



UNIVERSIDAD TÉCNICA PARTICULAR DE LOJA

La Universidad Católica de Loja

ÁREA BIOLÓGICA Y BIOMÉDICA

TÍTULO DE INGENIERO QUÍMICO

Eliminación de *Escherichia coli* en agua de mar mediante procesos de oxidación
avanzada

TRABAJO DE TITULACIÓN

AUTORA: Valarezo Armijos, Daniela Cristina

DIRECTOR: Guamán Caraguay, José Miguel, M. Sc.

LOJA - ECUADOR

2018



Esta versión digital, ha sido acreditada bajo la licencia Creative Commons 4.0, CC BY-NY-SA: Reconocimiento-No comercial-Compartir igual; la cual permite copiar, distribuir y comunicar públicamente la obra, mientras se reconozca la autoría original, no se utilice con fines comerciales y se permiten obras derivadas, siempre que mantenga la misma licencia al ser divulgada. <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/deed.es>

2018

APROBACIÓN DEL DIRECTOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Magíster.

José Miguel Guamán Caraguay.

DOCENTE DE LA TITULACIÓN

De mi consideración:

El presente trabajo de titulación Eliminación de *Escherichia coli* en agua de mar mediante procesos de oxidación avanzada realizado por Valarezo Armijos, Daniela Cristina, ha sido orientado y revisado durante su ejecución, por cuanto se aprueba la presentación del mismo.

Loja, marzo de 2018

f).....

DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS

Yo Valarezo Armijos Daniela Cristina declaro ser autora del presente trabajo de titulación: titulación **Eliminación de *Escherichia coli* en agua de mar mediante procesos de oxidación avanzada**, de la Titulación de Ingeniería Química, siendo José Miguel Guamán Caraguay director del presente trabajo; y eximo expresamente a la Universidad Técnica Particular de Loja y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones legales. Además certifico que las ideas, conceptos, procedimientos y resultados vertidos en el presente trabajo investigativo, son de mi exclusiva responsabilidad.

Adicionalmente declaro conocer y aceptar la disposición del Art. 88 del Estatuto Orgánico de la Universidad Técnica Particular de Loja que en su parte pertinente textualmente dice: “Forman parte del patrimonio de la Universidad la propiedad intelectual de investigaciones, trabajos científicos o técnicos y tesis de grado o trabajos de titulación que se realicen con el apoyo financiero, académico o institucional (operativo) de la Universidad.

f.

Autora: Valarezo Armijos Daniela Cristina

Cédula: 1104302599

DEDICATORIA

Este trabajo lo dedico primeramente a Dios por sus bendiciones y lograr cumplir con mis objetivos. A mis padres Vicente y Tania por su apoyo incondicional y constante durante el transcurso de mi carrera. A mi hermana Tania por su apoyo y consejos brindados. A mi abuelita por su apoyo y cariño. A mi familia y amigos quienes me han apoyado a seguir adelante. Y a los docentes que me brindaron sus conocimientos y gran ayuda a lo largo de mi carrera universitaria.

Daniela Valarezo

AGRADECIMIENTO

Agradezco primeramente a Dios por darme la salud, la vida, por ser mi fortaleza y por haber logrado alcanzar mi meta.

A mis padres, mi hermana y mi abuelita quienes han sido mi pilar fundamental. Gracias por su cariño y su amor incondicional.

A mi familia y amigos que, con su buen sentido del humor, les dan un toque de alegría y entusiasmo a mis logros.

Al Mg Sc. José Miguel Guamán Caraguay, Director del presente trabajo, gracias por la confianza y la asesoría en la realización de mi tesis.

A Mg. Sc. Mónica Cisneros, gracias por brindarme su ayuda, apoyo y amistad, en los momentos requeridos para la ejecución de mi tesis.

Al Mg. Sc. Silvio David Aguilar Ramírez, por brindarme sus conocimientos y apoyo para la elaboración esta investigación. Gracias por toda su paciencia y confianza para poder llevar a cabo este trabajo.

A Mg. Sc. Daniel Rosado, gracias por su ayuda y amabilidad en la realización de mi trabajo.

A la Universidad Técnica Particular de Loja, por darme la oportunidad de formarme como profesional.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

CARATULA	i
APROBACIÓN DEL DIRECTOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN.....	ii
DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS.....	iii
DEDICATORIA	iv
AGRADECIMIENTO	v
ÍNDICE DE CONTENIDOS.....	vi
ÍNDICE DE TABLAS	viii
ÍNDICE DE FIGURAS	ix
RESÚMEN.....	1
ABSTRACT	2
INTRODUCCION.....	3
CAPITULO 1. MARCO TEÓRICO.....	5
1.1. Acuicultura.....	6
1.2. Indicadores de contaminación hídrica.....	6
1.2.1. <i>Escherichia coli</i>	7
1.2.2. Bacterias identificadas en granjas camaroneras	7
1.3. Calidad del agua en piscinas camaroneras	8
1.4. Tratamientos de desinfección de agua	9
1.5. Procesos de oxidación avanzada (POAs).....	9
1.5.1. Radiación UV	10
1.5.2. Combinación UV/H ₂ O ₂	11
1.5.3. Reacciones Fenton	11
1.5.4. Proceso foto-Fenton	12
CAPITULO II METODOLOGÍA	13
2.1. Ubicación del Área de estudio	14
2.2. Muestreo	14
2.3. Análisis fisicoquímicos.....	15
2.4. Microorganismo de estudio y conservación	15
2.4.1. Preparación de medios nutritivos	15
2.4.2. Reactivación de <i>E. coli</i>	16

2.4.3. Preparación de muestra.....	16
2.5. Técnicas de inactivación por procesos de oxidación avanzada	17
2.5.1. Tratamiento con H ₂ O ₂	18
2.5.2. Tratamiento H ₂ O ₂ y Fe ³⁺	19
2.5.3. Recuento bacteriano en placa	19
2.6. Análisis de resultados.....	19
CAPÍTULO III.....	21
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	21
3.1. Resultados	22
3.2. Caracterización del agua marina en las piscinas camaroneras.....	22
3.3. Evaluación de tratamientos para la inactivación de <i>Escherichia coli</i>	23
3.4. Análisis de la cinética	28
3.5. Análisis ANOVA de un factor para la cinética	29
CONCLUSIONES	31
RECOMENDACIONES.....	32
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	33
ANEXOS.....	41

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Parámetros medidos en laboratorio.	15
Tabla 2. Tratamientos de oxidación avanzada y niveles de trabajo	18
Tabla 3. Análisis fisicoquímico y microbiológico del agua marina en piscina camaronera	22
Tabla 4. Resultados estadísticos ANOVA.....	29
Tabla 5. Concentraciones de cloruro férrico hexahidratado	45
Tabla 6. Tratamientos obtenidos en el análisis Pos Hoc de Turkey	47
Tabla 7. Grupos formados a partir de la tabla 7.	48

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Provincia de El Oro, Cantón Huaquillas, Puerto Hualtaco	14
Figura 2. Conservación de <i>E. coli</i> en agar Nutriente	16
Figura 3. Reactor continuo para experimentos de inactivación por procesos de oxidación avanzada. Esquema general.....	17
Figura 4. Evolución de la concentración de <i>E. coli</i> con el tratamiento (UV, UV/H ₂ O ₂ , y UV/H ₂ O ₂ /Fe ³⁺). Los símbolos muestran los promedios de los datos experimentales de cada tratamiento y las líneas el ajuste del modelo log tail. En los paréntesis mostrados en cada tratamiento, se especifica la concentración de peróxido y hierro (Fe ³⁺) en ppm respectivamente.....	25
Figura 5. Cinética y desviación típica de cada tratamiento (UV, UV/H ₂ O ₂ , y UV/H ₂ O ₂ /Fe ³⁺). Las letras representan grupos con diferencias significativas en base al análisis ANOVA.	29
Figura 6. H ₂ O ₂ aforados a 100 ml.....	44
Figura 7. Muestras de trabajo de cada ensayo.....	44
Figura 7. Muestras de trabajo de cada ensayo.....	46

RESÚMEN

En el presente estudio se evaluó la inactivación de *Escherichia coli* en agua de mar mediante procesos de oxidación avanzada (POAs) con la utilización de un reactor UV con bomba peristáltica de alimentación continua, los tratamientos considerados en este estudio fueron: (UV, UV/H₂O₂, y UV/H₂O₂/Fe³⁺) a concentraciones de peróxido de hidrógeno de (10, 20 y 30 ppm), considerando una relación 1:5 hierro-peróxido respectivamente, con tiempos de irradiación de: (0, 16, 26, 36, 46 y 56 segundos) a pH neutro. Del estudio se pudo determinar que los tratamientos con peróxido logran una disminución de 4 unidades logarítmicas, lo que significa una inactivación del 99,99% de la bacteria en estudio, comparado el tratamiento UV solo. Se determinó las cinéticas mediante el análisis Anova post hoc de Tukey, que los mejores tratamientos en este estudio son UV/H₂O₂ con 30 ppm de peróxido y UV/H₂O₂/ Fe³⁺ (30+6) peróxido y hierro respectivamente.

Palabras claves: tratamiento, tiempo, inactivación, *Escherichia coli*.

ABSTRACT

In the present study the inactivation of *Escherichia coli* in seawater was evaluated through advanced oxidation processes (POAs) with the use of a UV reactor with peristaltic pump of continuous feeding, the treatments considered in this study were: (UV, UV/H₂O₂ and UV / H₂O₂ / Fe³⁺) at hydrogen peroxide concentrations of (10, 20 and 30 ppm), considering a 1: 5 iron-peroxide ratio respectively, with irradiation times of: (0, 16, 26, 36 , 46 and 56 seconds) at neutral pH. From the study it was possible to determine that the peroxide treatments achieve a reduction of 4 logarithmic units, which means an inactivation of 99.99% of the bacteria under study, compared to the UV treatment alone. The kinetics were determined by Tukey's post hoc Anova analysis, which the best treatments in this study are UV/H₂O₂ with 30 ppm of peroxide and UV/H₂O₂ / Fe³⁺(30 + 6) peroxide and iron respectively.

Keywords: treatment, time, inactivation, *Escherichia coli*.

INTRODUCCION

En la actualidad la producción acuícola es muy importante en países de Latinoamérica ya que es una actividad que comprende la cosecha de organismos acuáticos, además contribuye económica y socialmente con el suministro de productos acuáticos para la población (Sosa, Castañeda, Amaro, Galaviz, & Lango, 2013).

La actividad camaronera en el Ecuador inicio en el año de 1968 en la provincia de El Oro, y cuenta con alrededor de 175 mil hectáreas de camaroneras, siendo el camarón principal producto de exportación (Suárez, Calle, Quinteros, Valencia, & Basantes, 2015).

De acuerdo a la Cámara Nacional de Acuicultura (2018), en el año 2017 el “Ecuador exportó 938.583.529 libras de camarón”. Según la FAO (2018) define a la acuicultura como: “el cultivo de organismos acuáticos tanto en zonas costeras como del interior que implica intervenciones en el proceso de cría para aumentar la producción” contribuyendo a la seguridad alimentaria”.

Por lo general, la industria destinada al cultivo de camarón utiliza enormes cantidades de agua sin pagar nada a cambio. Cabe destacar, las industrias camaroneras desechan sus aguas residuales en mares y océanos, puesto que vienen cargadas de desechos orgánicos, fertilizantes, químicos y antibióticos utilizados para evitar las enfermedades del camarón, sin ningún tipo de tratamiento previo lo cual provoca contaminación ambiental (Salgado, 2014).

El recambio de agua en los estanques de camarón constituye un problema debido a la composición variada en el agua, que puede contener microorganismos patógenos, los cuales ocasionan enfermedades en el cultivo de camarón (Fonseca, 2010). La mayoría de los microorganismos son bacterias eliminadas a partir del tracto gastrointestinal del hombre de los animales, que se conoce como contaminación fecal (Elika, 2012), siendo *E. coli* un buen indicador. A partir de esta especie existen algunos grupos patógenos que causan enfermedades intestinales y extraintestinales en el ser humano y los animales, lo cual se debe tener en cuenta un análisis de calidad microbiológica de las aguas (Romeu, 2012).

