

Universidad Católica de Temuco  
Facultad de Acuicultura y Ciencias Veterinarias  
Escuela de Medicina Veterinaria



**EVALUACIÓN DE UN SISTEMA DE DESINFECCIÓN SOLAR  
DE AGUA EN LA CIUDAD DE TEMUCO PARA USO EN SECTOR  
RURAL DISPERSO -CHILE-2004**

Unidad Académica: Universidad Católica de Temuco. Facultad de  
Acuicultura y Ciencias Veterinarias.  
Escuela de Medicina Veterinaria.

**Alumno: Pedro Tomás Calderón Riquelme**

**Profesor Guía: Horacio Gil Mujica M.V. M.S.P**

**Informante Interno: Oriana Betancourt Miel. Ms. Cs.**

**Informante Externo: Maria Paz Oyarzún. M.V.**

**Colaborador: Mario Ramírez Profesor de Física Departamento de  
Ciencias Matemáticas y Físicas.**

**TEMUCO 2004.**

## INDICE DE CONTENIDOS

	Página
?? Resumen.....	4
?? Summary.....	5
?? Introducción.....	6
?? Objetivos.....	21
?? Material y método.....	22
?? Resultados.....	32
?? Discusión.....	39
?? Conclusiones.....	45
?? Bibliografía.....	48
?? Anexo.....	53

## INDICE DE CUADROS

??Cuadro 1.....	36
??Cuadro 2.....	37

## INDICE DE FIGURAS

??Figura 1.....	27
??Figura 2.....	28
??Figura 3.....	33
??Figura 4.....	34
??Figura 5.....	35

## ÍNDICE DE FOTOS

?? Foto 1.....	22
?? Foto 2.....	23
?? Foto 3 .....	25
?? Foto 4 .....	26
?? Foto 5 .....	30
?? Foto 6 .....	31

## RESUMEN

Al menos un tercio de la población de países en desarrollo no tiene acceso a un abastecimiento seguro de agua potable. Esto conlleva a una exposición de esta población a una serie de enfermedades relacionadas con el agua. La diarrea es una de las principales causas de mortalidad infantil en países en desarrollo. Varias de estas enfermedades diarreicas (cólera desinteria etc.) son producidas y transmitidas por agentes patógenos presentes en el agua de bebida. Es por esto que una mejora en el abastecimiento de este vital recurso es de primera necesidad en zonas como las nuestras que en esta región están constituidas por áreas rurales dispersas.

Este trabajo evalúa la factibilidad técnica de recomendar el uso del un conocido y ampliamente estudiado método de desinfección solar de agua llamado método SODIS. Mediante la determinación del numero más probable de coliformes totales por 100 ml, para dilucidar los niveles de contaminación de muestras de aguas tratada con este sistema de desinfección, a 6 distintos tiempos de exposición solar ( 6,8,10,12,14 y16 hrs.) Los cuales arrojaron reducciones máximas de 99.8875% (1.8 col/100ml) y mínimas de 66.25% (540 col/100ml). Los valores mas altos (menores reducciones) se alcanzaron en muestras sometidas a 6 y 8 horas de exposición solar (menores tiempos de tratamiento) en tanto que los valores más bajos (mayores reducciones) se alcanzaron en 8, 10 y 16 hrs.

Si bien los resultados revelan que las reducciones observadas son importantes, con los datos obtenidos en esta investigación no fue posible determinar los tiempos mínimos de exposición solar para una adecuada desinfección que permitiese recomendar su uso seguro. Empero, si fue posible dilucidar la línea que se debiese seguir para lograr alcanzar este objetivo en estudios posteriores.

## SUMMARY

At least one-third of the population in developing countries has no access to a safe drinking water supplies. This entails to an exposure of this population to a series of diseases related to the water. Diarrhea is one of the major causes of infant mortality in developing countries. Several of this diarrheal diseases (cholera, dysentery, etc.), are transmitted and caused by pathogens agents present in contaminated drinking water. It is by that an improvement in the supplying of this vital resource is of first necessity in zones like ours that in this region they are constituted by dispersed rural areas.

This work evaluates the technical feasibility to recommend the use of a well-known and widely studied method of solar water disinfection called SODIS method. By the determination of the more probable number of total coliformes per 100ml , to determine the levels of contamination of water samples dealt with this system of disinfection, at 6 different times of solar treatment (6.8.10.12.14 y16 hrs.)

Which threw maximum reductions of 99,8875% (1,8 col/100ml) and minims of 66,25% (540 col/100ml). The high values (smaller reductions)were reached in samples submissive to 6 and 8 hours of solar treatment (minor's times of treatment) whereas the low values (greater reductions) were reached in 8, 10 and 16 hrs.

Although the results reveal that the observed reductions are important, with the data collected in this investigation was not possible to determine the minimum times of solar treatment for a suitable disinfection that allowed to recommend its safe use. but it was possible to explain the line that was due to follow to manage to reach this objective in later studies.

## INTRODUCCION

La situación del agua potable es precaria en numerosos países ya que, más de la tercera parte de la población rural no tiene acceso a agua suficiente y limpia. (Acra, A, 1984).

