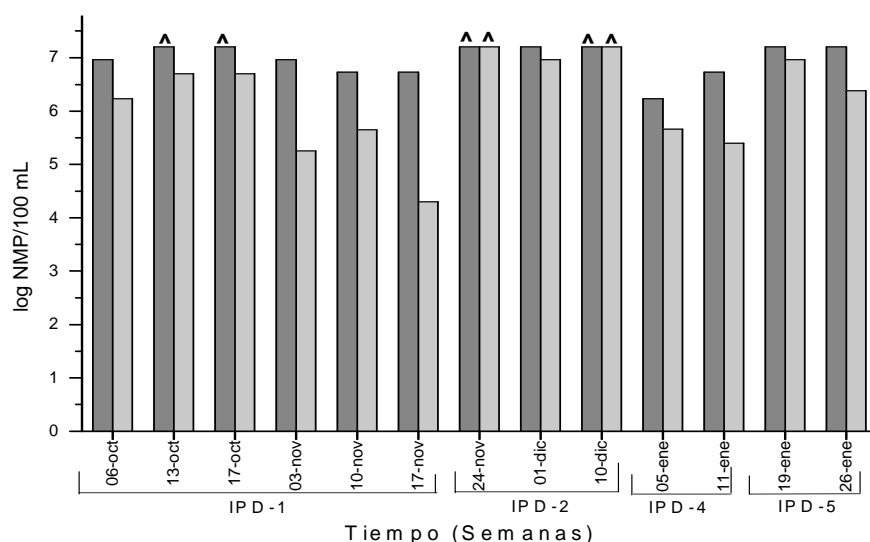


Figura 6. Comportamiento de las concentraciones de coliformes durante el periodo de almacenamiento.

(■) Coliformes totales, (■) coliformes fecales, (^) Valores de coliformes sobre el límite de detección del método (>1,6x10⁷ NMP/100 mL).

4.1.2.2 Colifagos somáticos.

Las concentraciones de colifagos que se detectaron durante el periodo en el que los IPD se mantuvieron en cámara de frío, se presentan en la Figura 7. Cabe recordar, que el IPD-3 fue el único que no se mantuvo almacenado por más de una semana, por lo tanto no se agregó a este análisis.

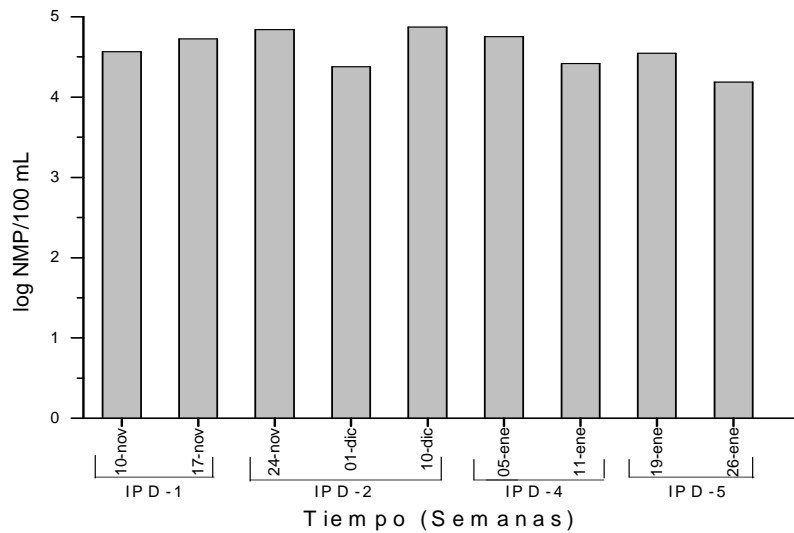


Figura 7. Comportamiento de las concentraciones de colifagos somáticos durante el periodo de almacenamiento.

(■) Colifagos somáticos.

Comparando los valores de los IPD, las concentraciones de colifagos somáticos se mantuvieron sin grandes variaciones alrededor de $1,54 \times 10^4$ - $7,42 \times 10^4$ UFP/100 mL, con una diferencia de 0,7 uLog.

Solano *et al.* (2012), ha descubierto que los colifagos somáticos, al estar almacenados a 4°C incluso durante un mes, variaron su concentración en solo 0,9 uLog. Por otro lado, según Solano *et al.* (2012), la temperatura óptima para la preservación de los colifagos es -70°C, debido a que al estar almacenados durante un mes a esta temperatura, no se observaron variaciones en las concentraciones. Sin embargo, no se recomienda mantener la muestra por periodos muy prolongados, debido a que al mantener la muestra a -70°C durante aproximadamente 7 meses, se observó una disminución de colifagos alrededor de 1,5 uLog.

4.2 Experimentos de desinfección del influente con aplicación de cloro.

Esta sección se divide en dos partes, que consisten en la presentación de los resultados obtenidos en los experimentos preliminares y los experimentos que luego se realizaron en base a estrategias experimentales, que se explican en la sección 3.3.2 de la metodología.

4.2.1 Experimentos preliminares de desinfección con cloro.

Estos experimentos preliminares se realizaron con el objetivo de determinar el comportamiento de los coliformes totales y fecales ajustando los parámetros tiempo de contacto y dosis de cloro.

Los resultados logrados en estos experimentos preliminares, se presentan en la Tabla 10, que incluye la eficiencia de eliminación en unidades logarítmicas (uLog) en función de los CxT de cloro total, cloro libre y cloraminas, que corresponden a su concentración a tiempo 0 (C, en mg/L), por el tiempo de contacto total (T, en minutos). Además, se presentan los valores iniciales y finales de coliformes en número más probable (NMP/100 mL), denominados como valores de entrada y salida. Cabe recordar, que el cloro total, se define como la suma de las concentraciones de cloro libre y cloro combinado. El cloro libre corresponde al cloro que está disuelto en el agua y que no está asociado a la materia orgánica. El cloro combinado corresponde a la reacción entre el amonio contenido en las aguas servidas y el ácido hipocloroso (HOCl) que se forma al adicionar cloro al agua, dando lugar a las cloraminas (Metcalf y Eddy, 2003; Gray, 2014).

Tabla 10. Resumen de resultados correspondientes a los experimentos preliminares de la desinfección con cloro en función de CxT.

| Experimentos preliminares | CxT ^a (mg·min/L) | | | Coliformes Totales | | | Coliformes Fecales | | |
|-----------------------------|-----------------------------|-------------|------------|-----------------------|---------------------|---------------------|----------------------|---------------------|---------------------|
| | Cloro total | Cloro Libre | Cloro comb | Entrada (NMP/100 mL) | Salida (NMP/100 mL) | uLog de eliminación | Entrada (NMP/100 mL) | Salida (NMP/100 mL) | uLog de eliminación |
| Exp-CI 1^b | 1140 | 353 | 788 | >1,6x10 ⁷ | 2 | 6,9 | 5x10 ⁶ | <1,8 | 6,4 |
| Exp-CI 2^c | 476 | 64 | 412 | >1,6 x10 ⁷ | 49 | 5,5 | 5 x10 ⁶ | <1,8 | 6,4 |
| Exp-CI 3^c | 250 | 216 | 34 | 9 x10 ⁶ | <1,8 | 6,7 | 1,8 x10 ⁵ | <1,8 | 5,0 |

^aEsta relación CxT se indica en base al cloro medido a tiempo 0 y el tiempo de contacto total al cual se realizó el experimento.

^bDosis inicial de cloro total aplicada (tiempo 0) = 20 mg/L.

^cDosis inicial de cloro total aplicada (tiempo 0) = 10 mg/L.

El comportamiento de las concentraciones de coliformes y la variación de las concentraciones de cloro total, cloro libre y cloro combinado durante el proceso de desinfección, se ilustra en la Figura 8. La presencia y variaciones de cloro combinado (cloraminas), son debido a las concentraciones de amonio detectadas en esta investigación (Tabla 9 sección 4.1.1). Además, fue posible registrar concentraciones de cloro libre durante el proceso de desinfección, lo cual podría asociarse a que las concentraciones de amonio no fueron lo suficientemente altas para lograr transformar todo el cloro presente cloraminas, logrando que ambas especies de desinfectantes actuaran sobre el influente. En relación al cloro total medido en esta investigación es posible observar en la Figura 8, que pasado el tiempo 0, comenzaron a disminuir las concentraciones de cloro total, debido a que comienza a efectuarse la demanda de cloro, la cual corresponde a la reacción del cloro con distintos componentes presentes en el agua residual (p.ej. bacterias, algas, compuestos orgánicos e inorgánicos, tales como hierro, manganeso y amonio).

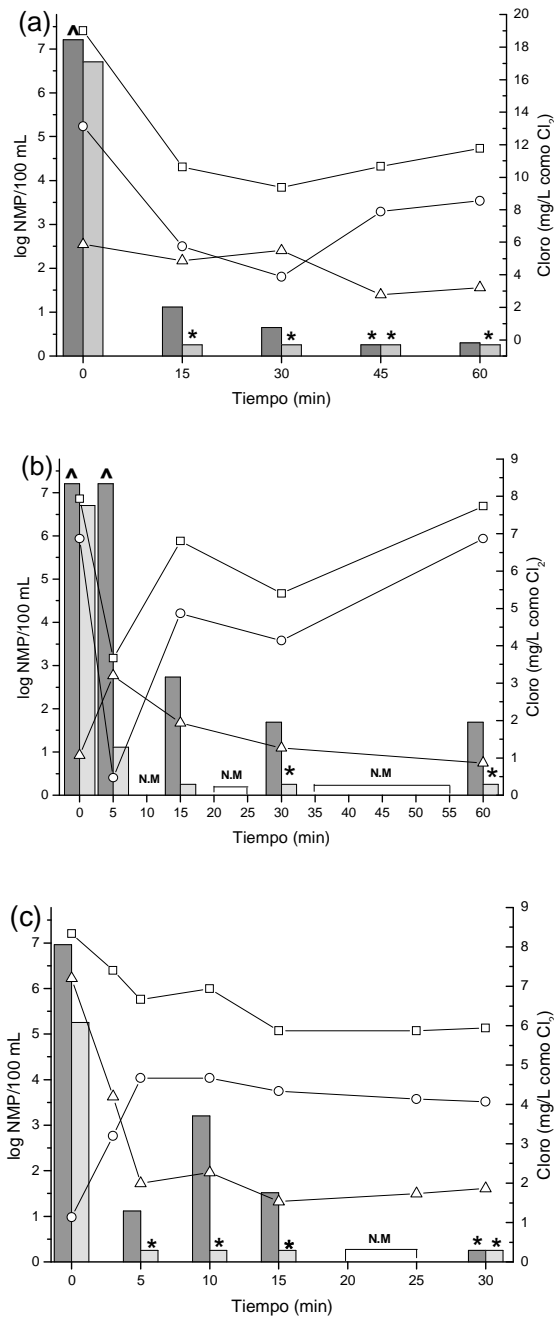


Figura 8. Experimentos preliminares de desinfección con cloro.

(a) Exp-CI1, (b) Exp-CI2, (c) Exp-CI3. Realizado a pH original ($7,3 \pm 0,7$) y temperatura ambiente ($17,5^{\circ}\text{C} \pm 3,5$). (\square) Cloro total, (\triangle) cloro libre, (\circ) cloro combinado, (\blacksquare) Coliformes totales, (\blacksquare) coliformes fecales, (\wedge) Valores de coliformes sobre el límite de detección del método ($>1,6 \times 10^7$ NMP/100 mL), (\star) Valores de coliformes bajo el límite de detección del método ($<1,8$ NMP/100 mL). N.M= No medido.