Actualmente los procesos para el agua de mar no se encuentran en su totalidad avanzados, sin embargo las tecnologías de oxidación contribuyen en el tratamiento y

mejora de la calidad de aguas contaminadas ya que destruyen sustancias tóxicas orgánicas, inorgánicas y microorganismos patógenos (Sanz, Lombraña, & Luis, 2013). En algunos estudios similares se ha encontrado la presencia de *E. coli* en aguas industriales y mediante tecnologías de desinfección se ha logrado reducir parcialmente la presencia de esta especie bacteriana, ya que según Romero, Moreno, Acevedo, & Nebot (2014) en su estudio encontró que las bacterias gram-negativas como *E. coli* presentan una menor resistencia de radiación UV en comparación con otras bacterias como *E. fecalis*. Asimismo en otro estudio reportado por Wu, You, Zhang, Chen, & Lee (2011) mediante el tratamiento de UV/Ag-TiO₂ + O₃ se logró inactivar *E. coli* y *V. alginolyticus*. (Acosta, Caro, & Perico, 2015)

La etapa experimental se inicia con una caracterización del agua de las piscinas de cultivo de camarón, luego se procede a preparar agua de mar sintética e inocular con una cepa bacteriana de *E. coli*, fijadas las variables de estudio, para ser sometido a 3 procesos (UV, UV/H₂O₂, y UV/H₂O₂/Fe³⁺), posteriormente se realizarán las pruebas microbiológicas necesarias para verificar la inactivación de la misma, lo cual se realiza con medios de cultivos adecuado para el recuento bacteriano.

Objetivo general

Determinar la aplicación a escala de laboratorio, de procesos de oxidación avanzada (POAs) en agua de mar para la eliminación de *E. coli*.

Objetivos específicos

- ✓ Ubicar el área de estudio donde se realizará la investigación
- ✓ Caracterizar el agua de mar destinada a la industria acuícola
- ✓ Experimentar con tres alternativas de eliminación (UV, UV/H₂O₂, y UV/H₂O₂/Fe³⁺) de la bacteria *E. coli* en agua de mar sintética.
- ✓ Establecer la cinética de eliminación de *E. coli* en las tres alternativas de tratamiento experimentadas.

CAPITULO I.
MARCO TEÓRICO

1.1. Acuicultura

En el Ecuador la industria acuícola tuvo sus inicios a finales de los años 60 en la provincia de El Oro. Ecuador se convirtió en el primer exportador mundial de camarón. El cultivo de camarón surgió como una de las principales actividades económicas en la zona costera del Ecuador, originando una fuente de exportación y además impulsando esta actividad en otras provincias de la costa ecuatoriana como Guayas, Manabí y Esmeraldas (Alvarado, 2017).

La acuicultura se ha convertido en el principal sector productivo alimentario de mayor crecimiento en todo el mundo, y es la fuente principal de alimentos para animales acuáticos (peces, crustáceos moluscos) en el consumo humano. Esta actividad se ha desarrollado en ambientes costeros y ha causado impactos sobre el uso del suelo, la destrucción de manglares y la contaminación del agua (Ottinger, Clauss, & Kuenzer, 2016). Cabe considerar, que hay una gran cantidad de materia orgánica, efluentes industriales no tratados y aguas residuales contaminadas que son lanzados en los ríos o cuerpos de agua natural, los cuales han causado preocupación ambiental a nivel mundial con el deterioro de la calidad del agua (Pardo, Suarez, & Soriano, 2006).

Años atrás se vio afectada por enfermedades infecciosas que han sido causadas por el virus del síndrome de la Taura (TSV), el virus del síndrome de la mancha blanca (WSSV) y el virus de la cabeza amarilla (TSCV), las cuales ocasionaron gran mortalidad en las piscinas camaroneras (Melena *et al.*, 2015). Esto disminuyó más de un 60 % de producción. La producción camaronera superó este desastre en el año 2000 y en la actualidad se ha convertido en una actividad rentable, comenzando a construir nuevas camaroneras.

1.2. Indicadores de contaminación hídrica

Los coliformes fecales son un subgrupo de los coliformes totales. Los coliformes fecales representan el indicador bacteriano más utilizado para evaluar la calidad microbiológica del agua y el riesgo de enfermedades infecciosas a través del agua (Sivaraja & Nagarajan, 2014). *E. coli* ha sido utilizado como un buen indicador de contaminación fecal en agua potable y ambientales, ya que aportan información válida sobre con el grado esperado de contaminación de dicho patógeno (Petterson, Stenström, & Ottoson, 2016). Los agentes involucrados en el agua como virus, bacterias y protozoos pueden ocasionar enfermedades gastrointestinales (fiebre, vómito y diarrea). Estas

enfermedades según autores Hernández, Aguilera & Castro (2011) son causadas principalmente por patógenos (*Salmonella*, *Shigella*, *Escherichia*, *Vibrio*, *Campylobacter* y *Yersinia*) que ocasionan graves enfermedades inclusive en niños menores de 5 años.

Altas concentraciones como *E. coli* y *Salmonella spp* podrían ser una amenaza para la salud pública y consumidores de alimentos (Fuhrimanna, 2016). Además, se han convertido en un problema de inocuidad de los alimentos y a su vez a la calidad del agua (Kumar, Parvathi, F, & Bhusan, 2017).

1.2.1. *Escherichia coli*

E. coli es una bacteria Gram negativa, anaerobia facultativa perteneciente a la familia Enterobacteria. Está presente la microbiota intestinal de humanos y animales. Este indicador contiene una concentración de 10^8 - 10^9 UFC/g de heces que son excretadas diariamente. El tiempo de supervivencia de *E. coli* es de dos días en su hábitat primario en la cual crece y se divide, también puede sobrevivir aproximadamente un día en su hábitat secundario como el agua (Larrea, Rojas, Romeu, Rojas, & Heydrich, 2013).

E coli se subdivide en las siguientes categorías: ECTEC (*E. coli* Enterotoxigenica), EIEC (*E. coli* Enteroinvasiva), EPEC (*E. coli* Enteropatogenica), EAEC (*E. coli* Enteroagregativa), EHEC (*E. coli* Enterohemorrágica), cada clase presenta distintas características patógenas, epidemiológicas y clínicas y cada una pertenece a un conjunto diferente de serotipos (Doyle, 2011).

Según un estudio realizado por Aragonés, López, Palazón, López, & García (2016), en zonas costeras estos indicadores se han encontrado en playas y han reportado altas concentraciones de *E. coli*. La supervivencia de este indicador de contaminación fecal se puede prolongar debido a la presencia de sedimento en suspensión y a la salinidad.

1.2.2. Bacterias identificadas en granjas camaroneras

Se han identificado bacterias de genero *Vibrio* en granjas camaroneras las cuales se colonizan en el fondo de los estanques de cultivo que provocando una enfermedad llamada necrosis hepatopancreática aguda (AHPND) conocida como el síndrome de mortalidad temprana que en algunos caso causa hasta un 100% de mortalidad acumulada en un estanque por semana (Boonyawiwat *et al.*, 2017).

De acuerdo a Rahman, *et al.* (2012) en un estudio a muestras de camarón identificó agentes patógenos tales como (*E. coli.*, *Klebsiella spp.*, *Vibrio spp.*, *Aeromonasspp.*, *Pseudomonas spp.*, *Listeria spp.*, *Shigella*organismos similares *Staphylococcus aureus* y *Salmonella spp.*) que están asociados a enfermedades entéricas.

Varias investigaciones afirman que desafortunadamente los ecosistemas marinos se encuentran en riesgo por actividades de transporte marítimas de los buques, agua de lastre, descargas de aguas residuales e industriales, las cuales conducen agentes patógenos indicadores de contaminación fecal constituyendo una amenaza para el medio marino y para la salud humana (Hereida, *et al.*, 2013; Dang *et al.*, 2016). Esto indica la necesidad de aplicar alternativas encaminadas a mejorar calidad del agua en el cultivo de camarón.

1.3. Calidad del agua en piscinas camaroneras

La calidad del agua es un elemento clave e importante en la acuicultura, en especial en camaroneras. Las condiciones del agua en un estanque de camarón son vitales ya que si el agua no se encuentra en las condiciones óptimas esto afecta al crecimiento y salud del camarón (Ichsan, Kurniawan, & Huda, 2016). El agua es bombeada a las granjas camaroneras desde el mar, tal como lo menciona Montenegro (2017), tiene altas cargas de contaminantes (microbiológicos, químicos y físicos), debido a las constante descarga de aguas servidas y de residuos industriales.

En las camaroneras la calidad del agua es monitoreada constantemente, a la entrada, y salida de los sistemas de producción con la finalidad de reducir la contaminación del agua dado que esta es esencial para un gran desarrollo del cultivo. Tomando en cuenta que es el ambiente donde se cría el crustáceo. Para mejorar el crecimiento de los camarones se utilizan alimentos balanceados y fertilizantes, los cuales se descomponen en desechos nitrogenados como el amonio y nitrito provocando efectos tóxicos sobre los camarones, por lo cual se utiliza un recambio de agua y de esta forma asegurar un ambiente óptimo de crecimiento (Saldías, 2001; Carrillo & Parrales, 2013).

La alimentación excesiva que se da en un estanque de camarón, puede aumentar los nutrientes lo que ocasiona que el agua contenga materia orgánica y sedimentos. Los efluentes descargados con nutrientes y materia orgánica pueden dar paso al aumento de la eutrofización en un largo período. De hecho, aumentan la acumulación de sólidos en suspensión (Bui *et al.*, 2012). Según Jescovitch, Ullman, Rhodes, & Davis (2018),

consideran que al aumentar las tasas de alimentación también aumentarán los nutrientes (nitrógeno, fósforo y materia orgánica), los mismos que promoverán mayores concentraciones de metabolitos tóxicos y demanda de oxígeno que pueden ocasionar dificultades con el oxígeno disuelto.

Por otra parte, el empleo de antibióticos para el control de enfermedades del camarón vuelven más resistentes a algunas bacterias patógenas presentes en las piscinas favoreciendo el aumento de la contaminación de los cultivos (Ottinger *et al.*, 2016). En estudios recientes se han encontrado resistencia a las bacterias de la especie *Vibrio* en antibióticos comunes como ciprofloxacina, penicilina, rifampicina y vancomicina (Su *et al.*, 2017; Stalin & Srinivasan, 2016). Esto conduce a problemas con el deterioro ambiental y a la necesidad de aplicar tratamientos al agua.

1.4. Tratamientos de desinfección de agua

El objetivo principal de los tratamientos de desinfección según los autores Zyara, Torvinen, Veijalainen, & Heinonen-Tanski (2016) es la eliminación de microorganismos patógenos que son capaces de producir enfermedades. Las técnicas con UV y agentes oxidantes químicos como cloro proporcionan un mejor camino de desinfección contra bacterias resistentes en el agua. El cloro se lo ha utilizado debido a su rápido efecto bactericida, bajos costos y simplicidad de su uso. No obstante, altas dosis de cloro pueden producir una mayor eficiencia de desinfección, pero pueden provocar la generación de subproductos tóxicos (Dang *et al.*, 2016).

1.5. Procesos de oxidación avanzada (POAs)

De acuerdo a Ulloa (2015) actualmente los sistemas de recirculación intensivos en la acuicultura se los utiliza para el cultivo de organismos acuáticos (peces, crustáceos y moluscos) donde el agua es continuamente reutilizada. Según Parrino, Roda, Loddo, & Palmisano (2017) destacan que la necesidad de aplicar un tratamiento eficiente al agua para mantener las condiciones de vida adecuadas de los organismos y finalmente se proporcionar productos de alta calidad y alimentos seguros. Como una alternativa a estos tratamientos están los procesos de oxidación avanzada (POAs) que mejoran la calidad del agua en general.