Datos obtenidos de la OMS afirman que 1.8 millones de personas mueren cada año debido a enfermedades diarreicas (incluido el cólera). El 90% de esas personas son niños menores de cinco años, principalmente procedentes de países en desarrollo. Un 88% de las enfermedades diarreicas se puede atribuir a un abastecimiento de agua insalubre, a un saneamiento y una higiene deficientes. Medidas tales como una mejora del abastecimiento de agua reduce la morbilidad por diarrea en un 21%, a la vez que una mejora del saneamiento reduce la morbilidad por diarrea en un 37,5%. El mero hecho de lavarse las manos en momentos esenciales puede reducir el número de casos de diarrea hasta un 35%. Además el mejoramiento adicional de la calidad del agua de bebida, como la desinfección en el punto de consumo, reduciría los casos de diarrea en un 45% (Jong-wook 2004)

La situación nacional es positiva dentro de la región latinoamericana ya que casi el 90% de la población chilena dispone de conexión a agua al interior de su domicilio. Sin embargo, existen notables diferencias entre grupos de familias de distintas zonas y niveles socio-económicos. (I.N.E Censo 2002),

Así, mientras en las zonas urbanas el 99% de las familias goza de acceso con conexión domiciliaria, en las áreas rurales tan sólo un 35% de la población lo hace. (OPS/OMS. 2001.) En las áreas rurales el 85% de la población utiliza para disposición de excretas un cajón sobre pozo negro o excusado conectado a fosa séptica y sólo el 15% cuenta con agua de red pública dentro de la vivienda, en tanto que, para el agua de bebida, cerca del 60% obtiene agua de un río (vertiente o estero) o de otra forma (OPS/OMS 2001.)

A nivel regional se observa que en las Regiones del Maule, Biobío, la Araucanía y en la de Los Lagos esta la mayor proporción de chilenos que no tienen conexión domiciliaria, pero cuentan con una fuente cercana, o más preocupante aún, que no cuentan con servicio de agua (OPS/OMS. Febrero 2001.) Además, según el Instituto Nacional de Estadísticas, en estas mismas regiones se encuentra la mayor parte de personas que a nivel rural no cuentan con servicio de agua potable y obtienen este elemento de fuentes poco confiables como pozos, norias, ríos o vertientes.

Así, en la región del Maule, existen 144.600 (48%) personas que no cuentan con servicio de agua potable a nivel rural y en la región del Biobío existen 250.419 (76%) personas en las mismas condiciones. En la región de los lagos 253.636 (77%) personas no cuentan con agua potable obtenida desde una red de servicio o compañía (I.N.E Censo 2002),

En la novena región de la Araucanía existen 229.583 viviendas las cuales son ocupadas por 845.421 personas. De estas 613.451 cuentan con servicio de agua potable por cañería y 231.970 no gozan de este servicio (I.N.E Censo 2002),

Las personas que no cuentan con agua potable en el área urbana son 6.350 (1.11%) y en las zonas rurales 225.620 (82%) no cuentan con agua potable. (I.N.E Censo 2002), convirtiéndola en la región con el mayor porcentaje de personas sin servicio seguro de agua potable en todo el país.

En este contexto, se hace urgente la búsqueda de medidas para revertir esta situación a nivel local.

La difusión de métodos alternativos en el saneamiento de aguas tales como la adición de sustancias químicas, el tratamiento con ozono o luz ultravioleta, la ebullición y algunos tipos de filtración, se vé limitada debido a los problemas asociados con la confiabilidad, operación, mantenimiento, costos, sabor resultante y particularmente, en el caso de la ebullición, la disponibilidad de fuentes de abastecimiento de combustible. Uno de los métodos más simples y menos costosos de proveer de agua segura para el consumo humano a las comunidades rurales es el uso de la radiación solar para inactivar bacterias y otros patógenos. (Márquez, 2003)

La radiación solar está adquiriendo cada vez mayor importancia, debido a su influencia sobre la materia viva y la viabilidad de su uso para propósitos útiles ya que es una fuente perpetua de energía natural que, junto con otras formas de energía renovables, tiene un gran potencial para una variedad amplia de usos debido a que es abundante y accesible. A diferencia de las fuentes no renovable de energía, ya que provienen de una fuente finita. (Acra, y col., 1998)

Un motivo por el cual la radiación solar ha atraído la atención se debe al significativo agotamiento de la capa de ozono estratosférica, que protege a la tierra de la radiación solar ultravioleta perjudicial (UVR) y que al parecer SE DEBE a la actividad humana. (Acra y col., 1998)

Con respecto a la radiación solar que llega a nuestro planeta es posible afirmar que se compone de diferentes tipos de luz, que en orden creciente según su longitud de onda se ordenan de la siguiente manera: UV-C, UV-B, UV-A, visible e infrarroja. La radiación ultravioleta(UVR) comprende el rango de longitud de onda entre 100 y 400 nm. Se divide algo arbitrariamente desde el punto de vista de sus efectos biológicos en tres componentes importantes UV-A UV-B y UV-C (Acra y col. ,1998 ). Los efectos biológicos adversos de UVR en hombre incluyen, entre otros, quemaduras (eritema), conjuntivitis, y cáncer de piel En contraste, el fenómeno vital de la fotosíntesis es un ejemplo de los efectos beneficiosos de la luz del sol en el ambiente natural (WHO, 1979).