Los valores CxT presentados en esta sección, son comparables con otras investigaciones, donde se demostró que dosis de 470 mg·min/L de cloraminas lograron inactivaciones de coliformes fecales y totales entre 4,9 - 5,8 uLog (Aguirre *et al.*, 2004). Otros estudios indican que, para coliformes fecales, una dosis de cloraminas entre 95 - 185 mg·min/L son suficientes para lograr 2 uLog de eliminación de estos microorganismos indicadores (Hoff, 1986). Sin embargo, según lo que se logra apreciar en la Figura 8, la eliminación de coliformes se efectuó a tiempos de contacto inferiores al tiempo total aplicado, lo que se resume en menores CxT, por lo que debería estudiarse si es que realmente esos CxT serían efectivos para su eliminación, debido a que no se observa una similitud entre los tiempos de contacto en los que se efectuó esta eliminación temprana.

No obstante, fue posible verificar que la dosis recomendada por EPA (2002) de 10 mg/L durante un tiempo de contacto total de 60 minutos, a un pH y temperatura de 7 y 20°C respectivamente, es efectiva para la eliminación de bacterias. Además, los rangos de CxT adquiridos en este estudio, también se encuentran dentro de los rangos que recomienda Metcalf y Eddy (2003) para lograr la inactivación de bacterias.

4.2.2 Estrategias implementadas en el proceso de desinfección con cloro.

De acuerdo a los resultados y conclusiones que se generaron a partir de los experimentos preliminares, se inició con las estrategias de desinfección, en las que se evaluó de manera primordial, la eficiencia de eliminación de colifagos somáticos, en conjunto con la evaluación de coliformes. La Tabla 11 presenta los valores CxT de cloro total, cloro libre y cloro combinado, asociados a cada experimento que corresponde a la concentración medida a tiempo 0, por el tiempo de contacto total. Por otro lado, la Tabla 12 presenta los resultados de cada estrategia con los experimentos asociados, las eficiencias de eliminación (uLog) y concentraciones de entrada y salida de los organismos indicadores.

a) Estrategia C11:

Según los valores indicados en la Tabla 12, es posible establecer un promedio de eliminación de coliformes totales de $6,0 \pm 0,6$ uLog, mientras que para los coliformes fecales, se establece una eliminación promedio de $5,5 \pm 1,2$ uLog. En la Figura 9, se presenta el comportamiento de los coliformes y la variación de las concentraciones de cloro durante el proceso de desinfección, donde se observa que la eliminación de coliformes se efectuó a los 10 minutos de tiempo de contacto.

Por otro lado, para el caso de los colifagos somáticos, se logró una eficiencia de eliminación promedio de $2,3 \pm 0,2$ uLog, lo cual no fue suficiente debido a que se encontraron concentraciones finales de colifagos alrededor de 10^2 UFP/100 mL (Tabla 12). Con respecto a las concentraciones de cloro relacionadas con la eficiencia de eliminación de colifagos, se puede apreciar en la Figura 9, que las concentraciones de cloraminas se mantuvieron por sobre las de cloro libre, por lo tanto, es posible deducir que el desinfectante predominante en estos experimentos fueron las cloraminas, las cuales presentaron un CxT de 116 mg·min/L. Sin embargo, este rango de CxT de cloraminas no fue suficiente para lograr la inactivación total de colifagos.

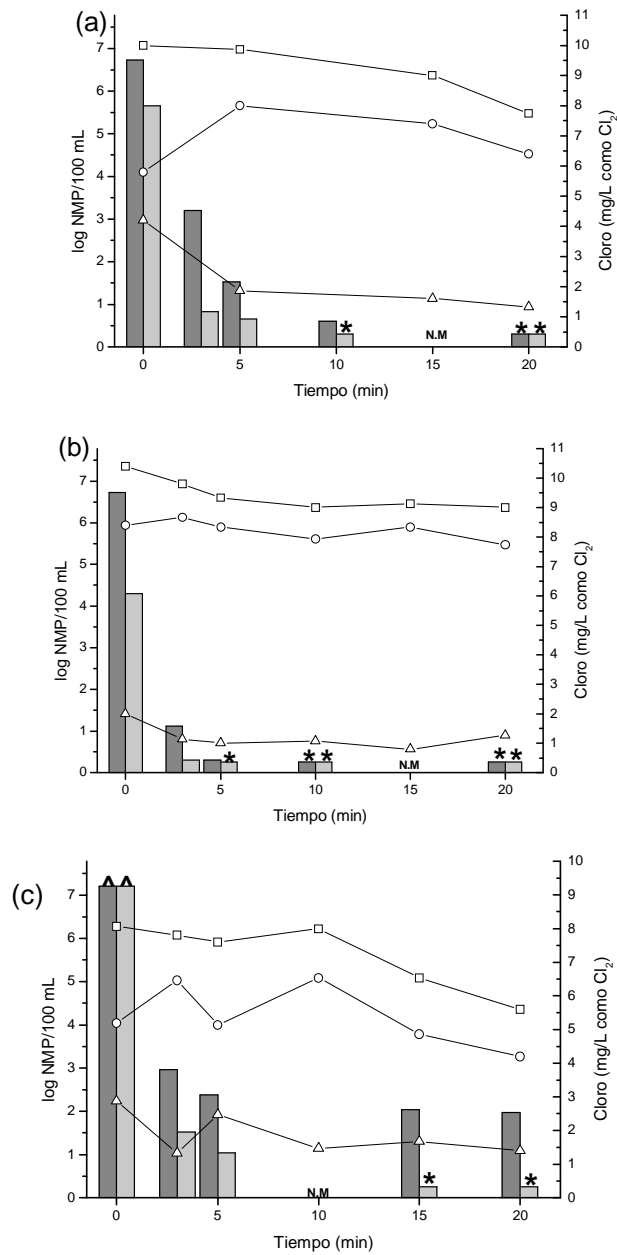


Figura 9. Estrategia CI1 de experimentos de desinfección con cloro.

(a) Exp-CI4, (b) Exp-CI5, (c) Exp-CI6. Dosis inicial aplicada = 10 mg/L, tiempo de contacto total = 20 minutos. Realizado a pH original ($7,3 \pm 0,7$) y temperatura ambiente ($17,5^{\circ}\text{C} \pm 3,5$). (□) Cloro total, (△)cloro libre, (○)cloro combinado,(■) Coliformes totales,(▒) coliformes fecales, (^) Valores de coliformes sobre el límite de detección del método ($>1,6 \times 10^7$ NMP/100 mL), (★) Valores de coliformes bajo el límite de detección del método ($<1,8$ NMP/100 mL). N.M= No medido.

b) Estrategia CI2:

Como se aprecia en la Tabla 12, fue posible lograr en este experimento una reducción de coliformes totales y fecales de 6,9 uLog, alcanzando concentraciones bajo el límite de detección del método (<1,8 NMP/100 mL) para ambos microorganismos indicadores. En la Figura 10, se representa la tendencia que siguieron las concentraciones de coliformes y las concentraciones de cloro durante el proceso, donde es posible observar que las concentraciones de coliformes fecales presentan una disminución a los 20 minutos de tiempo de contacto. En el caso de los coliformes totales, se observa su completa eliminación a los 60 minutos de tiempo de contacto.

Los colifagos somáticos, según los valores indicados en la Tabla 12, presentaron una disminución de solo 2,5 uLog, por lo que no se aprecia una diferencia significativa en relación a lo obtenido en la Estrategia CI1.

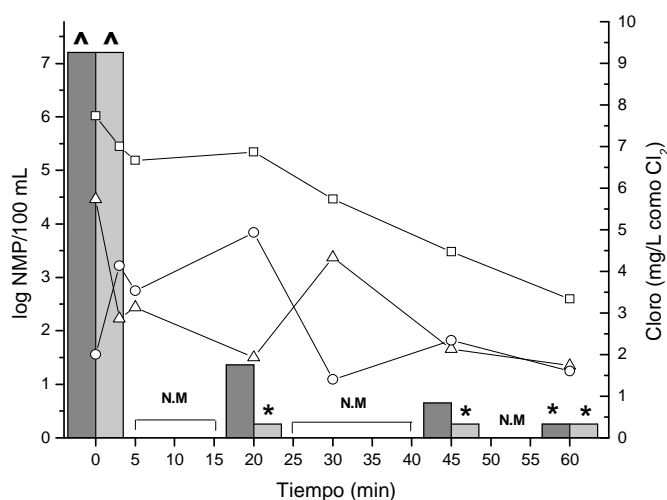


Figura 10. Estrategia CI2 de experimentos de desinfección con cloro.

(Exp-CI7) Dosis inicial aplicada = 10 mg/L, tiempo de contacto total = 60 minutos. Realizado a pH original ($7,3 \pm 0,7$) y temperatura ambiente ($17,5^{\circ}\text{C} \pm 3,5$). (□) Cloro total, (△) cloro libre, (○) cloro combinado, (■) Coliformes totales, (■) coliformes fecales, (▲) Valores de coliformes sobre el límite de detección del

método ($>1,6 \times 10^7$ NMP/100 mL), (★) Valores de coliformes bajo el límite de detección del método ($<1,8$ NMP/100 mL). N.M= No medido.

c) Estrategia CI3:

En relación a los valores indicados en la Tabla 11 y lo que se logra apreciar en la Figura 11, se observa que para los coliformes (totales y fecales) el CxT de cloro total fue más que suficiente para lograr su inactivación, ya que como se verificó en los experimentos preliminares y los experimentos de las estrategias 1 y 2 anteriormente descritos, son necesarios tiempos de contacto menores para lograr su eliminación.

Para el caso de los colifagos, fue posible determinar una eficiencia de eliminación promedio de $3,4 \pm 0,3$ uLog. A pesar de que esta reducción es levemente mayor en comparación a la estrategia CI2, aún se observa la presencia de colifagos al final de los experimentos de la estrategia CI3, con una concentración promedio de $2,75 \times 10^1 \pm 27,5$ UFP/100 mL. Según la Tabla 11, se observa que en comparación a las estrategias CI1 y CI2, los CxT de ésta estrategia son superiores, por lo que se justifica el aumento en la eficiencia de eliminación.