Los procesos de oxidación avanzada (POAs) son una alternativa tecnológicamente viable y novedosa para el tratamiento de los efluentes líquidos industriales (Garcés,

Mejía, & Santamaría, 2003). Estas tecnologías han demostrado alta eficiencia al degradar sustancias tóxicas de tipo orgánico e inorgánico, como sustancias químicas o patógenos, principalmente, debido a la generación de radicales hidroxilo que poseen un alto potencial redox (2,9 eV), y son capaces de degradar eficazmente cualquier contaminante en especial de los orgánicos (Sanz, Lombraña, & Luis, 2013). Una de las principales ventajas en comparación con los tratamientos convencionales es que degradan componentes recalcitrantes sin generar flujo de residuos secundarios (Dewil, Mantzavinos, Poullos, & Rodrigo, 2017).

Las diversas tecnologías y métodos más desarrollados de oxidación avanzada que se pueden considerar son la combinación UV con peróxido de hidrógeno (UV/H₂O₂) y el proceso Foto-Fenton (UV/ H₂O₂/Fe³⁺), entre otros (Castro & Durán, 2014).

1.5.1. Radiación UV

La desinfección del agua mediante la radiación ultravioleta (UV), es un proceso físico, eficaz para la eliminación de agentes microbianos patógenos. La radiación ultravioleta incide sobre el material genético (ADN) de los microorganismos destruyendo la pared celular y los inactiva sin producir cambios físicos o químicos en el agua (Acosta, Caro, & Perico, 2015).

Otros métodos como la cloración y la ozonización, han sido empleados por su bajo costo y simplicidad. Sin embargo, los subproductos tóxicos durante la cloración abarcan trihalometanos y compuestos halogenados. En cambio en la ozonización, incluyen compuestos bromados y aldehídos. Estos subproductos no deseados constituyen riesgos a enfermedades peligrosas transmitidas por el agua (Lee, Kim, Park, Kim, & Yu, 2015).

Debido a la formación de subproductos no deseados, UV representa una alternativa eficaz a estos métodos, ya que produce subproductos no tóxicos y es eficiente en la inactivación de bacterias resistentes al cloro (Fang *et al.*, 2014). La eficiencia de desinfección puede estar influenciada por partículas inorgánicas suspendidas, la turbidez, concentración de microorganismos que según Zhou, Li, Lan, Yan, & Zhu (2017) indican que estos factores protegen a las bacterias evitando que absorban la luz UV. En este mismo estudio observaron que la inactivación para *E. coli* a diferentes dosis de UV se lograron inactivar en un tiempo más prolongado.

1.5.2. Combinación UV/H₂O₂

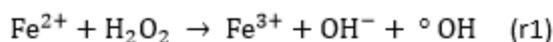
La combinación UV con peróxido de hidrógeno H₂O₂ conlleva a la formación de radicales hidroxilo OH que se caracterizan por ser especies oxidantes con mayor energía y muy potentes, mostrando una eficiencia mejorada (Yang, *et al.*, 2015). Según Torres (2014) manifiesta que su capacidad oxidante permite inhibir el crecimiento microbiano, oxidar contaminantes de fácil oxidación (hierro y sulfuros) y difícil oxidación (disolventes, gasolinas y pesticidas).

Por otra parte, este proceso combinado acelera la generación de los radicales hidroxilo OH• proporcionando un mejor tratamiento en efluentes industriales. La luz UV emite radiaciones máxima de 254 nm y hace que las moléculas de H₂O₂ se rompan provocando radicales altamente reactivos que atacan a los compuestos recalcitrantes y peligrosos, convirtiéndolos en compuestos más biodegradables (Rodríguez, Botelho, & Cleto, 2013).

En un estudio realizado por Penru, Guastalli, Esplugas, & Baig (2012) donde se aplica las tecnologías de desinfección al agua marina, se ha logrado una desinfección completa gracias a la adición del agente H₂O₂, lo cual ha logrado una mayor degradación de la materia orgánica, lo que resulta un tratamiento de mucho interés en la industria sistemas de recirculación de la acuicultura y sistemas acuíferos del mar.

1.5.3. Reacciones Fenton

Las reacciones de H₂O₂ junto con las sales de hierro forman especies oxidantes para tratar desechos químicos. En el proceso Fenton estas reacciones conducen a la generación de radicales hidroxilo (°OH) y radicales perhidroxilo (HO₂ °), este último presenta un menor poder de oxidación que los °OH. Como puede observarse, las reacciones r1 y r2 se identifican estos radicales los cuales generan reacciones de oxidación con el fin de eliminar la materia oxidable (Rubio, Chica, & Peñuela, 2015).



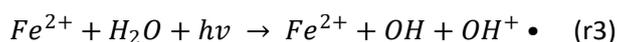
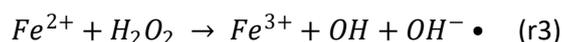
Este proceso depende de diversos parámetros que comprenden la intensidad de la fuente de radiación, concentración del oxidante (H₂O₂), concentración del catalizador

(Fe^{2+}/Fe^{3+}), el pH, tiempo de contacto, y la concentración bacteriana en muestras de agua (Chueca, Pérez, Abad, & Melero, 2014).

Entre las ventajas que se destaca: el hierro es abundante y no tóxico al igual que el H_2O_2 , es barato y fácil de manejar, y resulta innecesario utilizar energía externa para descomponer al H_2O_2 en $OH\cdot$. Y su desventaja es que los aniones tales como los fosfatos, nitratos, etc. disueltos en una disolución pueden provocar reacciones complejas con el Fe y H_2O_2 , disminuyendo la capacidad de disociación (Salas, 2010).

1.5.4. Proceso foto-Fenton

Otro de los procesos de oxidación avanzada más estudiado es el proceso foto-Fenton que surge como una alternativa para eliminar contaminantes emergentes. Los procesos foto-Fenton son efectivos en la eliminación de varias clases de contaminantes tales como los pesticidas, insecticidas, tintes, productos farmacéuticos, etc (Clarizia, Russo, Di Somma, Marotta, & Andreozzi, 2017). Este proceso es una reacción mejorada del proceso Fenton, debido a que tienen mayor velocidad de degradación y mineralización en compuestos orgánicos. En las reacciones (r3 y r4) los radicales $OH\cdot$ son producidos por la oxidación de Fe^{2+} a Fe^{3+} . Además, este proceso se puede realizar bajo la radiación solar que es una alternativa económica y sencilla (Alalm, Tawfik, & Ookawara, 2015).



CAPITULO II
METODOLOGÍA

2.1. Ubicación del Área de estudio

El presente estudio se lo realizó para una camaronera ubicada en la Provincia de El Oro, Cantón Huaquillas (Lat. 3° 28' 52.97" S y Long. 80° 14' 36" O), sitio de Puerto Hualtaco como se muestra en la Figura 1.

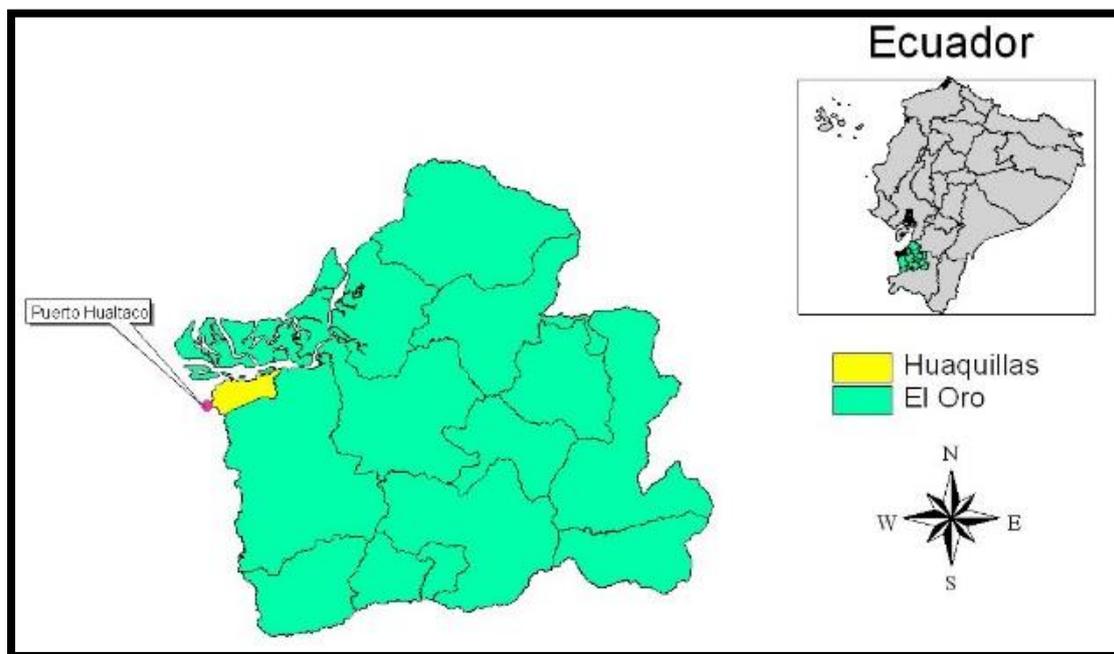


Figura 1. Provincia de El Oro, Cantón Huaquillas, Puerto Hualtaco

Fuente: Arcgis

Elaboración: Valarezo (2018)

2.2. Muestreo

Para cumplir con este punto en primera instancia se llegó a un acuerdo con el propietario de una de las camaroneras ubicadas en el Cantón Huaquillas, sitio Puerto Hualtaco en la cual se ubicó los puntos de muestreo considerando un muestreo a la entrada, dentro y a la salida de las piscinas de cultivo de camarón, las muestras fueron recolectadas en galones de 20 L para los análisis fisicoquímicos, y en frascos estériles de 150 ml para análisis microbiológicos. Algunos parámetros como temperatura, Oxígeno disuelto, pH, y conductividad eléctrica fueron determinados in situ con ayuda de un multiparámetro HQ 40D marca HACH.

El muestro se lo realizó en base a la Norma: INEN 2 169:98 que rige las normativas del agua, la calidad del agua, el muestreo y su conservación, para luego ser transportadas bajo cadena de frío para posterior análisis en los laboratorios acreditados de la UTPL.

2.3. Análisis fisicoquímicos

Todos los análisis se los realizó bajo procedimientos del “Standard Methods of Water 22nd edition 2012.

Los parámetros considerados para análisis de laboratorio son los que se describen a continuación en la tabla 1.

Tabla 1. Parámetros medidos en laboratorio.

Parámetro	Unidades
Nitritos	mg/L
Nitratos	mg/L
Coliformes totales	NMP
Cloruros	mg/L
<i>E. coli</i> en brazo de mar Puerto Hualtaco.	NMP
<i>E. coli</i> dentro de camaronera	NMP

Fuente: Laboratorio de la UTPL

Elaboración: Valarezo (2018)

2.4. Microorganismo de estudio y conservación

El estudio se lo realizó con una cepa comercial de *E. coli* (ATCC® 25922™). Para mantener el medio de cultivo se realizaron reservas criogénicas para preservar a -76 °C en dimetilsulfóxido (DMSO) al 10% y mantener la viabilidad. Este agente crioprotector protege el daño que se puede producir en las células microbianas en el momento de la congelación.

2.4.1. Preparación de medios nutritivos

Se preparó agar nutriente (BACTO-DIFCO-BBL) y caldo nutritivo para la reactivación de *E. coli*. Para agar nutriente, se pesó 2,3 g en 100 ml de agua destilada, y se calentó hasta llegar a ebullición. Seguidamente se repartió 5ml en tubos para cultivo e inmediatamente se solidificaron de forma inclinada. Para el caldo nutritivo se pesó 1,2 g y se disolvieron en 150 ml de agua destilada. Los medios de cultivo se autoclavaron a 121 °C durante 1 hora.