La radiación UV-A, es la anterior a la radiación visible, su longitud de onda varía entre 320 y 400 nm (1 nanómetro  $\text{nm}=10^{-9}$  m) y su unidad de medida se expresa en  $\text{mW}/\text{cm}^2$  (corresponde a 0,000001 Watts de potencia por cada  $\text{cm}^2$ ). Por otra parte la UV-B que llega a la Tierra muy atenuada por la capa de ozono, es llamada también UV biológica, su longitud de onda varía entre 280 y 320 nm y es muy peligrosa para la vida en general y, en particular para la salud humana, en caso de exposiciones prolongadas de la piel y los ojos, con cáncer de piel, melanoma, catarata, debilitamiento del sistema inmunológico (Acra, y col. 1998). La UV-B representa sólo el 5% de la UV y el 0.25% de toda la radiación solar que llega a la superficie de la Tierra (Instituto Nacional de Meteorología ). La Radiación UV-C, o germicida abarca longitud de onda desde los 200 hasta los 280 nm. Esta radiación por ser de longitud de onda muy corta posee una alta energía la cual es extremadamente dañina para los organismos vivos, sin embargo son absorbidas totalmente por la capa de ozono (Acra y col., 1998).

La capa de ozono estratosférica tiene una fuerte afinidad para la absorción de la radiación solar dependiendo de longitud de onda. La absorción es más eficaz para las

longitudes de onda más cortas tendiendo a alcanzar su pico en 250 nm. Solamente una fracción de las radiaciones UV-B y UV-A alcanza el nivel del suelo. (Acra y col.,1998).

La radiación ultravioleta es una radiación de tipo no ionizante y al igual que la luz visible corresponde a una radiación de tipo electromagnética, siendo ambas capaces de inducir daños a las células y provocar su muerte (Acra, 1998). El efecto se basa en dañar las moléculas clave en las células como los ácidos nucleicos ya sea separándolos físicamente de tal forma que se reproduzcan incorrectamente o por reacciones fotoquímicas que conducen a errores en la subsecuente síntesis de proteínas, lo cual significa que el organismo no puede sobrevivir (Hooper, 1987).

A nivel de laboratorio, la radiación UV es utilizada en lámparas UV las cuales generan una luz ultravioleta artificial que es rica en radiaciones de longitud de onda próxima a los 260 nm, radiación absorbida preferentemente por los ácidos nucleicos y que si actúa durante un tiempo prolongado provoca la destrucción de todas las bacterias (Shlegel, 1997). Más específicamente, la radiación UV de longitud de onda de la magnitud de los 254 nm produce un fallo en la reparación de los dímeros de pirimidina, (Shlegel, 1997). También la radiación UV tendría un efecto bactericida directo que se produce debido a una absorción de la luz solar por parte de fotosensibilizantes endógenos (p.e.citocromos) y exógenos (sustancia húmicas) las cuales forman con el oxígeno disuelto formas altamente reactivas tales como el peróxido de hidrógeno, cuyo efecto sobre las células será descrito más adelante. (McGuigan y col., 1999).

La intensidad de la radiación solar no está distribuida uniformemente en la superficie terrestre y varía en función de la latitud, altitud, estación y hora del día ( Acra y col.,1984).

El área geográfica más indicada para el sistema de desinfección solar se encuentra entre 15° y 35° de latitud Norte y Sur y corresponde a las regiones del planeta más favorables para la implementación de tecnologías solares. La segunda zona más favorable se encuentra entre la línea del Ecuador y 15° de latitud (N y S). Estas regiones se caracterizan por su alta humedad y frecuente nubosidad, por lo cual la proporción de radiación dispersa es alta ( Wegelin y col., 1994 ). La novena región se extiende entre 37° 35' y 39° 37' de latitud sur y desde los 70° 50' de longitud oeste hasta el Océano Pacífico. La Latitud de la ciudad de Temuco es 38.733 ° latitud sur (Instituto Geográfico Militar, 2002).

En la búsqueda de formas alternativas y eficientes de saneamiento del agua surge un método de tratamiento que utiliza la radiación solar para mejorar la calidad microbiológica de ésta. Se utiliza a escala doméstica para purificar pequeñas cantidades de agua. Este método de desinfección de agua recibe el nombre de "desinfección solar de agua o método SODIS" y ha sido ampliamente estudiado y difundido por el Instituto Federal Suizo para la Ciencia y la Tecnología Ambiental (EAWAG) y su Departamento de Agua y Saneamiento en Países en Desarrollo (Sandec) (Sommer y col. ,1997).

La tecnología de desinfección solar, es una alternativa para las comunidades que no tienen acceso a servicios de agua potable, ya que comúnmente no disponen de los recursos para invertir en el tratamiento del agua para el consumo y obtienen el vital elemento de fuentes sin ningún tipo de tratamiento (Sommer y col. ,1997).