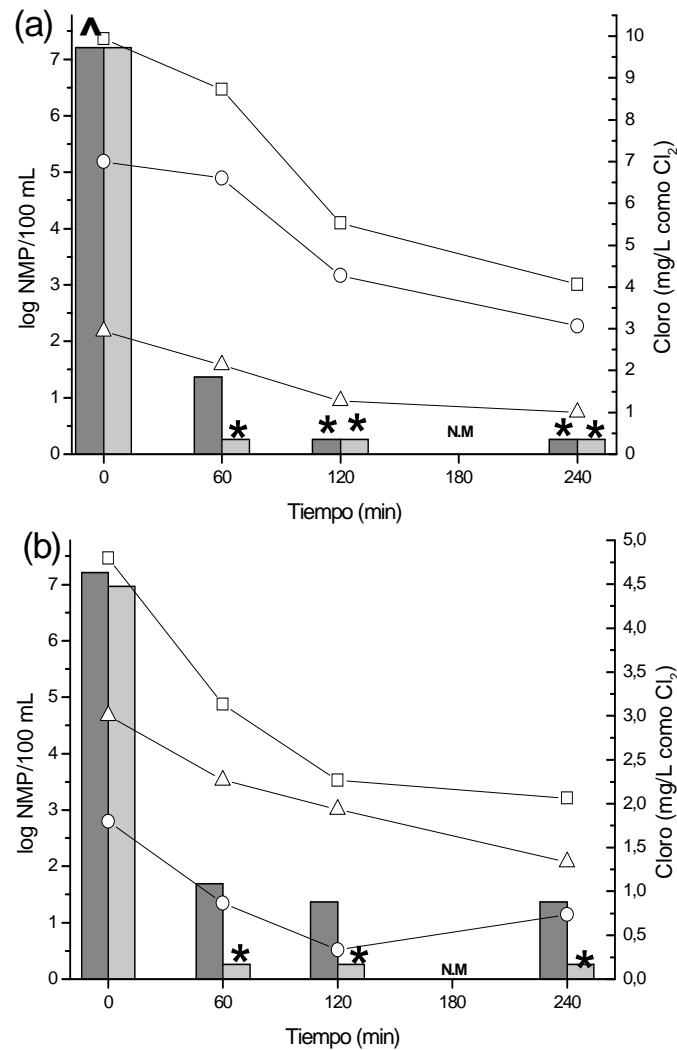


Figura 11. Estrategia CI3 de experimentos de desinfección con cloro. (Exp-CI8) Dosis inicial aplicada = 10 mg/L, tiempo de contacto total = 240 minutos. Realizado a pH original ($7,3 \pm 0,7$) y temperatura ambiente ($17,5^{\circ}\text{C} \pm 3,5$). (□) Cloro total, (△) cloro libre, (○) cloro combinado, (■) Coliformes totales, (■) coliformes fecales, (∧) Valores de coliformes sobre el límite de detección del método ($>1,6 \times 10^7$ NMP/100 mL), (★) Valores de coliformes bajo el límite de detección del método ($<1,8$ NMP/100 mL). N.M= No medido.

d) Estrategia CI4:

En esta estrategia, es necesario recordar, que fueron adicionadas alícuotas de cloro durante todo el proceso, a diferentes tiempos de contacto, para aumentar la dosis de cloro en 10 mg/L. Según la Figura 12 y lo indicado en la Tabla 11, relacionado con el comportamiento de los coliformes y las dosis CxT, estas son más que suficientes para la eliminación de coliformes totales y fecales, mostrando valores bajo el límite de detección del método (<1,8 NMP/100 mL) en ambos microorganismos indicadores.

En relación a los colifagos somáticos, fue posible obtener una eficiencia de eliminación promedio de $3,8 \pm 0,5$ uLog, logrando superar la eficiencia de eliminación adquiridas en la estrategia CI3. Es posible justificar estos resultados si se relacionan con las concentraciones de cloro libre y cloraminas detectadas en las estrategias CI3 y CI4. En la estrategia CI3, tal como se observa en la Figura 11 (a), es posible observar que hubo prevalencia en las concentraciones de cloraminas por sobre las de cloro libre. Sin embargo, en relación a la estrategia CI4, se observa en la Figura 12 (a) que las concentraciones de cloro libre, son superiores a las cloraminas, alcanzando su valor máximo a los 120 minutos de tiempo de contacto, mientras que en la Figura 12 (b) las concentraciones alcanzadas por el cloro libre, son superiores a las cloraminas desde los 60 minutos de tiempo de contacto. Por esto, es posible inferir que hubo una superación del punto de quiebre de la cloración (*Breakpoint*), debido a que al ir adicionando cloro de manera intermitente durante el proceso, dio lugar a la satisfacción de la demanda de cloro en el IPD, permitiendo la aparición de concentraciones de cloro libre por sobre las de cloro combinado (cloraminas). En relación al cloro total de la estrategia CI4 que se aprecia en la Figura 12, se mantiene en altas concentraciones desde los 60 minutos de tiempo de contacto y durante todo el proceso, debido al cloro adicionado en cada punto (Metcalf y Eddy, 2003; Percival *et al.*, 2014).

Por lo tanto, es posible concluir que al haber mayor presencia de cloro libre, se obtuvo una mayor eficiencia de eliminación en la estrategia CI4 en comparación a la estrategia CI3, debido a que esta especie desinfectante, es mucho más eficaz que las cloraminas. En la práctica, se ha descubierto que se necesitan CxT mucho más altos de cloraminas para lograr el mismo grado de inactivación en comparación al cloro libre (Percival *et al.*, 2014).

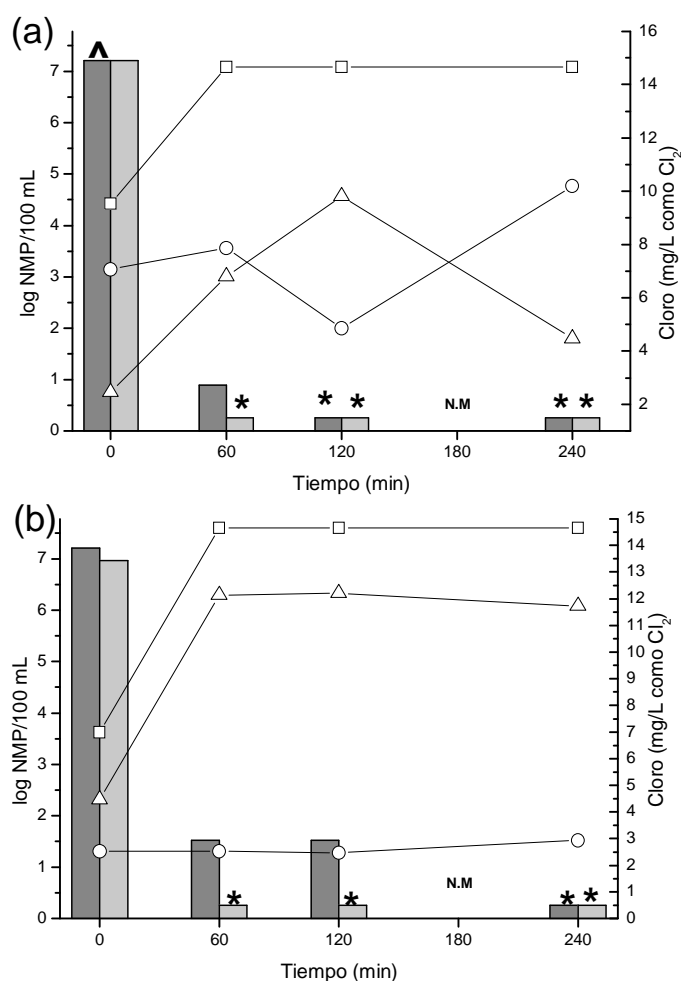


Figura 12. Estrategia CI4 de experimentos de desinfección con cloro.

(Exp-CI9) Dosis inicial aplicada = 10 mg/L, tiempo de contacto total = 240 minutos. Realizado a pH original ($7,3 \pm 0,7$) y temperatura ambiente ($17,5^{\circ}\text{C} \pm 3,5$). (□) Cloro total, (△) cloro libre, (○) cloro combinado, (■) Coliformes totales, (▒) coliformes fecales, (^) Valores de coliformes sobre el límite de detección del método ($>1,6 \times 10^7$ NMP/100 mL), (★) Valores de coliformes bajo el límite de detección del método ($<1,8$ NMP/100 mL). N.M= No medido.

Tabla 11. Resumen de los valores CxT de cloro total, cloro libre y cloro combinado.

| Estrategias ^a | Experimentos | Tiempo de contacto total (min) | CxT (mg·min/L) | | |
|-----------------------------|--------------|--------------------------------|----------------|-------------|-----------------|
| | | | Cloro total | Cloro Libre | Cloro combinado |
| Estrategia CI1 | Exp-CI 4 | 20 | 200 | 84 | 116 |
| | Exp-CI 5 | 20 | 208 | 40 | 168 |
| | Exp-CI 6 | 20 | 161 | 57 | 104 |
| Estrategia CI2 | Exp-CI 7 | 60 | 464 | 344 | 120 |
| Estrategia CI3 | Exp-CI 8 | 240 | 2384 | 704 | 1680 |
| | | 240 | 1152 | 720 | 432 |
| Estrategia CI4 ^b | Exp-CI 9 | 0-60 | 572 | 148 | 424 |
| | | 60-120 | 1760 | 816 | 944 |
| | | 120-240 | 3520 | 2352 | 1168 |
| | Exp-CI 9 | 0-60 | 420 | 268 | 152 |
| | | 60-120 | 1760 | 1456 | 304 |
| | | 120-240 | 3520 | 2928 | 592 |

^aEn las estrategias CI1, CI2 y CI3, la dosis inicial aplicada a tiempo 0 fue de 10 mg/L.

^bEn esta estrategia se aplicaron dosis de cloro en distintos tiempos de contacto para aumentar la concentración de cloro en 10 mg/L, correspondientes a los tiempos 0-60-120, por lo que el CxT se presentó como la dosis (mg/L) por el tiempo de contacto que reaccionó luego de aplicar la alicuota.

Tabla 12. Resumen de resultados obtenidos en las estrategias de desinfección con cloro en función del CxT.

| Estrategias | Experimentos | CxT ^a (mg·min/L) | Coliformes Totales | | | Coliform | |
|----------------|-----------------------|--------------------------------|----------------------------|---------------------------|------------------------|----------------------------|-----------------|
| | | | Entrada (NMP/100 mL) | Salida (NMP/100 mL) | uLog de eliminación | Entrada (NMP/100 mL) | Si: (NM r |
| Estrategia CI1 | Exp-CI 4 | 200 | 5,4 x10 ⁶ | 2 | 6,4 | 4,5 x10 ⁵ | |
| | Exp-CI 5 | 208 | 5,4 x10 ⁶ | <1,8 | 6,5 | 2,0 x10 ⁴ | < |
| | Exp-CI 6 | 161 | >1,6 x10 ⁷ | 94 | 5,2 | >1,6 x10 ⁷ | < |
| Estrategia CI2 | Exp-CI 7 | 464 | >1,6 x10 ⁷ | <1,8 | 6,9 | >1,6 x10 ⁷ | < |
| Estrategia CI3 | Exp-CI 8 ^b | 2384 | >1,6 x10 ⁷ | <1,8 | 6,9 | 1,6 x10 ⁷ | < |
| | | 1152 | 1,6 x10 ⁷ | 23 | 5,8 | 9,2 x10 ⁶ | < |
| Estrategia CI4 | Exp-CI 9 ^c | 2288 | >1,6 x10 ⁷ | <1,8 | 6,9 | 1,6 x10 ⁷ | < |
| | | 1680 | 1,6 x10 ⁷ | <1,8 | 6,9 | 9,2 x10 ⁶ | < |

^a Esta relación CxT corresponde a la concentración inicial de cloro total medido a tiempo 0, por el tiempo de contacto total al que se efectuó el experimento.

^b Estos experimentos corresponden a los gráficos a y b de la Figura 11.

^c Estos experimentos corresponden a los gráficos a y b de la Figura 12.

4.2.3 Comparación de estrategias implementadas en los procesos de desinfección con cloro

En esta sección, se presenta un resumen general de las eficiencias de eliminación logradas en esta investigación durante los procesos de desinfección a partir de la aplicación de cloro. En la Figura 13, se logran apreciar los promedios de las eficiencias de eliminación para los coliformes totales, coliformes fecales y colifagos somáticos.