2.4.2. Reactivación de *E. coli*.

Para reactivar la cepa de *E. coli*, se inoculó mediante asas estériles en los tubos preparados de agar nutriente (Figura 2) y se incubó a 37 °C durante 24 horas. Se confirmó morfológicamente el crecimiento de colonias típicas para *E. coli* al observar colonias redondas y blanquecinas, las cuales se conservaron en refrigeración a 1°C por un máximo de 15 días (Figura 2). Estas cepas se consideraron como cepas de trabajo.

Se dispensó 10 ml de caldo nutritivo en nuevos tubos, en los cuales se inoculó la cepa bacteriana proveniente de los tubos de agar nutriente (figura 2), teniendo cuidado de extraer la cepa. Se midió la turbidez obtenida en la escala de mcfarland hasta alcanzar un valor de 5 que corresponde a una concentración nominal de $1,5 \times 10^9$ UFC/ml. Esta concentración fue verificada en turbidímetro (Grant Instruments Model Grant-Bio Den 1 Benchtop Densitometer). Una vez lograda esta turbidez se procedió a incubar el medio a 37°C de 12-14 horas.



Figura 2. Conservación de *E. coli* en agar Nutriente

Fuente: Laboratorio de la UTP

Elaboración: Valarezo (2018).

2.4.3. Preparación de muestra

Los 10ml de inóculo activo se mezclan con el litro de agua de mar sintética para posteriormente evaluar su concentración real (aproximadamente 10^6 UFC/ml concentración bacteriana de partida) y ser utilizados en los ensayos siguientes. Se realizaron diluciones seriadas para poder lograr concentración requerida.

En todos los ensayos de trabajo se preparó una solución de agua de mar sintética en un volumen de 1 litro, utilizando 35 gr/l de cloruro de sodio (Merck) en agua destilada esterilizada. Los materiales y medios de cultivo utilizadas se autoclavaron a 121 °C durante 1 hora.

2.5. Técnicas de inactivación por procesos de oxidación avanzada

Mediante un reactor continuo compuesto (figura 3) por una bomba peristáltica de marca Cole-Parmer Master Flex L/S Digital Drive Model 7523-80 y una lámpara UV-Cs que emite luz a 254 nm (Ultraviolet Sterilization Filter, Model: OPP-625), se realizó los experimentos de inactivación por procesos de oxidación avanzada.

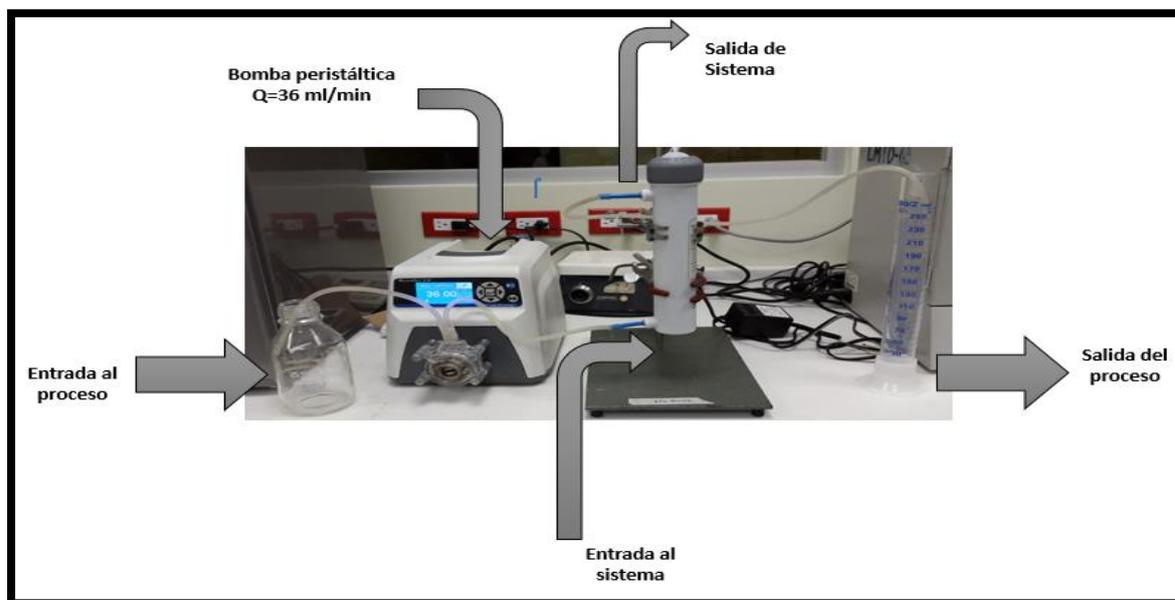


Figura 3. Reactor continuo para experimentos de inactivación por procesos de oxidación avanzada. Esquema general

Fuente: Laboratorio de la UTPL

Elaboración: Valarezo (2018).

La Figura 3 muestra un esquema general del reactor continuo donde se llevan a cabo los tratamientos de oxidación avanzada: UV, UV/H₂O₂, y UV/H₂O₂/Fe³⁺.

Se establecieron distintos tiempos de irradiación y concentraciones de peróxido de hidrógeno y hierro como se indica en la tabla 2, en donde se detallan los tratamientos de oxidación avanzada a evaluar con los respectivos niveles de trabajo.

Tabla 2. Tratamientos de oxidación avanzada y niveles de trabajo

Tiempos de exposición (s)	Tratamiento	U V	Concentración de Peróxido (ppm)	Concentración de Fe (ppm)	Microorganismo de estudio	P H
0, 16, 26, 36, 46, 56	UV	SI	0	0	<i>Escherichia coli.</i> (aproximadamente 10 ⁶ UFC)	7
	UV peróxido de hidrogeno	SI	10	0		
		SI	20	0		
		SI	30	0		
	UV peróxido Hierro	SI	10	2		
		SI	20	4		
		SI	30	6		

Fuente: Laboratorio de la UTP

Elaboración: Valarezo (2018)

Para cada tratamiento, la solución de trabajo se las dividió en 5 fracciones de 200 ml las cuales fueron aspiradas por la bomba peristáltica que impulsa hacia el reactor compuesto de la lámpara UV-C el cual tiene un volumen de 140 ml, y considerando los tiempos establecidos previo a ser calibrada la bomba para asegurar que se cumplan los tiempos descritos, al final del tratamiento para determinar la concentración bacteriana se recogió volúmenes de 15 ml de cada ensayo, de los cuales se tomó 1 ml y se colocó en las cajas Petri por duplicado. Para el tratamiento UV se aplicó la luz UV en los tiempos descrito sin ningún tipo de agente oxidante.

2.5.1. Tratamiento con H₂O₂

Para este tratamiento se adicionó a la solución bacteriana peróxido de hidrógeno hasta llegar a concentraciones de 10, 20 y 30 ppm de H₂O₂. El peróxido utilizado fue de grado análisis 30 volúmenes de la marca Fisher Scientific, de la cual se realizó los cálculos respectivos para preparar las concentraciones indicadas (Anexo A) todas las muestras fueron homogenizadas en un agitador automático durante 30 segundos antes de ingresarlas al reactor.

2.5.2. Tratamiento H₂O₂ y Fe³⁺

Para este tratamiento se trabajó con una sal de cloruro férrico hexahidratado grado análisis de la marca Merck, el hierro que cumple la función de catalizador se agregó considerando una relación 1:5 hierro: peróxido se partió de una solución intermedia de 1000 ppm de Hierro (Anexo B) los cuales fueron adicionados en las concentraciones antes indicadas a la solución bacteriana previo a adicionar el peróxido de hidrogeno.

2.5.3. Recuento bacteriano en placa

Para cuantificar la eficiencia de los experimentos de oxidación avanzada se utilizó el método de recuento en placa, que es un método utilizado con mayor frecuencia para la medición de poblaciones bacterianas. Se tomó 1 ml de las muestras obtenidas luego del reactor y se sembró en cajas petri por duplicado realizando movimientos de rotación hasta que se mezcle el inóculo con el medio de cultivo Agar Rojo Bilis Violeta (BD – DIFCO). Inmediatamente se esperó hasta que se solidifique en un lapso de 5 a 10 minutos y finalmente se incubó a 37° C durante 24 horas. Se logró la identificación de *Echerichia coli*, mediante un contador de colonias (Quebec colony counter).

2.6. Análisis de resultados

Los resultados se representaron en gráficas utilizando el software Excel. En las gráficas se representó el logaritmo en base 10 de la concentración de bacterias (UFC/ml), versus tiempo de irradiación en el reactor continuo. Se consideró un límite de detección de 1 UFC/ml. Los puntos experimentales obtenidos se ajustaron a un modelo logaritmo lineal con cola utilizando el Software Glnafit, un plug-in de Excel. Igualmente se utilizó este programa para el cálculo de la cinética. Se comparó la eficiencia de inactivación de cada tratamiento, realizando tres repeticiones.

El análisis estadístico ANOVA de un solo factor, se la realizó mediante el programa de análisis estadístico SPSS versión 20. Además, se utilizó el análisis de post hoc de Tukey con el propósito de realizar comparaciones múltiples que permitan determinar que tratamiento difiere de otro como se indica en la Tabla 6 (Anexo C).

Se realizó el análisis de subconjuntos homogéneos donde se visualizan las medias para los grupos homogéneos ordenados del menos eficiente al más eficiente. Pertenecen al

mismo grupo los tratamientos que no tienen diferencias significativas entre sí. Mientras que pertenecen a distintos grupos los que sí tienen diferencias significativas.

Nuestro diseño experimental tiene tres factores (tiempo, concentración de peróxido y concentración de hierro). El factor tiempo tuvo seis niveles (0, 16, 26, 36, 46,56) segundos, la concentración de peróxido tuvo cuatro niveles (0, 10, 20,30), posteriormente, la concentración de hierro tuvo 4 niveles (0, 2, 4, 6) ppm respectivamente. El diseño no fue completo. Se experimentó con todos los tiempos, con peróxido sin hierro y con las combinaciones de peróxido que tenían relación. Es decir, a cada concentración de peróxido le correspondía una de hierro.

Se consideró el siguiente contraste de hipótesis:

Hipótesis nula: La concentración de peróxido y la concentración de hierro no poseen ningún efecto sobre la cinética, es decir, no hay diferencias significativas.

Hipótesis alternativa: La concentración de peróxido y la concentración de hierro si tienen influencia sobre la cinética, es decir, si hay diferencias significativas.

**CAPÍTULO III.
RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

3.1. Resultados

En el presente capítulo se presentan los resultados de la caracterización del agua de mar y los procesos UV, UV/H₂O₂, y UV/H₂O₂/Fe³⁺ aplicados a la inactivación de *E. coli*.

3.2. Caracterización del agua marina en las piscinas camaroneras

En la tabla 3 se muestran los resultados obtenidos de los análisis fisicoquímicos del agua marina recogida de las piscinas camaroneras.

Tabla 3. Análisis fisicoquímico y microbiológico del agua marina en piscina camaronera

Parámetros	Unidades	Piscina camaronera			Puerto Hualtaco
		entrada	dentro	salida	
Temperatura	°C	28,40	29,60	28,50	27,70
pH		7,50	8,75	8,55	7,67
Sólidos totales	mg/L	1656	35438	35696	1050
Oxígeno Disuelto	mg/L	6,15	11,29	6,27	6,53
	%Saturación	79,20	148,70	80,70	85,00
Nitrito	mg/L	0,15	0,33	0,28	0,15
Nitrato	mg/L	11,00	1,00	2,00	15,00
Cloruro	mg/L	818,01	19254,67	19758,06	812,97
Conductividad eléctrica	µS/cm	2431,64	44236,50	44503,50	1339,73
Coliformes Totales	NMP	2258,99	1715,11	2258,99	5522,32
<i>E. coli c</i>	NMP	-	1100	-	236

Fuente: Laboratorio de la UTPL

Elaboración: Valarezo (2018)

Después de las pruebas físico-químicos y microbiológicos se obtuvieron de la caracterización del agua de piscina camaronera, la temperatura de la piscina presenta variaciones muy pequeñas de 1,2°C siendo sus valores de 28.4, 29,6 y 28,5 °C respectivamente, estos pequeños cambios de temperatura pueden ser producto de los recambio de agua que se dan en estos sistemas, estos valores se encuentran dentro de los niveles de referencia según lo señala Ajin, Silvester, Alexander, M, & Abdulla (2016) en su estudio obtiene variaciones entre 28.5 a 35 °C en el estanque de camarón. Considerando que estas variaciones de la temperatura se pueden deber al cambio estacional, la profundidad del agua, la duración del día y la condición meteorológica (Rahman, Islam, Islam, & Ariful, 2017).