### Método

La implementación del sistema consiste básicamente en someter las muestras de agua a tratar, a una exposición de radiación solar mínima de 6 horas en condiciones meteorológicas de días despejados o con una nubosidad del 50% y cuando el cielo está cubierto (100% de nubosidad), dos días consecutivos de exposición son necesarios para

alcanzar la dosis requerida de radiación y asegurar una inactivación completa de los patógenos (Wegelin y col., 1994).

La desinfección solar es un método sencillo de costos operacionales casi nulos, que hace uso de la radiación solar y cuya principal característica es que mejora notablemente la calidad microbiológica del agua ya que son posibles reducciones entre 92% y 99.9% de coliformes termotolerantes ( Sommer 1997 ).

### Tipos de material de los contenedores

Para este sistema se recomienda utilizar botellas de plástico transparente hechas con PET (terephtalato de polietileno). Sin embargo, también es factible el uso de otros materiales tales como bolsas de plástico especialmente diseñadas para este propósito, envases de PVC (cloruro de polivinil), o botellas de vidrio (B. Sommer 1997).

El PET contiene aditivos, que corresponden a moléculas grandes que actúan como estabilizantes frente a la radiación UV para proteger las botellas y a su contenido de la oxidación y la radiación UV. Sin embargo, estos aditivos apenas se difunden por el PET (Acra y col 1984). Estos pueden representar un riesgo potencial para la salud, pero dada la baja concentración en que son usados en el PET, (menos del 1%), hace que este sea el material más adecuado para el tratamiento con el método de desinfección solar, en comparación con otros tipos de materiales de envases tales como el PVC (Acra y col., 1984).

Hay varios métodos simples que permiten determinar si una botella es de PET o PVC. Uno es la apariencia, las botellas de PVC suelen ser de color azulado brillante, que se marca especialmente en los bordes de la botella cuando se ha hecho un corte. Cuando

el PVC se quema tiene un olor picante, mientras que el PET lo tiene dulce, también este, se quema más fácilmente que el PVC (Acra y col., 1984).

Si se utilizan botellas de vidrio de dos litros, se necesitan botellas cuyo material presente una buena transmisión (determinada por la cantidad de óxido de hierro) de la luz ultravioleta UV-A, ya que el vidrio común como el utilizado en ventanas de 2 mm de espesor es prácticamente opaco a la radiación UV-A. Ciertos vidrios (Pyrex, Corex, Vycor, vidrios de cuarzo) transmiten mucho mejor la radiación ultravioleta que el vidrio ordinario. Sin embargo, para una tecnología apropiada como la desinfección solar, la utilización a gran escala de estos tipos de vidrio no representa una alternativa atractiva debido a su alto costo y la difícil disponibilidad en países en desarrollo. (Wegelin y col 2001)

Otra opción es utilizar bolsas plásticas de 3 litros diseñadas y patentadas por el (EAWAG/SANDEC) especialmente para esta tecnología. Con estas se pueden conseguir mayores eficiencias de desinfección debido a su mayor área de exposición al sol y su menor profundidad de agua. Sin embargo, el manejo y costos de estas las hacen menos convenientes para los usuarios (Acra y col.,1989).

### Proceso

La desinfección ocurre por una combinación de radiación y un tratamiento térmico en que la temperatura del agua no necesita subir muy por encima de 50°C. Esta combinación tiene un efecto sinérgico, incrementando la eficiencia de la inactivación. En consecuencia, la tasa de mortalidad de los coliformes fecales expuestos a la radiación y calor aumenta substancialmente cuando ambos factores actúan conjuntamente (Mariño y col., 1995). La eficiencia del método en la desactivación de bacterias y virus presentes en el agua ha sido demostrada mediante extensas pruebas de laboratorio que han sido realizadas desde 1991 por el Instituto Federal Suizo para la Ciencia y la Tecnología

Ambiental (EAWAG) y su Departamento de Agua y Saneamiento en Países en Desarrollo (Sandec) (Wegelin, y col., 1994).

Como se mencionó anteriormente la desinfección ocurre por una combinación de radiación (realizando un proceso de tipo fotoquímico, en que el efecto se debe principalmente a la radiación ultravioleta) y un tratamiento térmico (este constituye un tratamiento del tipo fototérmico, es decir utiliza la radiación infrarroja del espectro de la luz). (Hooper, 1987) .La radiación infrarroja va desde los 0.75um a los 1000 um. , el extremo de onda corta colinda con el límite de la percepción visual en el rojo oscuro, mientras el extremo de onda larga se superpone con el espectro microonda en el intervalo de longitud de onda de milímetros(Simon, 1998). A manera de referencia para ejemplificar el efecto de la radiación infrarroja, es importante mencionar que, para los huevos de *Ascaris spp.*, *Tenias spp.*, *Schistosomas spp.* son requeridos para la destrucción del 100% de estos una hora a 57°, 51° y 50°C, respectivamente (Acra y col.,1989).