Independiente de la estrategia utilizada en el proceso de desinfección, fue posible lograr la inactivación completa de coliformes totales y fecales, en todos los experimentos. Sin embargo, en el caso de los colifagos somáticos, se observan claras diferencias en su inactivación, a través de las diferentes estrategias. En la Figura 13, se observa que la mayor eficiencia de eliminación fue posible con la estrategia 4, registrando valores máximos de eliminación de 4,2 uLog. No obstante, a pesar de obtener la mayor eficiencia de eliminación en comparación a las demás estrategias, no fue posible la total eliminación de colifagos. En todos los análisis realizados, se observaron unidades formadoras de placas en las muestras que correspondían al final de los experimentos, no logrando observar 0 UFP/100 mL.

La razón de porqué se da una menor eficiencia de eliminación de colifagos somáticos, en comparación a los coliformes, es por su mayor resistencia a los procesos de desinfección, en especial al cloro (Metcalf y Eddy, 2003; Jofré *et al.*, 1995; Havelaar y Van Olphen, 1989; Havelaar y Nieuwstad, 1985). Entendiendo que los colifagos somáticos son microorganismos indicadores del grupo de virus entéricos, existen otro tipo de virus que no están dentro de este grupo, que también son de interés en la salud pública, como es el caso del rotavirus, el cual es tan resistente que se necesitan CxT de cloraminas entre 3806 - 6475 mg·min/L para lograr eficiencias de desinfección de 2 uLog (Hoff, 1986). Sin embargo, este valor

CxT fue detectado en agua potable, donde no es considerada una alta demanda de cloro por los diferentes componentes que la componen (p.ej. materia orgánica, amonio, SST). Además, la presencia de materia orgánica, un tiempo de contacto inadecuado o la insuficiente dosis de cloro, reducen la eficacia de este desinfectante, mientras que la temperatura, el pH y la presencia de amonio también influyen en el proceso de cloración. Además, cabe destacar que debido al pequeño tamaño de los virus, en comparación a las bacterias, logran ser protegidos por partículas mucho más pequeñas que las necesarias para bacterias y protozoos (OMS, 1979; OMS, 2004; Pérez y Espígares, 1995). Los altos niveles de turbidez pueden proteger a los microorganismos de los efectos de la desinfección, estimular el crecimiento de bacterias y dar lugar a una demanda de cloro significativa (OMS, 1997).

Se ha descubierto que los virus pueden sobrevivir en efluentes de aguas servidas que han sido sometidos a desinfección con cloro suficiente para destruir todos los coliformes y estreptococos fecales y además, se han descubierto concentraciones de virus en aguas en las que no se detectaron concentraciones de coliformes fecales, por lo tanto, la no presencia de *E.Coli* en aguas luego de la desinfección, no implica necesariamente que no haya presencia de virus (OMS, 2004).

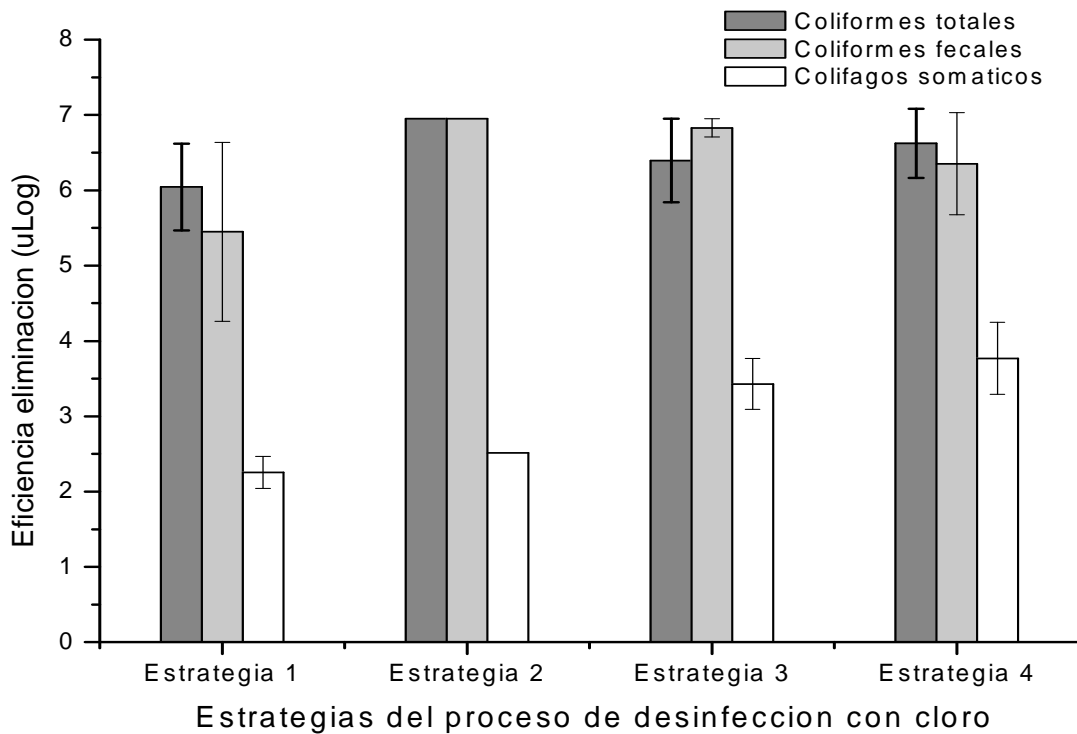


Figura 13. Comparación de eficiencias de eliminación logradas en las estrategias, correspondientes a procesos de desinfección con cloro.

4.3 Experimentos de desinfección del influente con aplicación de luz ultravioleta (UV)

En esta sección se presentarán los resultados asociados las estrategias de desinfección con UV, que consistieron en el desarrollo de experimentos en los cuales se aplicó una intensidad de luz UV constante y se evaluaron diferentes tiempos de contacto. La Tabla 13, detalla el resumen de los resultados obtenidos en cada estrategia del proceso de desinfección con luz UV y la Figura 14, muestra el comportamiento de los coliformes totales y fecales a los distintos tiempos de contacto durante los experimentos.

De la Estrategia UV1, es posible observar que se logró una eficiencia de inactivación de coliformes totales de $6,1 \pm 0,2$ uLog y una eficiencia de inactivación de coliformes fecales de $6,3 \pm 0,0$ uLog. En relación a los colifagos

somáticos, fue posible obtener eficiencias de inactivación de $4,6 \pm 0,2$ uLog con 5 minutos de tiempo de contacto, logrando alcanzar valores de 0 UFP/100 mL en los análisis.

En relación a los valores que se lograron con la Estrategia UV2, a los 5 minutos de tiempo de contacto, fue posible alcanzar valores de inactivación de coliformes totales de 5,3 uLog y para coliformes fecales fue posible lograr eficiencias de eliminación de 6,3 uLog. En relación a los colifagos somáticos, fue posible lograr una eficiencia de inactivación de 4,4 uLog.

La Estrategia UV3, corresponde a la aplicación del mayor IxT, debido a que se esperaba lograr una mayor eficiencia de inactivación de coliformes, hasta alcanzar concentraciones de $<1,8$ NMP/100 mL. Sin embargo, tal como indican los valores de concentraciones finales en la Tabla 13 y lo que es posible apreciar de la Figura 14, a los 15 minutos de tiempo de contacto, no se lograron registrar concentraciones inferiores a 2 NMP/100mL para ambos tipos de coliformes, logrando una eficiencia de inactivación de 6,6 uLog para coliformes totales y de 6,1 uLog para coliformes fecales. Para los colifagos somáticos, se obtuvieron concentraciones finales de 0 UFP/100 mL.

En ningún experimento se logró alcanzar concentraciones de coliformes de $<1,8$ NMP/100 mL. Sin embargo, para los colifagos somáticos fue posible lograr concentraciones de 0 UFP/100 mL desde los 5 minutos de tiempo de contacto en todos los experimentos.

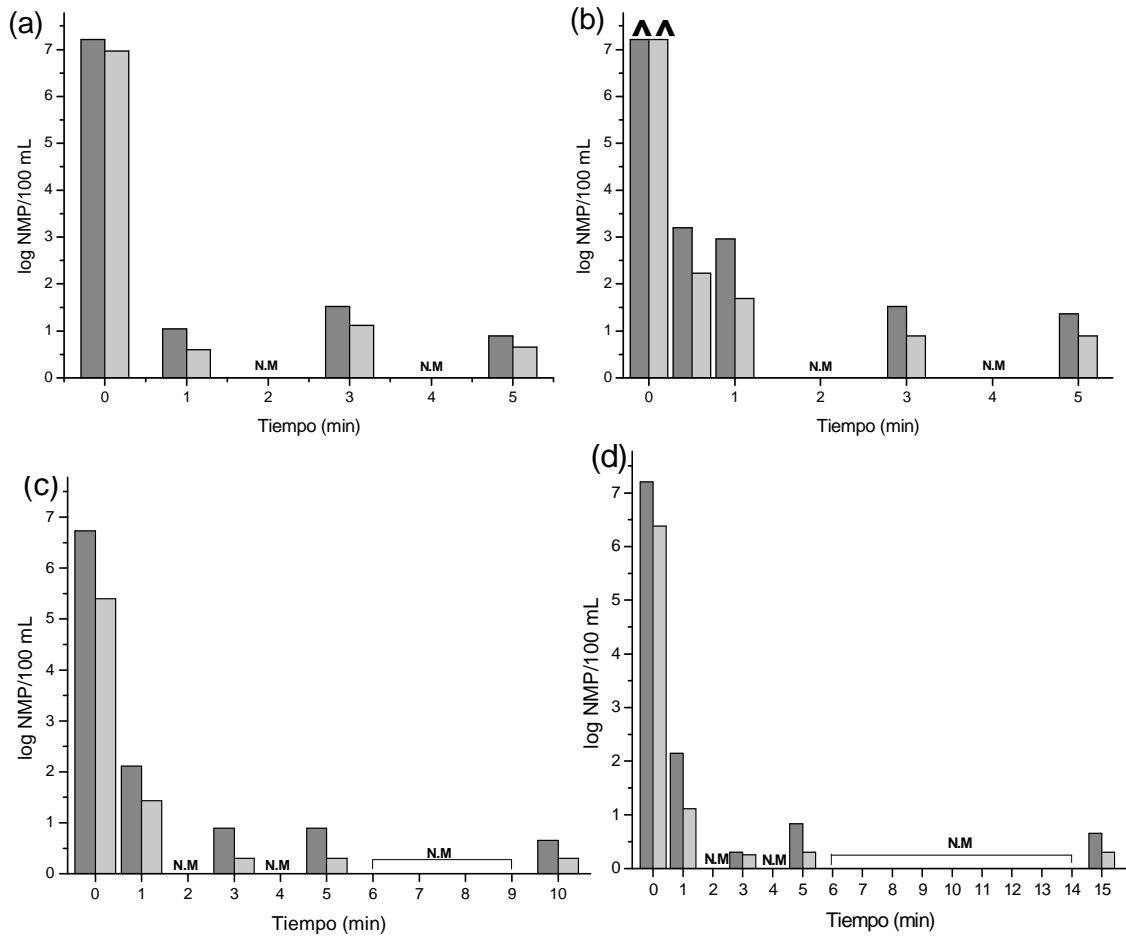


Figura 14. Experimentos del proceso de desinfección con luz UV.