Para el pH, este parámetro se evidencia una modificación de 1,25 en la escala de pH. Este cambio se le atribuye ya que una vez que se encuentra el agua en las piscinas se regula con el uso de cal, se suministra alimento y antibióticos que pueden ser los causales para este fenómeno, los valores de pH están entre 7.5 y 8.75 los cuales son similares al estudio de Kabir & Eva (2014) los que señalan el rango óptimo para el cultivo de camarón es de 7.5 a 8.5. Por lo que se puede concluir que en el sistema de nuestro estudio este parámetro se mantuvo en un rango adecuado.

Los sólidos totales con un valor de 35438mg/l están fuera de los valores que indica la norma: Texto Unificado de Legislación Secundaria en el Medio Ambiente (TULSMA, 2015), en la sección referida sobre el límite de descarga para un cuerpo de agua marina es de 250 mg/l estos valores pueden ser causados por el tipo de alimento que se suministra al camarón así como la cantidad de químicos suministrados a estas aguas.

En cuanto al oxígeno disuelto, según la norma TULSMA (2015), en su apartado de la preservación de vida acuática en medio marino y de estuario no debe ser menor al 60 % en porcentaje de saturación, por lo que la piscina de estudio tanto a la entrada, dentro de la piscina y a la salida cumple con el límite requerido. De acuerdo a Lara, Krummenauer, & Abreu (2016) las concentraciones oxígeno disuelto sugeridas deben ser mayores a 5 mg/l en granjas de cultivo ya que valores inferiores afectan a la supervivencia del camarón.

Se determinó que la concentración bacteriana de *E. coli* es de 1100 NMP/100ml de (dentro de la camaronera) y 236 NMP/100ml en el agua que ingresa a la camaronera (agua de Puerto Hualtaco). Esto nos conduce a concluir que la camaronera contribuye en cierta forma a incrementar el crecimiento de *E. coli* a pesar que en estos sistemas se usen grandes cantidades de antibióticos. Por lo tanto, los vertidos procedentes de camaronera aumentan la cantidad de *E. coli* en las aguas marinas.

Aragonés *et al.*, (2016) revelan que hay factores a tomar en cuenta y que están inversamente correlacionadas con la abundancia de *E. coli* como son: las partículas en suspensión, la temperatura y la salinidad.

3.3. Evaluación de tratamientos para la inactivación de *E. coli*

A continuación se muestran los resultados obtenidos de la inactivación mediante los tratamientos UV, UV/H₂O₂, y UV/H₂O₂/Fe³⁺.

En la Figura 4 se presentan los resultados de inactivación de *E. coli* donde se expresa la concentración de bacterias como el logaritmo del cociente de *E. coli* en un tiempo t y en tiempo cero o inicial (UFC/ml) y los tiempos de exposición en el reactor (s).

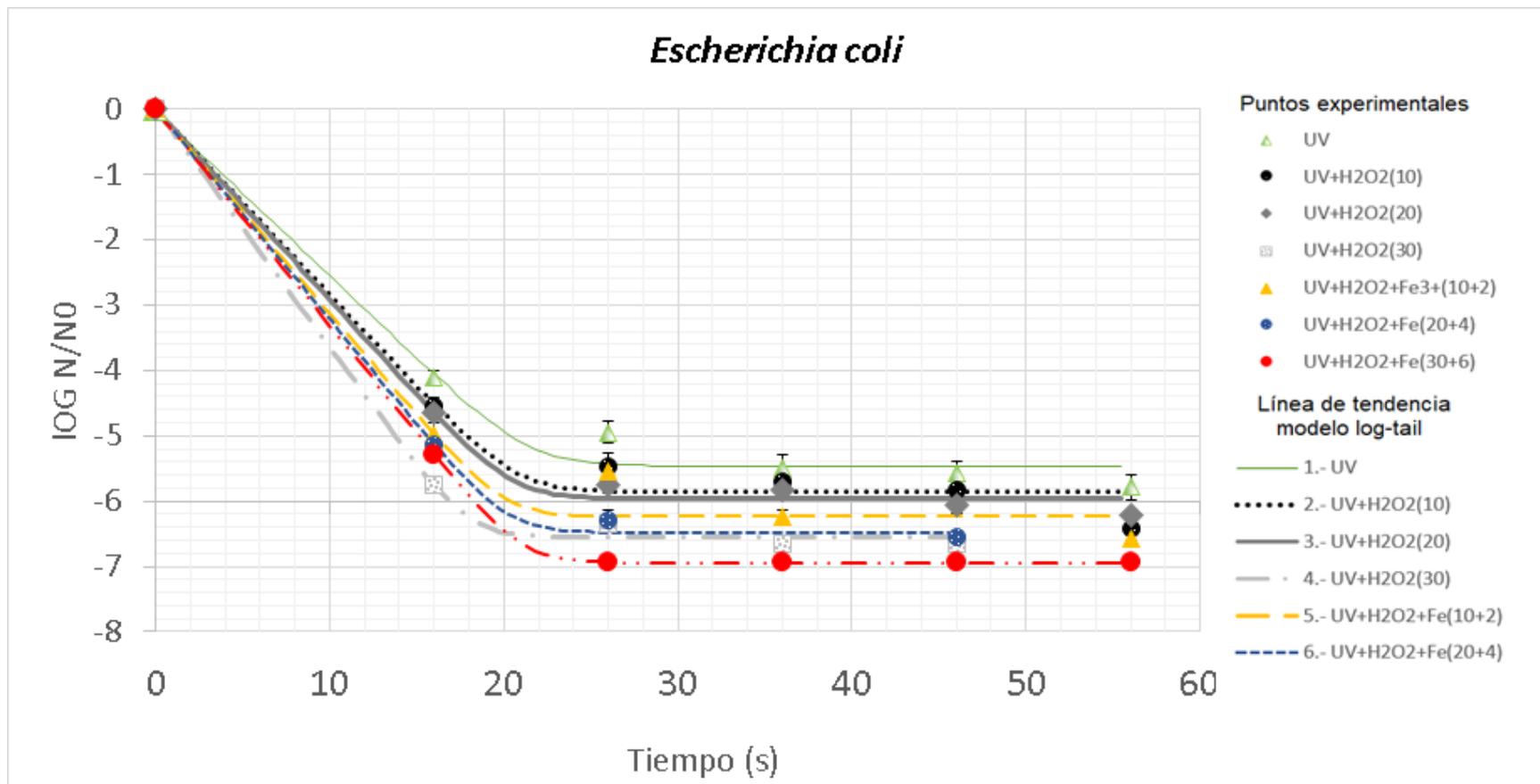


Figura 4. Evolución de la concentración de *E. coli* con el tratamiento (UV, UV/H₂O₂, y UV/H₂O₂/Fe³⁺). Los símbolos muestran los promedios de los datos experimentales de cada tratamiento y las líneas el ajuste del modelo log tail. En los paréntesis mostrados en cada tratamiento, se especifica la concentración de peróxido y hierro (Fe³⁺) en ppm respectivamente.

Fuente: Valarezo (2018)

Elaboración: Valarezo (2018)

En la figura 4 se puede visualizar que a los 16 segundos se produce un punto de inflexión en todas las curvas. Se muestra que en esos puntos las curvas se vuelven asintóticas, es decir, las pendientes disminuyen y se forma una recta horizontal. A partir de los 26 segundos las curvas toman un valor de cola constante.

En diferentes puntos de las gráficas no aparecen las barras de error, se debe a que la desviación típica es muy pequeña. Las desviaciones típicas son mayores en unos puntos y menores en otros. Fueron menores en UV+H₂O₂+Fe³⁺(30+6) y mayores en UV.

Las concentraciones bacterianas iniciales (t=0) de *E. coli* en todos los experimentos estuvieron entre 3,75·10⁶ y 5,70·10⁶ UFC/ml respectivamente. La concentración de *E. coli* va disminuyendo conforme aumenta el tiempo de irradiación con luz UV. A partir de la concentración inicial se observa que a los 16 segundos de tratamiento, ésta disminuye aproximadamente de 4 a 5 unidades logarítmicas. Esto significa que la radiación ultravioleta, elimina más del 99,99% del microorganismo de estudio. Se observa claramente pendientes diferentes entre cada tratamiento en el tiempo de 0 hasta 16 segundos. El tratamiento UV es el que presenta una pendiente de menor inclinación, es decir posee menor eficiencia de inactivación para *E. coli*, ya que la cantidad de *E. coli* residual es la más alta.

En comparación con UV, la concentración residual de *E. coli* es baja para UV+H₂O₂(10) y UV+H₂O₂(20). Estos últimos son muy similares entre sí. Le sigue la curva UV+H₂O₂+Fe³⁺(10+2) con menor concentración residual. Las curvas con concentración residual aún más bajas son UV+H₂O₂+Fe³⁺(20+4) y UV+H₂O₂(30), respectivamente. Por último, UV+H₂O₂+Fe³⁺(30+6) posee la concentración residual menor en comparación con las anteriores.

En lo relacionado a la velocidad de inactivación de *E. coli* (pendientes) en el tiempo de 0 a 16 segundos, el tratamiento UV tiene una pendiente menor en comparación con las demás pendientes; mientras que la pendiente para UV+H₂O₂(30) es la más pronunciada. Como se refleja en la figura 4, a pesar de que UV+H₂O₂(30) tenga mayor pendiente y, por tanto, sea más rápido, deja mayor concentración residual de *E. coli*. En cambio, UV+H₂O₂+Fe³⁺(30+6) tiene menor pendiente y deja menor cantidad residual.

Al comparar el tiempo de inactivación para *E. coli* con estudio de Rubio, Nebot, Casanueva, & Pulgarin (2013), en su estudio necesitaron de 7 a 9 minutos con el tratamientos UV y UV+H₂O₂(10) respectivamente. Sin embargo, en nuestro estudio se necesitó menos tiempo (16 s) para su inactivación. De acuerdo a Yang, *et al.* (2015) en su estudio utilizó la misma concentración de peróxido (10ppm) y alcanzó una inactivación total en un periodo de 10 segundos, tomando en cuenta que en su estudio utilizaron como indicador la especie *Scipsiella trochoidea*, tratándose de organismos diferentes. Las diferencias temporales son muy grandes y se deben a que las dosis de UV de la lámpara son diferentes.

Los estudios citados en el párrafo anterior en ambos casos obtienen mayor eficiencia al añadir peróxido de hidrógeno (Rubio *et al.*, 2013; Yang *et al.*, 2015). Esto se debe a la formación de radicales hidroxilo con alto poder oxidante. Estos radicales hidroxilo ($\cdot\text{OH}$) atacan directamente a la membrana celular y destruyen el ADN de *E. coli*. La adición de peróxido fue proporcional a la inactivación de *E. coli*. En el estudio realizado Moreno *et al.* (2015) encontraron que el óptimo de concentración de peróxido H₂O₂ es 5 a 10 ppm, lo cual indica que, al añadirle mayor concentración de peróxido habrá menor rendimiento en el tratamiento.