La implementación del sistema consiste básicamente en elegir alguno de los distintos tipos de recipientes antes nombrados llenarlos con agua y exponerlos a plena luz del sol, cuando las condiciones climáticas así lo permiten. En estos casos para obtener una reducción de 3 unidades logarítmicas de *E. coli*, se requiere una dosis de 555 Wh/m<sup>2</sup> lo cual corresponde aproximadamente a una exposición de 5 a 6 horas aproximadamente (Lawand y col.,1988).

Cuando los días se encuentran con cielos totalmente nublados, la intensidad de la radiación ultravioleta UV-A se reduce a un tercio de la radiación en comparación a días completamente despejados. Es por esto que cuando el cielo esta cubierto, dos días consecutivos de exposición son necesarios para alcanzar la dosis requerida de radiación y asegurar una inactivación completa de los patógenos (Wegelin y col.,. 1994).

La desinfección solar requiere agua relativamente clara. Para asegurar una desinfección suficiente y segura, el agua cruda debe tener una turbiedad baja, menor de 30 NTU (Unidad Nefelométrica de Turbiedad). La turbiedad es utilizada como parámetro para caracterizar las propiedades ópticas de los líquidos que contienen partículas suspendidas que provocan una absorción y desviación de la luz. La turbidez elevada reduce substancialmente la penetración de la luz en el agua protegiendo a los microorganismos de la irradiación UV, por lo cual estos están expuestos solamente a efectos térmicos (ya que los microorganismos se encuentran por debajo de materiales flotantes o incorporados en sólidos sedimentables). La intensidad de la radiación UV-A disminuye más rápidamente con la profundidad en aguas turbias que en aguas claras, en consecuencia reducen la eficiencia de desinfección por el método. Sin embargo, la temperatura del agua alcanza aproximadamente el mismo nivel en ambos tipos de agua, por lo cual la inactivación de los microorganismos en aguas turbias se debe más al efecto de la temperatura que al de la radiación UV-A (Roger Pfammatter 1993).

Como se mencionó previamente la máxima turbiedad aceptada para este método de desinfección de agua es de 30 UNT. Con estos niveles de turbiedad se hace necesario alcanzar temperaturas sobre 50°C al menos por una hora. Sin embargo, si la turbiedad del agua es mayor de 30 UNT, los sólidos gruesos y sedimentables pueden ser separados por decantación (sedimentación), almacenando y decantando el agua cruda durante un día. También se puede reducir la turbiedad por filtración (en arena o con una tela tupida) o por un proceso de floculación-sedimentación (utilizando sulfato de aluminio, semillas molidas de *Moringa oleifera* u otro coagulante natural) (Wegelin, M. y col., 1994). En Chile antiguamente se usó mucho para este efecto el jugo de tuna<sup>1</sup> (*Opuntia ficus sp.*).

Existen dos maneras relativamente simples de determinar de manera aproximada la turbiedad el agua a nivel doméstico: una consiste en realizar una prueba sugerida por el

---

<sup>1</sup> Horacio Gil Mujica M.V. M.S.P., Escuela Medicina Veterinaria. Universidad Católica de Temuco.

Instituto Federal Suizo de Ciencias Ambientales y Tecnológicas (EAWAG), en que se procede a poner la botella llena por encima del logo SODIS y se mira a través de la botella desde arriba hacia abajo. Se recomienda realizar la prueba bajo sombra, en una mesa para evitar interferencia de la luz. Si se puede leer las letras a través del agua, la turbiedad es menor a 30 UNT, además si se ven los rayos del sol del logo, la turbiedad es menor a 20 UNT. Otra manera consiste en poner la botella por encima de un periódico y mirar a través de esta, si es posible leer el periódico la turbiedad es menor a 30 UNT. (Acra y col.,1998).

Otro factor incidente en el éxito de esta tecnología es la profundidad de la columna de agua, ya que con esta la radiación ultravioleta disminuye. En una profundidad de 10 cm y con una turbiedad moderada de 26 UNT, la radiación UV-A esta reducida a un 50%. Por esto es recomendable que en todos los casos, los contenedores utilizados para la desinfección solar deberían ser lo más planos posible y con una profundidad del agua inferior a 10 cm (Acra y col.,1998).

También es posible incrementar la eficiencia de la desinfección solar, si el agua expuesta al sol está saturada de oxígeno. Formas reactivas de oxígeno se producen por fotoreacción, las cuales contribuyen a eliminar a los microorganismos. La radiación solar produce formas altamente reactivas del oxígeno, como radicales libres y peróxido de hidrógeno, los cuales a su vez elimina a los microorganismos. Estos subproductos agresivos para los microorganismos son formas temporales producidas por la acción del sol en aguas oxigenadas, pero no tienen un efecto residual significativo una vez que la muestra haya sido removida del sol. Este proceso ha sido denominado "desinfección solar foto-oxidativa" y los microorganismos expuestos a los subproductos reactivos del oxígeno son oxidados durante el tratamiento (Reed,1996).

Las formas reactivas de oxígeno como el peróxido de hidrógeno son tóxicas para la célula ya que a modo de ejemplo el peróxido de hidrógeno oxida los grupos SH de la célula bacteriana (Shlegel, 1997).