(a) Exp-UV1 (Estrategia UV1), (b) Exp-UV2 (Estrategia UV1), (c) Exp-UV3 (Estrategia UV2), (d) Exp-UV4 (Estrategia UV3). Dosis aplicada = $2,5 \text{ mW/cm}^2$. Realizado a pH original ($7,3 \pm 0,7$) y temperatura ambiente ($17,5^\circ\text{C} \pm 3,5$). (■) Coliformes totales, (▒) coliformes fecales, (^) Valores de coliformes sobre el límite de detección del método ($>1,6 \times 10^7$ NMP/100 mL), N.M= No medido.

4.3.1 Comparación de las estrategias implementadas en los procesos de desinfección con luz UV.

En esta sección se presentará un resumen de las eficiencias de eliminación logradas a partir de la aplicación de luz UV a los influentes del proceso de desinfección (IPD). Además se realizará una comparación entre todas las estrategias utilizadas

Las eficiencias de inactivación de coliformes totales, coliformes fecales y colifagos somáticos en unidades logarítmicas, logradas en cada estrategia, se ilustra en la Figura 15.

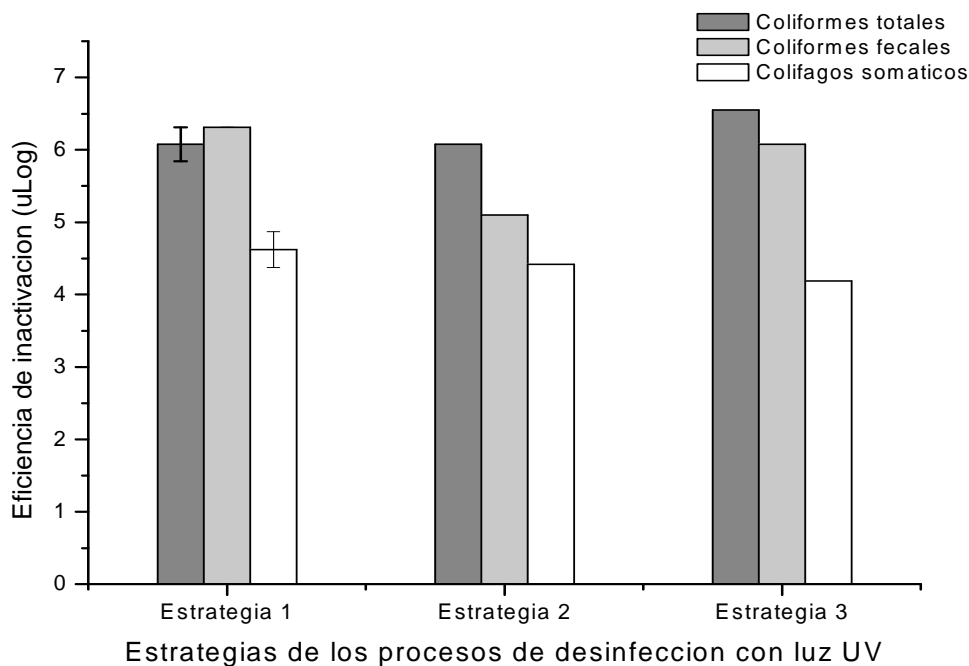


Figura 15. Comparación de las eficiencias de inactivación alcanzadas en las diferentes estrategias correspondientes a los procesos de desinfección con luz UV.

Estudios han investigado desinfección de efluentes de aguas servidas provenientes de humedales construidos aplicando luz UV, donde se han logrado inactivaciones de coliformes fecales con dosis desde 10 mWs/cm² (Intensidad =

0,03 mW/cm²) (Azaizeh *et al.*, 2013). Según Azaizeh (2013), hubo una reducción entre 1,5 a 2 uLog de coliformes fecales sólo con los humedales construidos, por lo que posteriormente, al aplicar desinfección UV se logró la total inactivación de estos microorganismos. No obstante, para el caso en que un humedal no logró una disminución en la concentración de coliformes y luego se aplicó luz UV, no se alcanzó la total eliminación de estos microorganismos indicadores. Por lo tanto, la eficiencia de desinfección de la luz UV también depende de las características del agua a desinfectar. Parámetros como turbidez, sólidos suspendidos y color, son importantes al momento de pensar en la luz UV como desinfectante, debido a que se ve afectado en gran medida por la presencia de estos parámetros. La desinfección con lámparas UV de baja presión, suele perder su efectividad en efluentes con concentraciones de sólidos suspendidos mayores a 30 mg/L (EPA, 1999; Metcalf y Eddy, 2003; Basu *et al.*, 2007). Estudios han evaluado la desinfección con luz UV en sistema de acuicultura, con grandes volúmenes de agua (12.800 L y 140.000 L) y lámparas potentes ($I=30$ mW/cm² y lámparas de 25 W) sumergidas en el agua, donde se observó que la turbidez es un parámetro desventajoso para este método de desinfección, logrando disminuir las eficiencias de desinfección con valores de turbidez desde los 17,2 NTU (Gullian *et al.*, 2012). Dicho esto, se podría inferir que una razón por la cual no se lograron alcanzar concentraciones de <1,8 NMP/100 mL para coliformes en las estrategias utilizadas en esta investigación, fue debido a los altos niveles de turbidez y color que se detectaron en los IPD, impidiendo que los haces de luz UV actuaran de manera óptima sobre la muestra.

Por otro lado, estudios han descubierto que organismos indicadores de contaminación fecal como el *E. Coli*, son capaces de reactivarse tanto en luz como en oscuridad, luego de ser inactivados por luz UV con dosis entre 40 - 120 mWs/cm², aunque esta reactivación no superó los 0,5 uLog de aumento en la concentración de estos microorganismos (Bohrerova, 2014). Este fenómeno de reactivación también depende del tipo de lámpara UV que se utilice, ya que como

indica McClean (2006), microorganismos inactivados con lámparas UV de baja presión presentan altas tasas de reactivación, en comparación con la aplicación de lámparas UV de mediana presión, con las cuales casi no hubo fotoreactivación por parte de los microorganismos.

Las bacterias en general, podrían mostrar comportamientos de reactivación post desinfección UV (Percival *et al.*, 2014). No obstante, para esta investigación no es posible relacionar este fenómeno de reactivación con la presencia de coliformes al final de cada experimento, debido a que es necesario realizar estudios que confirmen este comportamiento. Por lo tanto, es necesario tener en cuenta que este fenómeno podría ocurrir en los microorganismos inactivados con luz UV y se recomienda realizar estudios para verificar esta situación.

En relación a las eficiencias de inactivación de colifagos somáticos registradas en esta investigación, podrían justificarse por la mayor sensibilidad de los colifagos somáticos a la luz UV en comparación a los coliformes, lo cual se ha observado también en otras investigaciones (Aguirre *et al.*, 2004). No obstante, estudios apuntan a que la resistencia de los virus en general, dependen de factores como su concentración inicial, transmitancia del agua y la dosis de luz UV aplicada. Además, Los microorganismos absorben la luz UV de manera diferente, resultando en una ligera diferencia en la respuesta a la inactivación. Se dice que la máxima inactivación, tanto para virus y bacterias, se produce a los 254 nm, longitud de onda que es emitida por lámparas de baja presión. Por lo tanto, sería lógico concluir que las concentraciones de 0 UFP/100 mL logradas en esta investigación, podrían asociarse a que los colifagos somáticos se encontraban en menor concentración que los coliformes, asociado también a que los virus en general son más sensibles a la desinfección con luz UV que las bacterias (Percival *et al.*, 2014).

Tabla 13. Resumen de resultados obtenidos en las estrategias de desinfección con luz ultravioleta en función del IxT.

| Estrategias | Experimentos | ^a IxT | | Coliformes Totales | | | I (l) |
|--------------|--------------|------------------------|----------------------|-----------------------|---------------------|---------------------|-------|
| | | mW·min/cm ² | mW·s/cm ² | Entrada (NMP/100 mL) | Salida (NMP/100 mL) | uLog de eliminación | |
| Estrategia 1 | Exp-UV 1 | 12,5 | 750 | 1,6 x10 ⁷ | 7,8 | 6,3 | ! |
| | Exp-UV 2 | 12,5 | 750 | >1,6 x10 ⁷ | 23 | 5,8 | > |
| Estrategia 2 | Exp-UV 3 | 25 | 1500 | 5,4 x10 ⁶ | 4,5 | 6,1 | : |
| Estrategia 3 | Exp-UV 4 | 37,5 | 2250 | 1,6 x10 ⁷ | 4,5 | 6,6 | : |

^aEste IxT corresponde a la intensidad de la luz UV promedio medida durante el proceso de desinfección, por el tiempo de contacto total al cual se efectuó el experimento. Se presentan Las IxT en dos unidades de medida: en mW·min/cm² y en mWs/cm² (este último es equivalente a mJ/cm²).

La intensidad de la luz UV fue en promedio 2,5 mW/cm² para todos los experimentos.

4.4 Comparación y evaluación de los resultados obtenidos en los procesos de desinfección, con respecto a la bibliografía relacionada al reúso de aguas servidas tratadas.

El reúso del agua, está enfocado al uso de aguas servidas ya tratadas o también denominadas “aguas regeneradas” para distintas aplicaciones, como por ejemplo la agricultura, actividad en la cual es posible utilizar estas aguas regeneradas para el riego de cultivos de alimentos que se destinan al consumo humano, o también, para plantaciones no destinadas a consumo humano, como jardines (EPA, 2012).

En esta sección se discutirá si los resultados obtenidos en este estudio, sobre la evaluación de la calidad microbiológica de aguas servidas provenientes de humedales HFHSS, después de ser sometidas a procesos de desinfección (cloro y luz UV), cumplen con lo que se requiere para reúso de agua en riego, según revisión bibliográfica.

Los valores mínimos y máximos de microorganismos indicadores, que se lograron obtener a partir de la desinfección de las aguas servidas al ser sometidas a procesos de desinfección con cloro y luz UV, se presentan en la Tabla 14 y Tabla 15. Además, se presentan las dosis aplicadas y tiempos de contacto respectivos y para el caso del cloro se observan las concentraciones medidas a tiempo 0 de cloro libre y cloro combinado y las medidas de cloro residual. Es posible observar que con la aplicación de cloro se alcanzaron concentraciones de coliformes más bajas en comparación a la desinfección UV. En la mayoría de los casos, es posible observar que la desinfección se efectuó a partir de la formación de cloraminas, debido a que presentan mayores concentraciones con respecto al cloro libre a tiempo 0 y en el residual. Sin embargo, en el caso de los colifagos somáticos, el valor mínimo logrado, corresponde a la Estrategia Cl4 (sección 4.1.1 de este estudio) en la cual se observa una mayor presencia de cloro libre, producto de la constante adición de cloro durante el experimento, por lo tanto, está claro que una

mayor eficiencia de eliminación se logra por mayores concentraciones de cloro libre.

La desinfección con luz UV, operacionalmente fue más simple, debido a que se utilizó una intensidad promedio constante y solo se fueron variando los tiempos de contacto. Sin embargo, no fue posible lograr concentraciones de coliformes tan bajas como en la cloración, pero en el caso de los colifagos, fue posible lograr resultados mucho más positivos, logrando alcanzar concentraciones de 0 UFP/100 mL entre 3 a 5 minutos de tiempo de contacto.