Para mantener la viabilidad de *E. coli* se debe trabajar a pH neutro, ya que un pH menor a 5 la cepa bacteriana *E. coli* no es viable (García-Fernández, Polo-López, Oller, & Fernández-Ibáñez, 2012). El hierro actúa como un catalizador en el proceso Photo-Fenton. La ventaja de este proceso es que su velocidad de reacción es alta, aunque se debe controlar el pH. Estos resultados son similares al de Rubio *et al.* (2013) al trabajar a pH neutro. A diferencia de su estudio, al aumentar la concentración de hierro no obtuvo mejoras en el rendimiento de *E. coli*, en nuestro caso sucede lo contrario, el hierro ayudó a conseguir una mayor inactivación en el último tratamiento UV/H₂O₂/Fe³⁺(30+6). Esto explica que, a mayor concentración de hierro mejor eficiencia de desinfección de *E. coli*. Por esta razón en la figura 4, se puede visualizar que sigue una línea recta más baja en comparación con las demás.

Al comparar con otro tratamiento de oxidación avanzada, como el fotocatalítico con TiO₂, según los autores Benabbou, Derriche, Felix, Lejeune, & Guillard (2007), el tiempo de inactivación de *E. coli* fue 20 min, mucho más prolongado. Esto puede ser posible gracias a la cantidad de catalizador utilizado y a la intensidad de la lámpara UV. De acuerdo al

estudio de Romero-Martínez, Moreno-Andrés, Acevedo-Merino, & Nebot (2014), explican que para *E. coli*, este tipo de tratamiento presenta mayor efecto en su inactivación, es decir, este tipo de bacteria es más débil a diferencia *E. fecalis*. Sin embargo, *E. fecalis* requiere mayor tiempo de exposición a la radiaciones ultravioletas.

La combinación con ozono O_3 y fotocatalisis UV/Ag-TiO₂ + O_3 , produce una inactivación de 6,5 a 6,7 unidades logarítmicas de *E. coli* en un tiempo de 5 min según lo señala en un estudio (Wu *et al.*, 2011). Es evidente que la combinación con UV logra mayor inactivación bacteriana. En cambio, solamente con O_3 se logra inactivar 1 unidad logarítmica. El ozono solo es poco eficiente, mientras que con UV elimina mucho más. Tal como lo menciona Buley, Hasler, Tix, Suski, & Hubert (2017), al adicionar O_3 al agua de mar, se formarán compuestos bromados los cuales son principalmente compuestos tóxicos para la vida marina. Además, los efectos negativos de O_3 disuelto en concentraciones de 0,3 a 2 mg/l, son nocivos para el camarón y otras especies.

Es importante que la concentración de *E. coli* sea lo más baja posible en una camaronera, ya que, una alta concentración podría ser perjudicial para el camarón causando la muerte.

3.4. Análisis de la cinética

Se determinó la cinética de eliminación de *E. coli* mediante los tratamientos de oxidación avanzada realizados. En la figura 5 se representa la variable cuantitativa medias de cinética de las tres corridas realizadas para cada tratamiento (variable cualitativa). Las barras de error representan la desviación típica de los resultados (n = 3).

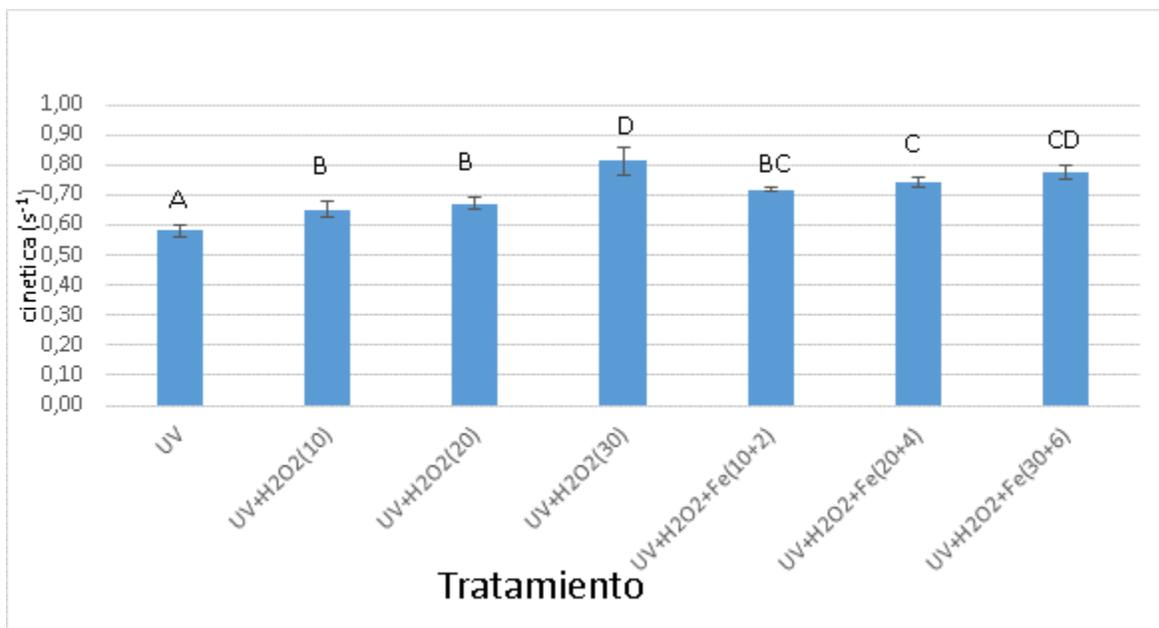


Figura 5. Cinética y desviación típica de cada tratamiento (UV, UV/H₂O₂, y UV/H₂O₂/Fe³⁺). Las letras representan grupos con diferencias significativas en base al análisis ANOVA.

Fuente: Valarezo (2018)

Elaboración: Valarezo (2018)

3.5. Análisis ANOVA de un factor para la cinética

En función del ANOVA de un factor si hay diferencias ($p < 0,05$) entre las cinéticas de los distintos tratamientos (Tabla 4). Por esta razón, en el contraste de hipótesis se acepta la hipótesis alternativa y se rechaza la hipótesis nula. Por lo que, de manera general se puede afirmar que la concentración de peróxido y la concentración de hierro tienen influencia sobre la cinética.

Tabla 4. Resultados estadísticos ANOVA

ANOVA					
cinética					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	,113	6	,019	29,934	,000
Dentro de grupos	,009	14	,001		
Total	,122	20			

Fuente: SPSS Anova

Elaboración: Valarezo (2018)

En función del análisis de post hoc de Tukey (Anexo C), el de mayor rendimiento corresponde a UV+H₂O₂(30) y UV+H₂O₂+ Fe³⁺(30+6) puesto que fueron estadísticamente diferentes que el resto de tratamientos (figura 5). Este análisis permitió obtener cuatro subconjuntos homogéneos (Anexo D). Se formó un subconjunto solo con UV, el de menor eficiencia, y un subconjunto solo con UV+H₂O₂(30) con UV+H₂O₂+ Fe³⁺(30+6), los de mayor eficiencia.

El tratamiento UV presentó una cinética media de 0,58 s⁻¹, la misma que fue mejorada al añadir peróxido y hierro (en todas las concentraciones estudiadas) aumentando hasta valores de 0,65 a 0,81 s⁻¹. Asimismo, se puede comparar el tratamiento UV+H₂O₂(10) con UV+H₂O₂+ Fe³⁺(10+2), los cuales estadísticamente son iguales. El mismo comportamiento se observó en el tratamiento de UV+H₂O₂(30) con UV+H₂O₂+ Fe³⁺(30+6). Sin embargo, la adición de 4 ppm de hierro al tratamiento de UV+H₂O₂(20) causó mejora en la cinética.

La adición de 10 ppm de peróxido mejoró la cinética de desinfección. Al comparar con el estudio de Moreno, *et al* (2016), confirman el aumento de la cinética al adicionar 10 ppm de peróxido. En nuestro caso, como se puede apreciar en la figura 5, todos los tratamientos con H₂O₂ (independientemente de la concentración) tienen diferencias significativas si se compara con UV solo.

En nuestro estudio, al trabajar con agua de mar sintética, se ha obtenido mayores cinéticas de desinfección con respecto al agua de mar real. Revisando estudios en soluciones sintéticas similares al agua de mar real, de acuerdo a Rubio *et al.* (2013), al añadir bicarbonatos al agua de mar artificial se obtiene una cinética menor, es decir, menor eficiencia, mientras que, al añadir materia orgánica natural la cinética es mayor. Se cree que al utilizar una matriz de agua de mar real, las cinéticas van a ser menores, debido a la presencia de bicarbonatos. Además, tomando en cuenta que al aplicar dichos tratamientos en una piscina camaronera, habrá presencia de materia orgánica natural, bicarbonato y diferentes microorganismos. Esto implica que habrá influencia de la cinética con respecto a la variable respuesta (inactivación de *E. coli*).

En base al estudio citado anteriormente, que utiliza luz solar simulada y luz UV-C, determinaron que el más eficiente es el tratamiento UV-C. Aunque una de las ventajas de utilizar luz solar es que es una fuente gratuita y no tiene consumo energético.

CONCLUSIONES

- La camaronera tiene influencia sobre la concentración de coliformes y la calidad del agua. Se determinó que la piscina camaronera de estudio en Puerto Hualtaco tiene 1100 NMP/100ml de *E. coli*, cantidades mayores al agua de ingreso que fue de 236 NMP/100ml.
- La oxidación avanzada es un tratamiento efectivo en la inactivación de *E. coli*. Se logró inactivar el 99,99 % en un tiempo de 16 segundos alcanzando una reducción de 4 a 5 unidades logarítmicas, en todos los tratamientos de oxidación avanzada aplicados.
- Se determinó que en un tiempo de exposición de 16 y 26 segundos son los adecuados para eliminar este microorganismo.
- Los tratamientos más eficientes fueron UV/H₂O₂(30), y UV/H₂O₂/Fe⁺³(30+6). Al utilizar mayor concentración de peróxido y hierro mejoran la eficiencia del proceso, sin embargo, aumentó la cinética y mejoró el rendimiento.

RECOMENDACIONES

- Se debería realizar estudios en una matriz agua de mar real para evitar interferencias. Considerando que el agua de mar real tiene materia orgánica, bicarbonatos, diferentes microorganismos y otros compuestos que disminuyen la transmitancia de luz UV.
- Utilizar una bomba de mayor caudal y emplear tiempos de exposición más cortos para estudiar a mayor profundidad la evolución de la concentración de inactivación de *E. coli*.
- Se recomienda realizar otros estudios a escala planta piloto con parametros de operacionales optimizados para obtener un mejor enfoque en los costes por cada proceso.

BIBLIOGRAFÍA

- Acosta, P., Caro, C., & Perico, N. (2015). Análisis de interferencia de parámetros físicos del agua, en desinfección por radiación UV. *Revista de Tecnología*, 14(2), 105-112.
- Ajin, A., Silvester, R., Alexander, D., Nashad, M., & Abdulla, M. (2016). Characterization of blooming algae and bloom-associated changes in the water quality parameters of traditional pokkali cum prawn fields along the South West coast of India. . *Environmental monitoring and assessment*, 188(3), 145.
- Alalm, M., Tawfik, A., & Ookawara, S. (2015). Degradation of four pharmaceuticals by solar photo-Fenton process: kinetics and costs estimation. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 3(1), 46-51.
- Alvarado, R. (2017). *Comercio internacional y acuicultura: caso del camarón en Ecuador*. Obtenido de Universidad Andina Simón Bolívar:
<http://repositorio.uasb.edu.ec/bitstream/10644/5510/1/T2198-MRI-Alvarado-Comercio.pdf>
- Aragonés, L., López, I., Palazón, A., López, R., & García, C. (2016). Evaluation of the quality of coastal bathing waters in Spain through fecal bacteria *Escherichia coli* and Enterococcus. *Science of the Total Environment*, 566, 288-297.
- Benabbou, A., Derriche, Z., Felix, C., Lejeune, P., & Guillard, C. (2007). Photocatalytic inactivation of *Escherischia coli*. Effect of concentration of TiO₂ and microorganism, nature, and intensity of UV irradiation. *Applied Catalysis B: Environmental*, 76(3-4), 257-263.
- Boonyawiwat, V., Patanasatienkul, T., Kasornchandra, J., Poolkhet, C., Yaemkasem, S., Hammell, L., & Davidson, J. (2017). Impact of farm management on expression of early mortality syndrome/acute hepatopancreatic necrosis disease (EMS/AHPND) on penaeid shrimp farms in Thailand. *Journal of fish diseases*, 40(5), 649-659.
- Bui, T., Luong-Van, J., & Austin, C. (2012). *Impact of shrimp farm effluent on water quality in coastal areas of the world heritage-listed Ha Long Bay*. FAO.