A escala práctica, para lograr una óptima aireación y contenido de oxígeno de la muestra se recomienda agitar el agua cruda vigorosamente antes de llenar la botella. También se puede llenar la botella hasta la mitad o las tres cuartas partes de ésta, sacudirla fuertemente durante 20 segundos, para finalmente llenarla completamente antes de exponerla al sol, logrando así favorecer la inactivación de los microorganismos por el método de desinfección solar (Reed, 1997).

Para evaluar la efectividad de esta sinergización (de efectos fototérmicos y oxidativos) y además demostrar que el daño producido en los patógenos fue permanente, una serie de análisis bacteriológicos fueron realizados a muestras oxigenadas, 24 horas después de su exposición al sol. Los resultados de estos análisis demostraron que no existía un nuevo incremento de las bacterias, lo cual indica que han sido inactivadas de manera irreversible (Reed, 1997).

Los microorganismos susceptibles a este método de desinfección incluyen bacterias, (*Escherichia coli*, vibrión del cólera, *Streptococcus faecalis*, *Pseudomona aeruginosa*, *Shigella flexneri*, salmonelas de los tipo *typhii*, *enteriditis* y *paratyphi*) virus, (bacteriófago F2, rotavirus, virus de la encéfalomiocarditis) levaduras y hongos (*Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Candida*, *Geotrichum*). La inactivación de esporas y quistes que forman organismos tales como protozoos y helmintos no se ha determinado sistemáticamente todavía (Acra, 1998).

Para determinar la presencia de contaminación fecal deben utilizarse organismos indicadores, los cuales debe poseer características tales como: estar presente en alto

número en las heces humanas, ser perceptible por métodos simples y no crecer en agua natural. Su persistencia en agua y el grado de retiro con el método de tratamiento de aguas debe ser similar a los de los patógenos flotantes. Muchos de estos criterios son satisfechos por *Escherichia coli* (coliforme fecal). *E.coli* es por lo tanto el mejor organismo indicador para determinar la contaminación fecal del agua potable cuando los recursos para la examinación microbiológica son limitados (WHO,1993). Algunos organismos sin embargo (enterovirus, *Cryptosporidium*, *Giardia* y las amebas), son más resistentes que *E.coli*. La ausencia de *E.coli*, por lo tanto, no indica necesariamente su eliminación. Las esporas de clostridios sulfito-reductores se pueden utilizar como indicador para estos organismos (WHO, 1993), por lo tanto el (EAWAG/SANDEC) recomienda la determinación mediante el recuento de coliformes fecales.

Sin embargo, según el Instituto Nacional de Normalización a través de la Norma Chilena NCh409/1 en su "Anexo A, establece que: "los requisitos bacteriológicos de esta norma se han establecidos en base a considerar como indicadores de contaminación a los gérmenes del grupo coliforme (coliformes totales)". Y hace la recomendación de que "los servicios establezcan la diferenciación de coliformes fecales con el objeto de controlar y mejorar sus sistemas de tratamiento y operación".

Englobando todos los factores antes mencionados es posible llegar a la conclusión, de que en este proceso los medios por los cuales principalmente se logra la desinfección del agua son la radiación ultravioleta sinergizada con la temperatura (radiación infrarroja). Sin olvidar que para que estos factores funcionen óptimamente dependen a su vez del material del recipiente, del lugar escogido, y de la orientación del envase, la profundidad del agua, la turbiedad y del tiempo de exposición. Según Wegelin y Sommer, (1998) es factible optimizar y maximizar la radiación solar recibida y la temperatura del agua utilizando soportes o envases pintados de negro (longitudinalmente) en su mitad inferior (lo cual permite obtener temperaturas del agua

superiores de aproximadamente 5°C en comparación con botellas sin pintar). Y manteniendo pequeña la relación volumen del agua / área expuesta al sol. También es una opción para maximizar el efecto del sistema, ubicar los envases sobre una superficie pintada de color negro tal como una plancha de zinc corrugado (Wegelin, 1998).

Este método posee ciertas limitaciones tales como requerimientos de condiciones climáticas favorables, radiación solar y temperaturas, preferiblemente no inferiores a 500 W/m<sup>2</sup> y 20 °C respectivamente. Debe ser aplicado a agua cruda de baja turbiedad, preferiblemente con menos de 30 UNT. Otra limitación es que podría causar problemas ambientales si se deben reemplazar las botellas plásticas frecuentemente y a pesar de ser una tecnología sencilla, requiere del entrenamiento adecuado de los usuarios (Acra, 1984).

Dentro de las principales ventajas se puede mencionar que requiere del uso de botellas plásticas que son fáciles de manipular e igualmente convenientes para el almacenamiento y transporte del agua. La aplicación de la desinfección solar es sencilla, y en consecuencia, ideal para uso doméstico. Además, reduce el riesgo de recontaminación del agua de bebida, puesto que esta es tratada y almacenada en el mismo recipiente cerrado hasta su uso, no requiere de la adición de sustancias químicas, y consecuentemente no afecta el sabor o el olor del agua. Es una forma de tratamiento de agua reproducible que requiere bajos niveles de capital de inversión y períodos cortos de construcción. Es una tecnología ambientalmente sana, pues reduce la demanda de leña y carbón de leña, reduciendo así la tasa de deforestación. Emplea botellas plásticas vacías, y de esa forma aumenta el reciclaje de residuos sólidos (Wegelin, 1998).