Tabla 14. Resumen de concentraciones de microorganismos indicadores detectados luego de la desinfección con cloro, junto con las dosis medidas.

| DESINFECCIÓN CON CLORO | | | | | | |
|-------------------------------------|---------------------------------|--------|---------------------------------|--------|----------------------------------|----------|
| Parámetro | Coliformes Totales (NMP/100 mL) | | Coliformes Fecales (NMP/100 mL) | | Colifagos somáticos (UFP/100 mL) | |
| | Mínimo | Máximo | Mínimo | Máximo | Mínimo | Máximo |
| Concentración | < 1,8 | 94 | < 1,8 | 2 | 2 ^a | 5,70E+02 |
| Dosis medida Cloro libre (mg/L) | | | | | | |
| Inicial (tiempo 0) | 2,00 | 2,87 | 2,00 | 4,20 | 4,47 | 2,87 |
| Residual | 1,27 | 1,40 | 1,27 | 1,33 | 11,73 | 1,40 |
| Dosis medida Cloro combinado (mg/L) | | | | | | |
| Inicial (tiempo 0) | 8,40 | 5,20 | 8,40 | 5,80 | 2,53 | 5,20 |
| Residual | 7,73 | 4,20 | 7,73 | 6,40 | 2,93 | 4,20 |

^aEste valor se obtuvo a partir de la Estrategia CI4 que se explicó en la sección 4.2.2 de este estudio, que corresponde a los experimentos en donde se adicionaron alícuotas de cloro durante el experimento para aumentar la dosis.

Tabla 15. Resumen de concentraciones de microorganismos indicadores detectados luego de la desinfección con luz UV.

| DESINFECCIÓN CON UV^a | | | | | | |
|--|---------------------------------|--------|---------------------------------|--------|----------------------------------|--------|
| Parámetro | Coliformes Totales (NMP/100 mL) | | Coliformes Fecales (NMP/100 mL) | | Colifagos somáticos (UFP/100 mL) | |
| | Mínimo | Máximo | Mínimo | Máximo | Mínimo | Máximo |
| Concentración | 4,5 | 23 | 2 | 7,8 | 0 | 0 |
| Tiempo de contacto (min) | Mínimo | Máximo | Mínimo | Máximo | Mínimo | Máximo |
| | 10 | 5 | 10 | 5 | 3 | 5 |

^aLa intensidad de luz UV es constante en todos los experimentos, correspondiente a 2,5 mJ/cm².

De acuerdo a estos resultados de calidad microbiológica, es posible realizar una comparación con datos bibliográficos, donde se recomiendan ciertos parámetros para la reutilización de este efluente post-desinfección. En la Tabla 16, se presentan algunos valores de calidad de agua que deberían cumplir las aguas que quisieran reutilizarse en el riego de cultivos, según lo recomendado por la guía de EPA.

Tabla 16. Valores recomendados por EPA para reúso de agua destinado a la agricultura.

| Categoría de reúso y descripción | Calidad del agua |
|---|--|
| Cultivos alimentarios: Uso de agua regenerada para riego de cultivos que estén destinados para el consumo humano (cultivos que se consumen crudos). | pH = 6,0 - 9,0 DBO ₅ ≤ 10 mg/L Turbidez ≤ 2 NTU Coliformes fecales no detectables Cloro residual = 1 mg/L |
| Cultivos no alimentarios: uso de agua regenerada para el riego de cultivos que no son consumidos por los seres humanos, incluyendo forraje, fibra, cultivos de semillas, tierras de pastoreo, viveros comerciales y granjas de césped. | pH = 6,0 - 9,0 DBO ₅ ≤ 30 mg/L SST ≤ 30 mg/L Coliformes fecales ≤ 200 coliformes/100 mL Cloro residual = 1 mg/L |

Tabla adaptada según EPA (2012)

Comparando las concentraciones de microorganismos patógenos que se obtuvieron en esta investigación, con lo especificado en la Tabla 16, es posible inferir que el efluente proveniente de la desinfección con cloro en esta investigación, cumple con las condiciones bacteriológicas necesarias para reutilizar estas aguas para riego de cultivos alimentarios y no alimentarios.

En relación a las concentraciones de cloro residual aceptables por EPA, estas fueron superadas en esta investigación, tal como se observa en la Tabla 14, donde el valor mínimo de cloro libre residual corresponde a 1,27 mg/L y el valor máximo corresponde a 11,73 mg/L. No obstante, en estos casos, bastaría con aplicar un proceso de dechloración para eliminar el exceso de cloro. Sin embargo, esto ya requeriría un aumento en el costo de la aplicación de este método de

desinfección (EPA, 1999). También, es necesario recordar, que la utilización de cloro en la desinfección de aguas servidas, genera subproductos de desinfección (DBP, por sus siglas en inglés) los cuales son perjudiciales para la salud de las personas y medio ambiente, por lo que podrían existir riesgos en el riego de cultivos con aguas desinfectadas con cloro (Metcalf y Eddy, 2003; Bayo et al., 2009).

Para el caso de la desinfección con luz UV, el efluente proveniente de este proceso de desinfección, solo cumple con las condiciones bacteriológicas necesarias para riego de cultivos no destinados al consumo humano, debido a que difícilmente se lograron concentraciones de 2 NMP/100 mL, las cuales estarían en el límite de lo indicado por EPA (2012). A diferencia del efluente obtenido a través de la cloración, el efluente proveniente de la desinfección con luz UV no presenta riesgos de formación de DBP, debido a que la luz UV es un método netamente físico, es decir, no se requiere la adición de químicos en el proceso, además, es una tecnología relativamente económica en comparación a otras opciones de desinfección, es fácil de operar y no necesita tiempos de contacto tan extensos como lo es en la cloración (EPA, 1999; Metcalf y Eddy, 2003).

En esta investigación, la desinfección con cloro logró registrar valores más bajos de coliformes en comparación a la luz UV, consiguiendo estar dentro de los rangos requeridos de calidad bacteriológica para aguas destinadas a reúso en la agricultura según EPA (2012). Sin embargo, debido a las desventajas que presenta la desinfección con cloro, tales como la posible generación de DBPs y el aumento en costos por la aplicación de un proceso de decloración, podrían ser razones para descartar el cloro como desinfectante. Además, el proceso de decloración, se utilizan químicos como el tiosulfato de sodio, el cual, si existiera una sobredosis significativa de este químico, podría conducir a la formación de sulfato, que conduciría a una disminución en el contenido de oxígeno disuelto y pH en el efluente final (EPA, 2000). Esto podría afectar en el cumplimiento de los

parámetros que recomienda EPA para aguas de reuso destinadas a riego. El no cumplimiento de la calidad bacteriológica por parte de la desinfección UV, podría ser fácilmente solucionado con la aplicación de lámparas UV de mayor intensidad. Sin embargo, esto podría traducirse en un aumento en los costos de implementación de este método de desinfección, pero no se tendrían las desventajas de la desinfección con cloro en relación al riesgo de la aparición de compuestos peligrosos (EPA, 1999).

En relación a los demás parámetros que presenta la Tabla 16 (pH, DBO₅, SST, turbidez), comparándolos con los valores registrados en esta investigación, indicados en la Tabla 9 de la sección 4.1.1, correspondiente a la caracterización físico-química de los IPD, estos sólo cumplirían con los valores de pH, los cuales presentaron valores promedio de $7,18 \pm 0,15$. Los parámetros de DBO₅ y turbidez, presentaron valores promedio de $71,11 \pm 28,98$ mg/L y $153,16 \pm 92,84$ NTU respectivamente, por lo tanto, no cumplirían con los valores indicados en la Tabla 16. Para el caso de los SST, en esta investigación mostraron un valor promedio de $29,14 \pm 10,78$ mg/L, lo cual está al límite del rango presentado por EPA, teniendo en cuenta que los valores máximos de SST medidos en esta investigación fueron de 49 mg/L.

La necesidad de lograr bajos valores de DBO₅, según lo que indica EPA (2012) está relacionado con el tipo de reutilización del agua regenerada. Algunos de los efectos adversos asociados a la presencia de materia orgánica son, que estéticamente es desagradable (puede ser maloliente y dar color), sirve de alimento a los microorganismos, afecta negativamente a los procesos de desinfección y consume oxígeno. Asimismo, la importancia de tener concentraciones bajas de SST o turbidez, según EPA (2012), está relacionado con la eliminación de virus, debido a la capacidad que tienen las partículas de proteger a estos microorganismos patógenos de desinfectantes como el cloro y UV. En general, se debe reducir la presencia de partículas en suspensión, tratando de

alcanzar valores de turbidez de 2 NTU o valores de SST de 5 mg/L, antes de aplicar procesos de desinfección, para así asegurar la destrucción fiable de microorganismos patógenos. Estos valores de SST, DBO₅ y turbidez se recomiendan para aguas regeneradas que hayan recibido un tratamiento secundario (EPA, 2012).

Otro documento, que tiene relación con la calidad de aguas para riego, en el caso de Chile, es la Norma Chilena 1333, la cual indica los requisitos de calidad de agua para diferentes usos, en los que se incluyen los requisitos de calidad para agua de riego. La Tabla 17 presenta algunos de estos requisitos, sin embargo, no todos fueron presentados debido a que algunos corresponden a valores de concentraciones de determinados elementos químicos, conductividad, presencia de pesticidas y herbicidas, que no fueron considerados en los parámetros medidos de este estudio.

Según lo que se observa en la Tabla 17, las concentraciones bacteriológicas obtenidas en esta investigación, cumplirían con lo requerido según la NCh.1333, con ambos tipos de desinfectantes. Los valores de pH y SST registradas en esta investigación también cumplirían con los requisitos según esta norma. Sin embargo, a diferencia de EPA (2012), la Norma Chilena 1333 no hace diferencia del tipo de cultivo o vegetación al cual se aplicaría el agua para riego.

Tabla 17. Requisitos de agua para riego según la Norma Chilena (NCh.) 1333.

| Parámetros^a | Valor |
|-------------------------------|---------------------|
| pH | 5,5 - 9,0 |
| Coliformes fecales | ≤ 1000 NMP / 100 mL |
| Sólidos suspendidos | ≤ 500 mg/L |

^aLos parámetros presentados en esta tabla corresponden a los que se pueden comparar con este estudio, debido a que existen otros parámetros como la conductividad, la presencia de elementos químicos, pesticidas y herbicidas que no fueron medidos en esta investigación.

Por otro lado, en relación a los colifagos somáticos, en esta investigación se descubrió que, la mayor eficiencia de eliminación de colifagos se logró con la luz UV, en comparación a la desinfección con cloro. Sin embargo, no es posible comparar los valores de colifagos somáticos con la bibliografía, debido a que ni EPA ni la NCh.1333, presentan valores límites para este parámetro, ni para ningún otro tipo de indicador microbiológico de virus, para aguas que se destinarían a riego. Sin embargo, en la recopilación de información de la “Guidelines for Water Reuse” de EPA (2012), se indica que el Estado de Carolina del Norte, tiene límites específicos de colifagos, para aguas destinadas a riego de contacto indirecto para cultivos alimentarios, teniendo como límite valores máximos diarios de 25 UFP/100 mL y valores medios mensuales de 5 UFP/100 mL. Por lo tanto, los valores alcanzados en esta investigación para colifagos somáticos, a partir de los procesos de desinfección con cloro y luz UV, cumplirían con los valores que presenta el Estado de Carolina del Norte para colifagos. Sin embargo, hay que tener en consideración las ventajas y desventajas de cada método de desinfección. En la cloración se obtuvieron valores de cloro residual de hasta 14,67 mg/L, fueron requeridas dosis de 10 mg/L de cloro y tiempos de contacto de hasta 240 minutos, para aun así no lograr los 0 UFP/100 mL de colifagos. Sin embargo, con la desinfección UV, no existen residuales químicos y se llegaron a eliminar completamente los colifagos somáticos.