- Buley, R., Hasler, C., Tix, J., Suski, C., & Hubert, T. (2017). Can ozone be used to control the spread of freshwater Aquatic Invasive Species? *Management*, 8(1), 13-24.
- Carrillo, R., & Parrales, O. (2013). *Guía para el Diseño de un Sistema de Seguridad y Salud en una Empacadora de Camarón*. Guayaquil: Universidad Politecnica Salesiana.
- Castro, L., & Durán, J. (2014). Degradación y decoloración de agua contaminada con colorantes textiles mediante procesos de oxidación avanzada. *Revista Tecnología en Marcha*, 27(2), 40-50.
- Chueca, J., Pérez, S., Abad, R., & Melero, M. (2014). Estudio de la influencia de variables del tratamiento pseudo-Fenton en la inactivación de indicadores de contaminación fecal. *Tecnoaqua*, (6), 26-34.
- Clarizia, L., Russo, D., Di Somma, I., Marotta, R., & Andreozzi, R. (2017). Homogeneous photo-Fenton processes at near neutral pH. *Applied Catalysis B: Environmental*, 209, 358-371.
- Dang, T., Imai, T., Van Le, T., Nguyen, D., Higuchi, T., Kanno, A., & Sekine, M. (2016). Synergistic effect of pressurized carbon dioxide and sodium hypochlorite on the inactivation of *Enterococcus* sp. in seawater. *Water research*, 106, 204-213.
- Dewil, R., Mantzavinos, D., Poulios, I., & Rodrigo, M. (2017). New perspectives for advanced oxidation processes. *Journal of environmental management*, 195, 93-99.
- Doyle, M. (2011). *E. Coli: Good, Bad, & Deadly*. *American Academy of Microbiology*, 1-16. Obtenido de FAQ.
- Elika. (2012). *El agua en las explotaciones ganaderas*. Obtenido de <http://www.elika.eus/datos/articulos/Archivo923/ART%C3%8DCULO%20AGUA%20MAQUETADO%20cast.pdf>
- Fang, J., Liu, H., Shang, C., Zeng, M., Ni, M., & Liu, W. (2014). *E. coli* and bacteriophage MS2 disinfection by UV, ozone and the combined UV and ozone processes. *Frontiers of Environmental Science & Engineering*, 8(4), 547-552.
- FAO. (2018). *Acuicultura*. Obtenido de Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación: <http://www.fao.org/aquaculture/es/>

- Fonseca, E. (2010). Industria del camarón: su responsabilidad en la desaparición de los manglares y la contaminación acuática. *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria*, 11(5).
- Fuhrimanna, S., Pham, P., Cissé, G., Thuy, N, Ha, H., . . . Winkler, L. (2016). Microbial contamination along the main open wastewater and storm water channel of Hanoi, Vietnam, and potential health risks for urban farmers. *Science of the Total Environment*, 566, 1014-1022.
- Garcés, L., Mejía, E., & Santamaría, J. (2003). La fotocatalisis como alternativa para el tratamiento de aguas residuales. *Revista Lasallista de investigación*, 1(1).
- García, I., Polo, M., Oller, I., & Fernández, P. (2012). Bacteria and fungi inactivation using Fe³⁺/sunlight, H₂O₂/sunlight and near neutral photo-Fenton: A comparative study. *Applied Catalysis B: Environmental*, 121-122.
- Heredia, G., Saavedra, D., Lopez, K., & Tous, G. (2013). Evaluación de la calidad de agua en la Bahía de Cartagena durante la temporada seca de 2013. *Bol. Cient. CICH*, 143-159.
- Hernández, C., Aguilera, G., & Castro, G. (2011). Situación de las enfermedades gastrointestinales en México. *Enf Inf Microbiol*, 31(4), 137-151.
- Ichsan, M., Kurniawan, W., & Huda, M. (2016). Water Quality Monitoring with Fuzzy Logic Control based on Graphical Programming. *TELKOMNIKA (Telecommunication Computing Electronics and Control)*, 14(4), 1446-1453.
- Jescovitch, L., Ullman, C., Rhodes, M., & Davis, D. (2018). Effects of different feed management treatments on water quality for Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture Research*, 49(1), 526-531.
- Kabir, M., & Eva, I. (2014). Environmental impacts of shrimp aquaculture: the case of Chandipur village at Debhata upazila of Satkhira district, Bangladesh. *Journal of the Asiatic Society of Bangladesh, Science*, 40(1), 107-119.
- Kumar, S., Lekshmi, M., Parvathi, A., Nayak, B., & Varela, M. (2017). Antibiotic Resistance in Seafood Borne Pathogens. *Food Borne Pathogens and Antibiotic Resistance*; Singh, OV, Ed.; John Wiley & Sons: Hoboken, NJ, USA.

- Lara, G., Krummenauer, D., Abreu, P., Poersch, L., & Wasielesky, W. (2016). The use of different aerators on *Litopenaeus vannamei* biofloc culture system: effects on water quality, shrimp growth and biofloc composition. *Aquaculture International*, 25(1), 147-162.
- Larrea, J., Rojas, M., Romeu, B., Rojas, N., & Heydrich, M. (2013). Bacterias indicadoras de contaminación fecal en la evaluación de la calidad de las aguas: revisión de la literatura. *Revista CENIC. Ciencias Biológicas*, 44(3).
- Lee, O., Kim, H., Park, W., Kim, T., & Yu, S. (2015). A comparative study of disinfection efficiency and regrowth control of microorganism in secondary wastewater effluent using UV, ozone, and ionizing irradiation process. *Journal of hazardous materials*, 295, 201-208.
- Melena, J., Echeverría, F., Betancourt, I., Santander, R., Candell, J., & Bonami, J. (2015). Delayed mortality of juvenile shrimp *Penaeus vannamei* challenged to White spot syndrome virus (WSSV) previously exposed to Infectious hypodermal and haematopoietic necrosis virus (IHHNV) or inactivated WSSV. *Brazilian Journal of Veterinary Pathology*, 8(2), 51-57.
- Montenegro, D. (2017). *Medidas preventivas para la utilización del agua proveniente del estero huaylá para el uso en laboratorio de cria de larvas*. Machala: Unidad Academica de Ciencias Agropecuarias.
- Moreno, J., Romero, L., Acevedo, A., & Nebot, E. (2015). Determining disinfection efficiency on *E. faecalis* in saltwater by photolysis of H₂O₂: Implications for ballast water treatment. *Chemical Engineering Journal*, 283, 1339-1348.
- Ottinger, M., Clauss, K., & Kuenzer, C. (2016). Aquaculture: Relevance, distribution, impacts and spatial assessments—A review. *Ocean & Coastal Management*, 119, 244-266.
- Pardo, S., Suárez, H., & Soriano, E. (2006). Tratamiento de efluentes: una vía para La acuicultura responsable. *Revista MVZ Córdoba*, 11(Su1).
- Parrino, F., Roda, G., Loddo, V., & Palmisano, L. (2017). REWAQUA: An Advanced Technology for Water Purification in Sustainable Aquaculture Based on

Photocatalytic Ozonation. *Frontiers International Conference on Wastewater Treatment and Modelling*, 318-323.

Penru, Y., Guastalli, A., Esplugas, S., & Baig, S. (2012). Application of UV and UV/H₂O₂ to seawater: Disinfection and natural organic matter removal. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 233, 40-45.

Petterson, S., Stenström, T., & Ottoson, J. (2016). A theoretical approach to using faecal indicator data to model norovirus concentration in surface water for QMRA: Glomma River, Norway. . *Water research*, 91, 31-37.

Quebec Colony Counter. (2018). *Daigger Scientific*. Obtenido de <http://www.daigger.com/darkfield-quebec-colony-counter-i-lei13332500>

Rahman, M., Islam, M., Islam, M., & Ariful, S. (2017). Investigation of semi-intensive culture system of shrimp with special reference to soil-water characteristics of Bangladesh. *Fisheries and aquatic studies*, 5(2), 42-49.

Rahman, M., Rahman, F., Afroze, F., Yesmin, F., Fatema, K., Das, K., & Noor, R. (2012). Prevalence of pathogenic bacteria in shrimp samples collected from hatchery, local markets and the shrimp processing plant for export quality frozen shrimps. *Bangladesh J Microbiol*, 29, 7-10.

Rahman, M., Rahman, F., Afroze, F., Yesmin, F., Fatema, K., Das, K., & Noor, R. (2016). Prevalence of Pathogenic Bacteria in Shrimp Samples Collected from Hatchery, Local Markets and the Shrimp Processing Plant. *Bangladesh Journal of Microbiology*, 29(1), 7-10.

Rodriguez, T., Botelho, D., & Cleto, E. (2013). Tratamiento de efluentes industriales de naturaleza recalcitrante usando ozono, peróxido de hidrógeno y radiación ultravioleta. *Revista Facultad de Ingeniería*, (46), 24-38.

Romero, L., Moreno, J., Acevedo, A., & Nebot, E. (2014). Improvement of ballast water disinfection using a photocatalytic (UV-C+ TiO₂) flow-through reactor for saltwater treatment . *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 89(8), 1203-1210.

- Romero, L., Moreno, J., Acevedo, A., & Nebot, E. (2014). Improvement of ballast water disinfection using a photocatalytic (UV-C+ TiO₂) flow-through reactor for saltwater treatment. . *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 89(8), 1203-1210.
- Romeu. (2012). *Caracterización de cepas de Escherichia coli de importancia clínica humana aisladas de ecosistemas dulceacuícolas de La Habana*. Obtenido de Universidad de La Habana:
http://tesis.repo.sld.cu/625/1/Beatriz_Romeu_Alvarez.pdf
- Rubio, A., Chica, E., & Peñuela, G. (2015). Petrochemical wastewater treatment by photo-Fenton process. *Water, Air, & Soil Pollution*, 226(3), 62.
- Rubio, D., Nebot, E., Casanueva, J., & Pulgarin, C. (2013). Comparative effect of simulated solar light, UV, UV/H₂O₂ and photo-Fenton treatment (UV-Vis/H₂O₂/Fe²⁺,³⁺) in the *Escherichia coli* inactivation in artificial seawater. *Water research*, 47(16), 6367-6379.
- Salas, G. (2010). Tratamiento por oxidación avanzada (reacción fenton) de aguas residuales de la industria textil. *Revista Peruana de Química e Ingeniería Química*, 13(1), 30-38.
- Saldias, C. (2001). *Efluentes y balance de nutrientes en piscinas camaroneras con diferentes prácticas de manejo*. Belgica: Facultad de Ingeniería Marítima y Ciencias del Mar.
- Salgado, N. (2014). Neoliberalismo e industria camaronera en Ecuador. *Letras Verdes*, (15), 55-78.
- Sanz, J., Lombraña, J., & Luis, A. (2013). Estado del arte en la oxidación avanzada a efluentes industriales: nuevos desarrollos y futuras tendencias. *Afinidad*, 25-33.
- Silvaraja, R., & Nagarajan, K. (2014). Levels of Indicator Microorganisms (Total and Fecal Coliforms) in Surface waters of rivers Cauvery and Bhavani for Circuitously predicting the Pollution load and Pathogenic risks . *Pharm Tech*, 6(2); 455-461.
- Sosa, C., Castañeda, M. d., Amaro, I., Galaviz, I., & Lango, F. (2013). Diagnosis of the current state of aquaculture production systems with regard to the environment in Mexico. *Latin American Journal of Aquatic*, 44(2), 193-201.