Este estudio fue realizado a modo de una evaluación preliminar ya que no existen estudios similares en la región. De ser positiva su evaluación sería posible recomendar su implementación en la población constituida por las comunidades rurales dispersas de la

provincia de Cautín. Es decir poblaciones rurales dispersas que no cuenten con abastecimiento seguro de agua potable, ni tampoco los medios como acceder a éste. Además deben poseer condiciones metereológicas similares en la novena región.

Es importante mencionar que la recomendación de implementación del sistema de desinfección solar del agua es sugerida como un método alternativo en la ausencia del sistema tradicional de desinfección del agua mediante la cloración y de ninguna manera pretende reemplazarlo.

De manera contraria si no resultase una evaluación positiva, el presente trabajo, pretende dar pie a estudios que mejoren o hagan más eficiente, este método en su aplicación a nivel local.

Retomando el aspecto de la situación del deficiente abastecimiento de agua potable en la región a nivel rural disperso y su comparación con la situación nacional se hace necesario y urgente la búsqueda de métodos alternativos, sustentables en el tiempo y de costos accesibles, para esta población, es así como la desinfección solar surge como una excelente alternativa que puede contribuir a mejorar esta precaria situación

## **HIPOTESIS**

Las concentraciones de coliformes totales de aguas naturales contaminadas disminuyen a niveles aceptables para consumo humano, después de ser sometidas al tratamiento de desinfección solar durante el periodo de tiempo recomendado.

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo General:**

Demostrar la efectividad del proceso de desinfección solar bajo condiciones climáticas de días soleados, a través del recuento de coliformes totales, en la ciudad de Temuco, entre los meses de Enero a Abril del año 2004.

### **Objetivos Específicos:**

- Aplicar técnicas microbiológicas sugeridas por el Instituto Nacional de Normalización y la Norma Chilena Oficial para el aislamiento de coliformes totales en muestras de aguas tratadas por solarización.
- Comparar recuentos de coliformes totales en días soleados y a distintos tiempos (6 a 16 h).
- Evaluar la técnica de desinfección solar de agua fuera de la zona geográfica ideal recomendada por SODIS.
- Plantear recomendaciones para su uso en sectores rurales en similares condiciones meteorológicas

## MATERIAL Y METODOS

### Selección del punto de muestreo

El estudio se realizó obteniendo las muestras a partir del caudal del canal Gibbs, canal que resulta de una aducción del río Cautín y del estero Pillalelbún y que hasta hace pocos años fue la fuente para agua potable de la ciudad, el que recorre en un sector importante de ella. Para la determinación de este punto de muestreo se solicitó información a la Dirección de Obras Hidráulicas sede Temuco, sobre cursos de agua representativos del área rural dispersa y expuestas a descargas fecales no autorizadas, susceptibles de ser usadas como aguas de consumo humano. Con esta información se determinó como único punto de muestreo el canal antes nombrado, específicamente la entrada al parque monumento Natural Cerro Ñielol.



**Foto 1: Punto de Muestreo**

Este fue seleccionado por cumplir con las condiciones ideales ya que es un canal de riego que para efectos de la ciudad de Temuco es un evacuador de aguas lluvias y que en ciertos sectores recibe descargas de aguas servidas de hogares cuyo origen procede de tomas de terreno ilegales, que no cuentan con urbanización, agua potable ni sistema de alcantarillado.

El canal se extiende desde la calle Cacique Lemunao hasta su unión con el estero Temuco, con una longitud total de 5.243 mts. A partir de este punto recibe el nombre de canal Gabriela Mistral el cual tiene una longitud de 3.098 mts y finaliza como tal en el límite urbano de la ciudad de Temuco.

### **Selección del lugar de tratamiento**

Para lograr una adecuada solarización de las muestras, se eligió un lugar que daba garantía de presencia solar constante y no susceptible a intervenciones de terceros que pudiesen afectar o impedir una adecuada solarización. Para esto se eligieron los techos de la Escuela de Medicina Veterinaria. Estos además de cumplir con los requisitos anteriores, estaban pintados de Color negro lo cual favorece el proceso.



**Foto 2: .-1 Botellas sobre techo negro 2.- Vista del lugar elegido para el tratamiento**

## **Obtención conservación y transporte de las muestras**

El estudio se basó en la determinación de la calidad higiénica del agua sometida a tratamiento solar, medida a través del recuento de coliformes totales. Para esto se realizó la obtención de muestras en el canal Gibbs. Se realizaron cuatro muestreos, uno en Enero, otro dos en Marzo y finalmente uno en Abril de 2004.

Todas las muestras obtenidas se analizaron en el laboratorio de Microbiología de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Católica de Temuco y se trabajó con los promedios de cada recuento.