Varias investigaciones han llegado a la conclusión de que los colifagos somáticos deberían ser parte de los análisis de contaminación de aguas, ya sea para agua potable y aguas servidas provenientes de distintas fuentes (hogares, industrias, etc.) (Mara y Horan, 2003; Lechevallier *et al.*, 2006). El hallazgo de cualquier virus entérico en el agua, aun cuando sea de baja patogenicidad, es una señal de peligro, puesto que el agua puede contener otros virus de mayor patogenicidad (OMS, 1979).

Finalmente, luego de comparar y analizar los procesos de desinfección y el efluente obtenido, es posible concluir que los efluentes provenientes de los humedales HFHSS de Hualqui, por si solos, no cumplirían con los parámetros recomendados por EPA para reúso de aguas. Sin embargo, al combinar los HFHSS con un método de desinfección adecuado, con condiciones operacionales simples y controladas, podría ser un sistema efectivo para obtener efluentes que pudieran ser considerados para su reutilización en zonas rurales, considerando las características microbiológicas. No obstante, además de los microorganismos patógenos, es necesario tener en consideración otros parámetros que son de importancia en la calidad de efluentes de aguas regeneradas que quieran destinarse para reúso en riego.

5. CONCLUSIONES

1. En el proceso de desinfección con cloro, fue posible lograr la completa eliminación de indicadores bacteriológicos (coliformes totales y fecales), presentando concentraciones que estuvieran bajo el rango de detección del método, es decir valores de $<1,8$ NMP/100 mL. Esto se logró aplicando dosis de 10 mg/L de cloro y los tiempos de contacto variaron según las características fisicoquímicas y bacteriológicas del IPD.

2. En el proceso de desinfección con cloro, no fue posible lograr la completa eliminación de colifagos somáticos, aún con la aplicación de concentraciones de 10 mg/L de cloro cada 60 y 120 minutos, con un tiempo de contacto total de 240 minutos, registrándose como valor mínimo 2 UFP/100 mL de colifagos somáticos.

3. En el proceso de desinfección con luz UV, no fue posible alcanzar la completa inactivación de microorganismos indicadores bacteriológicos, aun cuando se extendieron los tiempos de contacto (hasta 15 minutos), registrando valores mínimos de 2 NMP/100 mL para coliformes fecales y 4,5 NMP/100 mL para coliformes totales.

4. En el proceso de desinfección con luz UV, fue posible lograr la completa eliminación de colifagos somáticos, registrando valores 0 UFP/100 mL entre 3 a 5 minutos de tiempo de contacto con una intensidad promedio de $2,5$ mW/cm².

5. En relación a los procesos de desinfección implementados en esta investigación, fue posible reafirmar que la desinfección con luz UV es un proceso con una mantención y operación simplificada, en comparación a la desinfección con cloro. No se necesita la adición de químicos como en la cloración, que requirió la adición de tiosulfato de sodio para declorar las muestras. La desinfección con luz UV es un proceso que requiere tiempos de contacto considerablemente menores a los

utilizados en la desinfección con cloro, junto con una eficiencia de inactivación superior en colifagos somáticos, pero una eficiencia menor en relación a los coliformes. Sin embargo, esto podría ser solucionable con la implementación de lámparas de mayor intensidad o aumentando los tiempos de contacto.

6. El efluente que se obtuvo, proveniente de los humedales construidos de flujo horizontal subsuperficial ubicados en la PTAS de Hualqui, en conjunto con un sistema de desinfección, sería apto para ser reutilizado en actividades de riego, según la comparación realizada con la guía que recomienda EPA para reúso de aguas, cumpliendo con la calidad bacteriológica del agua. Sin embargo, es necesario tener en cuenta otros parámetros, tales como DBO_5 , SST y turbidez, para hacer efectiva la reutilización de estas aguas.

6. RECOMENDACIONES

1. Es recomendable que para los análisis bacteriológicos, el efluente no se encuentre almacenado en cámara de frío (4°C) durante un periodo superior a dos semanas.

2. Si la muestra se mantiene almacenada durante más de dos semanas en cámara de frío (4°C) y se necesita para análisis microbiológicos, es recomendable analizar de manera semanal la concentración de los microorganismos patógenos de interés, mientras se mantenga bajo estas condiciones.

3. El método utilizado en este estudio para medir las concentraciones de colifagos somáticos, es limitante en cuanto al conocimiento del tipo de virus que se está analizando, debido a que sólo considera la cuantificación de virus entéricos en general. Dicho esto, debido a que en aguas servidas existen otros virus de importancia, por sobre todo para la salud pública, se recomienda el estudio de otras metodologías que permitan analizar de manera más específica el tipo de virus que se está o no eliminando a través de la desinfección. Entre los métodos a considerar se encuentra el método PCR (reacción en cadena de la polimerasa), el cual ofrece sensibilidad y especificidad de detección de virus en aguas. Además, estos métodos suministran información rápida sobre los genotipos de virus entéricos humanos frecuentemente encontrados en ambientes acuáticos.

7. REFERENCIAS

- Aguirre P., García J., Mujeriego R. 2004. Desinfección con cloro y luz UV en un proceso convencional de regeneración de agua. *Ingeniería del agua*, 11:75-89.
- American Public Health Association. APHA. 2005. Standard methods for the examination of water and wastewater, 16th ed. APHA, WCPF, AWWA, Washington DC. USA.
- Andrés P., Rodríguez R. 2008. Evaluación y Prevención de Riesgos Ambientales en Centroamérica. *Documenta Universitaria*, Girona, España. 400 pp.
- Araya F. 2012. Alternativas de tratamiento de aguas servidas para núcleos humanos de baja densidad poblacional mediante sistemas híbridos de humedales artificiales. (Tesis) Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción.
- Araya F., Vera L., Morales G., López D., Vidal G. 2014. Tecnologías de tratamiento para aguas servidas de origen rural. Vidal G. y Araya F., (Editores). *Las aguas servidas y su depuración en zonas rurales: Situación actual y desafíos*. Universidad de Concepción, pp. 59-83.
- Azaizeh H., Linden K., Barstow C., Kalbouneh S., Tellawi A., Albalawneh A., Gerchman Y. 2013. Constructed wetlands combined with UV disinfection systems for removal of enteric pathogens and wastewater contaminants. *Water Science and Technology*, 67:651-657.
- Báez, J. 2004. *Ingeniería Ambiental. Sistema de recolección y evaluación de aguas residuales y pluviales*. Editorial Universidad Del Norte. 268 pp.

- Baraňao, P., Tapia L. 2004. Tratamiento de las Aguas Servidas: Situación en Chile. *Ciencia y Trabajo*, 13:111-117.
- Bayo J., Angosto J.M., Gómez-López M.D. 2009. Ecotoxicological screening of reclaimed disinfected wastewater by *Vibrio fischeri* bioassay after a chlorination-dechlorination process. *Journal of Hazardous Materials*, 172:166-171.
- Bitton, G. 2005. *Wastewater Microbiology*. Third edition, Wiley-Liss, New York. 765 pp.
- Blanco R., García D. 2010. Estudio de implementación y mejoras de las instalaciones para el orfanato "Ciudad de los niños" en Guatemala. (Tesis) Departamento de proyectos, Universidad Politécnicade Catalunya.
- Bolton J., Cotton C. 2008. *The Ultraviolet Disinfection Handbook*. USA: American Water Works Association, 168 pp.
- Bohrerova Z., Rosenblum J., Linden K. 2014. Importance of Recovery of *E. coli* in Water Following Ultraviolet Light Disinfection. *Journal of Environmental Engineering*, Online Publication Date: 4 Dec 2014.
URL: [http://dx.doi.org/10.1061/\(ASCE\)EE.1943-7870.0000922](http://dx.doi.org/10.1061/(ASCE)EE.1943-7870.0000922)
- Brooks M. 1999. Breakpoint chlorination as an alternate means of ammonia-nitrogen removal at a water reclamation plant. (Tesis) Faculty of the Virginia Polytechnic Institute and State University, Falls Church, Virginia.
- Castillo G. 2004. Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas. Centro internacional de investigaciones para el desarrollo, Instituto Mexicano de Tecnología del Agua, México, 189 pp.

- Chamorro, S., Hernandez, V., Monsalvez, E., Becerra, J., Mondaca, M.A., Piña B. y Vidal G. 2009. Detection of Estrogenic Activity from Kraft Mill Effluents by the Yeast Estrogen Screen. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 84:165-169.
- Chen W., Lu S., Jiao W., Wang M., Chang A. 2013. Reclaimed water: A safe irrigation water resource?. *Environment and Development*, 8:74-83.
- Chen Y., Wen Y., Tang Z., Li L., Cai Y., Zhou Q. 2014. Removal processes of disinfection byproducts in subsurface-flow constructed wetlands treating secondary effluent. *Water Research*, 51:163-171.
- Comisión Nacional del Agua. 2007. Manual de agua potable, alcantarillado y saneamiento. Coyoacán, México, D.F., 163 pp.
- Deng L., Huang C., Wang Y. 2014. Effects of combined UV and chlorine treatment on the formation of trichloromethane from amine precursors. *Environmental Science and Technology*, 48:2697-2705.
- Diaz F., Chow A., O'Geen A., Dhlgren R., Wong P. 2009. Effect of constructed wetlands receiving agricultural return flows on disinfection byproduct precursors. *Water Research*, 43:2750–2760.
- Diaz J. 2006. Susceptibilidad de los hospederos bacterianos a la infección de colifagos, provenientes de aguas residuales. (Tesis) Microbiología Industrial, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana.
- Diaz M., Serrano L. 2002. Desinfección de agua con luz ultravioleta. *Agua Latinoamérica*, 2:1-4.

- Dilip M., Kunwar D., 2013. Characteristics and treatment of greywater. *Environmental Science and Pollution Research*, 20:2795–2809.
- EPA (Environmental Protection Agency). 2002. Disinfection of treated wastewater. Victoria, Australia, 30 pp.
- EPA (Environmental Protection Agency) 2011. Water Treatment Manual: Disinfection. Office of Environmental Enforcement, Ireland, 187 pp.
- Fan Z., Gong S., Xu X., Zhang X., Zhang Y., Yu X. 2014. Characterization, DBPs formation, and mutagenicity of different organic matter fractions in two source waters. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*. 217:300-306.
- Fedler C., Francis R., Parekh D., Blanchet S. 2012. Review of Potential Onsite Wastewater Disinfection Technologies. Department of Civil and Environmental Engineering, Texas Tech University. Lubbock, Texas, 28pp.
- Fernández J., De Miguel Beascoechea E., De Miguel Muñoz J., Curt, M.D. 2005. Manual de Fitodepuración. Filtros de macrofitas en flotación (Fernandez, J. ed) Ayuntamiento de Lorca, Fundación Global Nature, Obra Social, Proyecto Life, Fundación Global Nature, 128 pp.
- García J., Corzo A. 2008. Depuración con Humedales Construidos: guía práctica de diseño, construcción y explotación de sistemas de humedales de flujo subsuperficial, 108 pp.