- Stalin, N., & Srinivasan, P. (2016). Molecular characterization of antibiotic resistant *Vibrio harveyi* isolated from shrimp aquaculture environment in the south east coast of India. *Microbial pathogenesis*, 97, 110-118.
- Su, H., Liu, S., Hu, X., Xu, X., Xu, W., Xu, Y., & Cao, Y. (2017). Occurrence and temporal variation of antibiotic resistance genes (ARGs) in shrimp aquaculture: ARGs dissemination from farming source to reared organisms. *Science of The Total Environment*, 607, 357-366.
- Suárez, M. A., Calle, J. M., Quinteros, E. M., Valencia, L. R., & Basantes, M. C. (2015). Suárez, M. A., Calle, J. M., Quinteros, E. M., Valencia, L. R., & Basantes, M. C. (2015). Análisis del impacto económico de la aplicación del Decreto N° 1391 en la regularización de la Industria Acuícola Camaronera del Ecuador. *Ciencia Unemi*, 8(16), 11-20.
- Torres, G. (2014). *Tratamiento de aguas residuales mediante la combinación de técnicas avanzadas de oxidación y biofiltros*. Las Palmas de Gran Canaria: Universidad de Las Palmas de Gran Canaria.
- TULSMA. (2015). *Norma de calidad ambiental y de descarga de efluentes : recurso agua*. Quito: Ministerio del Ambiente.
- Ulloa, R. (2015). *El efecto de dos porcentajes de recirculación de agua en el cultivo de camarón (*Litopenaeus vannamei*)*. Machala: Universidad Técnica de Machala.
- Wu, D., You, H., Zhang, R., Chen, C., & Lee, D. J. (2011). Ballast waters treatment using UV/Ag-TiO₂+ O₃ advanced oxidation process with *Escherichia coli* and *Vibrio alginolyticus* as indicator microorganisms. *Chemical Engineering Journal*, 174(2-3), 714-718.
- Yang, P., Lai, D., Jin, B., Bastviken, D., Tan, L., & Tong, C. (2017). Dynamics of dissolved nutrients in the aquaculture shrimp ponds of the Min River estuary, China: Concentrations, fluxes and environmental loads. *Science of the Total Environment*, 603, 256-267.
- Yang, Z., Jiang, W., Zhang, Y., & Lim, T. M. (2015). Inactivation of dinoflagellate *Scripsiella trochoidea* in synthetic ballast water by advanced oxidation processes. *Environmental technology*, 36(6), 750-759.

- Zhou, X., Li, Z., Lan, J., Yan, Y., & Zhu, N. (2017). Kinetics of inactivation and photoreactivation of *Escherichia coli* using ultrasound-enhanced UV-C light-emitting diodes disinfection. *Ultrasonics sonochemistry*, 35, 471-477.
- Zyara, A., Torvinen, E., Veijalainen, A., & Heinonen, H. (2016). The effect of UV and combined Chlorine/UV treatment on coliphages in drinking water disinfection. *Water*, 8(4), 130.

ANEXOS

Anexo A. Tratamiento con H₂O₂ y Fe³⁺

Reactivo	Concentración disolución final (ppm)	Reactivo comercial %	Volumen/masa tomado (ml)	Volumen final (ml)
Peróxido	10	30%	1,33	100
	20		2,67	100
	30		4	100
hierro	2	FeCl ₃ *6H ₂ O	0,4	100
	4		0,8	100
	6		6	100

Para preparar las concentraciones de peróxido se trabajó con peróxido de hidrógeno al 30%. Inicialmente se partió de una concentración de una solución intermedia de 1500 ppm para tomar una alícuota representativa.

Utilizando la siguiente ecuación 1 para la concentración de una solución se obtiene el volumen final:

$$C_1V_1 = C_2V_2 \quad \text{Eq 1}$$

$$V_2 = \frac{1500 \frac{\text{mg}}{\text{L}} * 100\text{ml}}{300000 \frac{\text{mg}}{\text{L}}}$$

V₂ = 0,5 ml de peróxido de hidrogeno

El volumen de 0,5 ml se aforo a 100 ml de agua destilada a partir de la solución intermedia de 1500 ppm como se indica en la figura 6.

De 1 litro de solución de cloruro de sodio se dividió en 5 frascos de 200 ml cada uno (figura 7). Se realizaron tres concentraciones de trabajo de 10, 20 y 30 ppm respectivamente. Para saber que volumen que se debe tomar de la solución intermedia se ejecutó lo siguiente:

- Para 10 ppm el volumen que se debe tomar es de 1,33 ml

$$V_{10\text{ppm}} = \frac{10 \text{ ppm} * 200\text{ml}}{1500 \text{ ppm}}$$

$$V_{10\text{ppm}} = 1,33 \text{ ml de peróxido}$$

- Para 20 ppm el volumen que se debe tomar es de 2,67 ml

$$V_{20 \text{ ppm}} = \frac{20 \text{ ppm} * 200\text{ml}}{1500 \text{ ppm}}$$

$$V_{20\text{ppm}} = 2,67 \text{ ml de peróxido}$$

- Para 30 ppm el volumen que se debe tomar es de 4 ml

$$V_{30 \text{ ppm}} = \frac{30 \text{ ppm} * 200\text{ml}}{1500 \text{ ppm}}$$

$$V_{30\text{ppm}} = 4 \text{ ml de peróxido}$$



Figura 6. H₂O₂ aforados a 100 ml

Fuente: Laboratorio de la UTPL

Elaboración: Valarezo (2018)

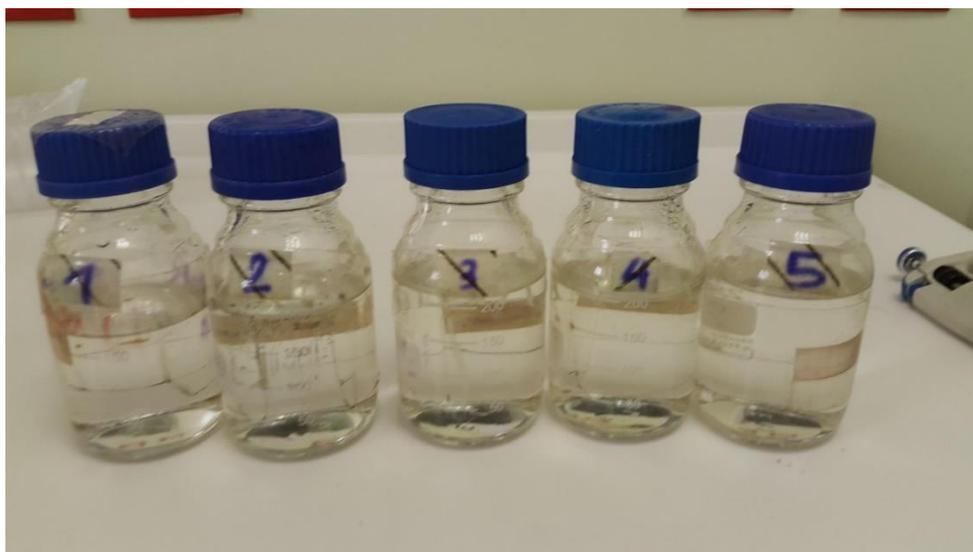


Figura 7. Muestras de trabajo de cada ensayo

Fuente: Laboratorio de la UTPL

Elaboración: Valarezo (2018)

Anexo B. Tratamiento con cloruro férrico hexahidratado.

Se partió de cloruro de Férrico hexahidratado cuya masa molar es de 270,20 g/mol. Tomando en cuenta que el peso molecular del hierro 55,54 gr se realizan los siguientes cálculos para una solución intermedia de 1000 ppm de hierro.

1.- Un gramo de hierro equivale a 4,84 gr de cloruro férrico hexahidratado. Esta cantidad se necesitó para obtener hierro (figura 8).

$$X_{Fe} = \frac{270,20 \text{ FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O} * 1 \text{ gr Fe}}{55,84 \text{ gr Fe}}$$

$$X_{Fe} = 4,84 \text{ gramos de FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O} = 1 \text{ gramo de Hierro}$$

2.- Para preparar una solución de 1000 ppm de hierro se pesó 0,484 gramos de cloruro férrico hexahidratado y se aforo a 100 ml (figura 8)

$$X_{Fe} = \frac{270,20 \text{ FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O} * 100 \text{ ml}}{55,84 \cdot 100 \text{ ml}}$$

$$X_{Fe} = 0,484 \text{ gramos de FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O} = \text{concentración de 1000 ppm de hierro.}$$

La siguiente tabla indica las concentraciones de peróxido de hidrógeno y hierro para el proceso Foto-fenton en relación 1:5.

Tabla 5. Concentraciones de cloruro férrico hexahidratado

10	20	30	ppm de H ₂ O ₂
2	4	6	ppm de Fe

Fuente: Laboratorio de la UTPL

Elaboración: Valarezo (2018)

Considerando 200 ml de volumen se aplica la fórmula de la ecuación 1 y se obtiene el volumen final de hierro.

$$C1V1 = C2V2$$

- Para 2 ppm de hierro el volumen que se debe tomar es de 0,4 ml

$$V_{2\text{ppm}} = \frac{2 \text{ ppm} * 200 \text{ ml}}{1000 \text{ ppm}}$$

$$V_{2\text{ppm}} = 0,4 \text{ ml de hierro}$$

- Para 4 ppm de hierro el volumen que se debe tomar es de 0,8 ml

$$V_{4\text{ppm}} = \frac{4 \text{ ppm} * 200\text{ml}}{1000 \text{ ppm}}$$

$$V_{4\text{ppm}} = 0,8 \text{ ml de hierro}$$

- Para 6 ppm de hierro el volumen que se debe tomar es de 1,2 ml

$$V_{6\text{ppm}} = \frac{6 \text{ ppm} * 200\text{ml}}{1000 \text{ ppm}}$$

$$V_{6\text{ppm}} = 1,2 \text{ ml de hierro}$$



Figura 8. Muestras de trabajo de cada ensayo

Fuente: Laboratorio de la UTPL

Elaboración: Valarezo (2018)

Anexo C. Comparaciones múltiples entre tratamientos obtenidos en el análisis Pos Hoc de Tukey.

Tabla 6. Tratamientos obtenidos en el análisis Pos Hoc de Tukey

Tabla p valor(sig)	UV+H₂O₂(10)	UV+H₂O₂(20)	UV+H₂O₂(30)	UV+H₂O₂+Fe³⁺(10+2)	UV+H₂O₂+Fe(20+4)	UV+H₂O₂+Fe(30+6)
UV	0,050	0,008	0,000	0,000	0,000	0,000
UV+H₂O₂(10)		0,951	0,000	0,066	0,008	0,000
UV+H₂O₂(20)			0,000	0,317	0,050	0,003
UV+H₂O₂(30)				0,005	0,037	0,480
UV+H₂O₂+Fe(10+2)					0,905	0,151
UV+H₂O₂+Fe(20+4)						0,668
UV+H₂O₂+Fe(30+6)						

Fuente: SPSS Anova

Elaboración: Valarezo (2018)

Anexo D. Subconjuntos Homogéneos.

Tabla 7. Grupos formados a partir de la tabla 6.

cinética

HSD Tukey^a

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
UV	3	,5800			
UV+H2O2(10)	3		,6500		
UV+H2O2(20)	3		,6700		
UV+H2O2+Fe(10+2)	3		,7167	,7167	
UV+H2O2+Fe(20+4)	3			,7400	
UV+H2O2+Fe(30+6)	3			,7733	,7733
UV+H2O2(30)	3				,8133
Sig.		1,000	,066	,151	,480

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

Fuente: SPSS Anova

Elaboración: Valarezo (2018)