- Greenway M. 2005. The role of constructed wetlands in secondary effluent treatment and water reuse in subtropical and arid Australia. *Ecological Engineering*. 25:501–509.
- Gross M., Farrel-Poe K. 2004. Disinfection. University Curriculum Development for Decentralized Wastewater Management, 35 pp.
- Gullian M., Espinoza-Faller F., Nuñez A., López-Barahona N. 2012. Effect of turbidity on the ultraviolet disinfection performance in recirculating aquaculture systems with low water exchange. *Aquaculture Research*. 43:595-606.
- HACH. 2000. Manual de análisis de agua. HACH Company, Loveland, Colorado, EE.UU, 220 pp.
- Havelaar A.H., Nieuwstad Th. J. 1985. Bacteriophages and Fecal Bacteria as Indicators of Chlorination Efficiency of Biologically Treated Wastewater. *Water Pollution Control*, 57:1084-1088.
- Havelaar A.H., Van Olphen M. 1989. Water quality standards for bacteriophages? In Watershed 89. The Future for Water quality in Europe. Eds. D. Wheeler, I M.L. Richardson, & J. Bridges, pp. 357-66.
- Headley T., Nivala J., Kassa K., Olsson L., Wallace S., Brix H., Van Afferden M., Müller R. 2013. Escherichia coli removal and internal dynamics in subsurface flow ecotechnologies: Effects of design and plants. *Ecological Engineering*, 61:564– 574.
- Hoff J.C. 1986. Inactivation of microbial agents by chemical disinfectants. EPA/600/S2-86/067, Cincinnati, 7 pp.

- Ibarguen M., Bernal L. 2008. Establecer la demanda de cloro en el acueducto tribunas Córcega de la ciudad de Pereira. (Tesis) Universidad Tecnológica de Pereira, Facultad de Tecnología, Escuela de Química, Pereira.
- Instituto Nacional de Normalización. 1995. Norma Chilena Oficial NCh 2313/22. Of. 95 Aguas Residuales – Métodos de análisis – Parte 22: Determinación de coliformes fecales en medio EC.
- Instituto Nacional de Normalización. 2005. Norma Chilena Oficial NCh 2313/5 2005. Aguas residuales, Métodos de análisis, Parte 5: determinación de la Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO₅).
- Jofré J., Ollé E., Lucena F., Ribas F. 1995. Bacteriophage removal in water treatment plants. *Water Science and Technology*, 31:69-73.
- Kott Y., Roze N., Sperber S., Betzer N. 1974. Bacteriophages as viral pollution indicators. *Water Research*, 8:165-171.
- Lara J. 1999. Depuración de aguas residuales municipales con humedales artificiales, Máster en Ingeniería y Gestión Ambiental; Instituto Catalán de Tecnología, Universidad Politécnica de Cataluña. Barcelona.
- Lechevallier M., Karim M., Weihe J., Rosen J., Sobrinho J. 2006. Coliphage as a potential indicator of distribution system integrity. *Journal American Water Works Association*, 98:87-96.
- Leverenz H., Darby J., Tchobanoglous G. 2006. Evaluation of Disinfection Units for Onsite Wastewater Treatment Systems. Center for Environmental and Water Resources Engineering Department of Civil and Environmental Engineering, University of California, Davis, CA, 44 pp.

- Lindsay L. 2004. Chlorination. The National Environmental Services Center, Morgantown, 4 pp.
- Lin Deng, Ching-Hua Huang and Yung-li Wang. 2014. Effects of combined UV and chlorine treatment on the formation of trichloromethane from amine precursors. *Environmental Science and Technology*, 48:2697-2705.
- Madigan M., Martinko J., Parker J. 2003. Brock Biología de los Microorganismos. 10ª edición, Pearson. Prentice Hall, Madrid (España), 1089 pp.
- Mara N., Horan N. 2003. Handbook of Water and Wastewater Microbiology. Elsevier Academic Press, 621 pp.
- Massoud M., Tarhini A., Nasr J. 2009. Decentralized approaches to wastewater treatment and management: Applicability in developing countries. *Journal Environmental Management*, 90:652–659.
- McClean J. 2006. Comparación de mecanismos de reparación microbiana con lámparas UV de baja y mediana presión. *Agua Latinoamérica*, 6:12-14.
- Metcalf and Eddy. 2003. Wastewater Engineering: Treatment and Reuse. Editorial McGraw-Hill, 1819 pp.
- Metcalf and Eddy. 2007. Water reuse: Issues, technologies and applications. Editorial McGraw-Hill, 1503 pp.

- Molleda P., Blanco I., Ansola G., De Luis E. 2008. Removal of wastewater pathogen indicators in a constructed wetland in Leon, Spain. *Ecological Engineering*, 33:252–257.
- Mogollón M. 2005. Caracterización fisicoquímica de los humedales artificiales Universidad de Pamplona, Norte de Santander. (Tesis) Universidad Industrial de Santander, Facultad de Ciencias, Bucaramanga.
- Mulling B., Soeter M., Harm G., Admiraal W. 2014. Changes in the planktonic microbial community during residence in a surface flow constructed wetland used for tertiary wastewater treatment. *Science of the Total Environment*, 466–467:881–887.
- National Water Research Institute (NWRI). 2012. Ultraviolet Disinfection Guidelines for Drinking Water and Water Reuse, 3rd Edition. National Water Research Institute. Fountain Valley, CA,. 100 pp.
- Negroni, M. 2009. Microbiología estomatológica: fundamentos y guía práctica. Editorial Médica Panamericana S.A., Buenos Aires, Argentina, 656 pp.
- Orozco M. 2010. Efectividad en la remoción de organismos patógenos de aguas residuales domésticas utilizando humedales construidos con diferentes tipos de flujos. (Tesis) Química industrial, Facultad de tecnologías, Universidad Tecnológica de Pereira.
- OMS (Organización Mundial de la Salud).1979. Virus Humanos en el Agua, Aguas Servidas y Suelo. Ginebra (Informe Técnico 639), 52 pp.

- OMS (Organización Mundial de la Salud). 1997. Guías para la Calidad del Agua Potable: Vigilancia y Control de los Abastecimientos de Agua a la Comunidad. Volumen 3, 2ª ed., Ginebra, 250 pp.
- OMS (Organización Mundial de la Salud). 2004. Guías para la calidad del agua potable. Volumen 1, 3ª ed., Ginebra, 101 pp.
- Pérez J., Espigares M. 1999. Estudio sanitario del agua. Editorial Universidad de Granada, Campus Universitario de Cartuja, Granada, 458 pp.
- Percival S., Yates M., Williams D., Chalmers R., Gray N. 2014. Microbiology of Waterborne Diseases. Microbiological Aspects and Risks. Elsevier Academic Press, 696 pp.
- PNUD (Programa de Naciones Unidas para el Desarrollo). 2006. Informe sobre Desarrollo Humano 2006: Más allá de la escasez: Poder, pobreza y crisis mundial del agua, 440 pp.
- Quiñones-Díaz M., Karpiscak M., Ellman E., Gerba C. 2001. Removal of pathogenic and indicator microorganisms by a constructed wetland receiving untreated domestic wastewater. *Journal of Environmental Science and Health*, 36:1311–1320.
- Ramalho R. 1983. Tratamiento de aguas residuales. Editorial Reverté, 705pp.
- Rojas M., Orta de Velásquez M., Franco V. 2008. Comparación de mecanismos de acción de desinfectantes aplicados en aguas residuales. Instituto de Ingeniería, Coordinación de Ingeniería Ambiental, Universidad Nacional Autónoma de México, 4 pp.

- Rojas K.2012. Puesta en marcha de un sistema piloto de humedales construidos de flujo subsuperficial para la depuración de aguas servidas rurales:Consideración de indicadores de sustentabilidad. (Tesis) Ingeniería Ambiental, Facultad de Ciencias Ambientales, Universidad de Concepción.
- Rostad C., Martin B., Barber L., Leenheer J. 2000. Effect of a Constructed Wetland on Disinfection Byproducts: Removal Processes and Production of Precursors. *Environmental Science and Technology*, 34:2703-2710.
- Solano, M., Chacon, L., Barrantes, K., Achi, R. 2012. Implementación de dos métodos de recuento en placa para la detección de colifagos somáticos, aportes a las metodologías estándar. *Revista Peruana de Biología*, 19:335-340.
- U.S.EPA (United States Environmental Protection Agency). 1974. Physical-chemical nitrogen removal wastewater treatment. Technology transfer, Washington D.C., 30 pp.
- U.S.EPA (United States Environmental Protection Agency).1999. Folleto informativo de tecnología de aguas residuales: Desinfección con cloro. Office of Water, EPA 832-F-99-062, Washington, D.C., 9 pp.
- U.S.EPA (United States Environmental Protection Agency).1999. Folleto informativo de tecnología de aguas residuales: Desinfección con luz ultravioleta. Office of Water, EPA 832-F-99-064, Washington, D.C., 9 pp.
- U.S.EPA (United States Environmental Protection Agency).2000. Folleto informativo de tecnología de aguas residuales: Humedales de flujo subsuperficial. Office of Water, EPA 832-F-00-023, Washington D.C., 13 pp.

- U.S.EPA (United States Environmental Protection Agency). 2001. Method 1602: male specific (F+) and somatic coliphage in water by single agar layer (SAL) procedure 2001; EPA 821-R-01-029. Washington D. C., 38 pp.
- U.S.EPA (United States Environmental Protection Agency). 2002. Onsite Wastewater Treatment Systems Manual, EPA/625/R-00/008. Office of Water, Washington D.C., 367 pp.
- U.S.EPA (United States Environmental Protection Agency). 2004. Primer for Municipal Wastewater Treatment Systems, EPA 832-R-04-001. Washington D.C., 30 pp.
- U.S.EPA (United States Environmental Protection Agency). 2005. Handbook for Managing Onsite and Clustered (Decentralized) Wastewater Treatment Systems, EPA/832-B-05-001. Office of Water, Washington D.C., 66 pp.
- U.S.EPA (United States Environmental Protection Agency). 2012. Guidelines for water reuse. EPA/600/R-12/618. Office of Water, Washington D.C., 643 pp.
- Verlicchi P., Galletti A., Masotti L. 2009. A promising practice to reclaim treated wastewater for reuse: Chemical disinfection followed by natural systems. *Desalination*, 247:490-508.
- Vidal G., Baeza A., López D., Vera I., Chamorro S. 2012. Control de la contaminación de aguas servidas en áreas rurales de alta sensibilidad sísmica, a través de humedales construidos: incidencia en la eliminación de potencial biológico evaluado como disrupción endocrina (con2aser). Proyecto Fundación MAPFRE N° MA/11/AYU/026, 20 pp.

- Vymazal J. 2007. Removal of nutrients in various types of constructed wetlands. *Science of the Total Environment*, 380:48–65.
- Vymazal J., Kröpfelová L. 2008. *Wastewater Treatment in Constructed Wetlands with Horizontal Sub-Surface Flow*. Springer: Dordrecht, The Netherlands, 566 pp.
- Watson K., Shaw G., Leusch F.D.L., Knight N.L. 2012. Chlorine disinfection by-products in wastewater effluent: Bioassay-based assessment of toxicological impact. *Water Research*. 46:6069-6083.