## **Materiales**

### **a) Para la obtención y transporte de las muestras:**

- 1 Nevera
- 1 Cucharón de acero inoxidable
- Bolsas plásticas de cierre hermético estériles (Nasco Whil-pak)
- Alcohol 98%

### **b) Para el recuento de coliformes totales y fecales**

- Estufa de incubación a  $35 \pm 1$  °C (Mettler)
- Baño de agua con cubierta termoregulada a  $44 \pm 0.2$  °C (polyscience)
- Balanza: capacidad hasta 2500 grs. y sensibilidad de 0.1 grs.
- Pipetas bacteriológicas de 1-5 y 10 ml.
- Botellas de dilución de vidrio con tapas herméticas.
- Tubos de 16 X160 con campana de Durham para fermentación.
- Caldo Lactosado Bilis Verde Brillante 2% (BVB) (merk)

- Caldo EC (merk)
- Caldo Lactosado Lauril Sulfato Triptosa (merk)
- Agua destilada estéril.

**c) Para cada tratamiento:**

- Ocho botellas desechables de 2 litros de material PET.
- 1 Spray color negro para pintar cada botella.
- Tejado de zinc pintado de negro.

**Obtención de las muestras.**

Las muestras de agua se obtuvieron desde la parte central y más profunda del caudal del canal Gibbs, sumergiendo completamente cada envase hasta llenarlo a la mitad para realizar el proceso de aireación. Posterior a esto se sumergieron nuevamente para completar su llenado.



**Foto 3: .-1 Obtención de las muestras**

**2.- Proceso de aireación**

### **Tratamiento de los envases.**

Los envases fueron pintados longitudinalmente hasta la mitad de negro con pintura spray. Posteriormente, se procedió a lavar cada envase con el detergente lavalozas Quix<sup>Mr</sup> (de amplio uso en la Región), adicionando al interior de los mismos dos gotas del detergente y agua de la llave hasta la mitad, agitándose vigorosamente cada botella durante 2 minutos, posteriormente se realizaron 3 enjuagues con agua obtenida de la misma forma para eliminar el detergente residual. Los recipientes no deben ni pretenden ser estériles, ya que se está intentando reproducir las condiciones reales para las cuales pretende ser validado el proyecto.

### **Evaluación de turbidez.**

Para comprobar si las muestras tomadas no poseían una turbidez mayor a 30 UNT, cada una de las botellas fue llenada hasta la mitad de su capacidad y posteriormente se contrapusieron a un fragmento de periódico. Según Acra (1998) si es factible leer a través de la botella, la turbidez sería menor a 30 UNT.

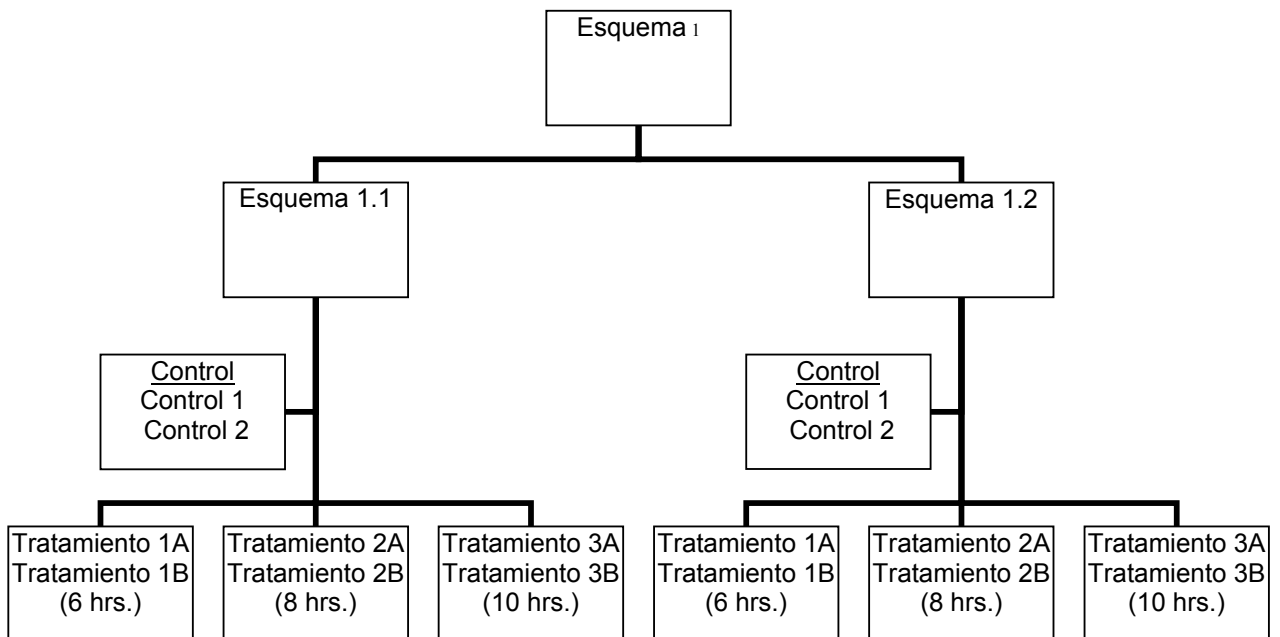


**Foto 4: Evaluación de la turbidez (se aprecia que es posible leer a través de la columna de agua).**

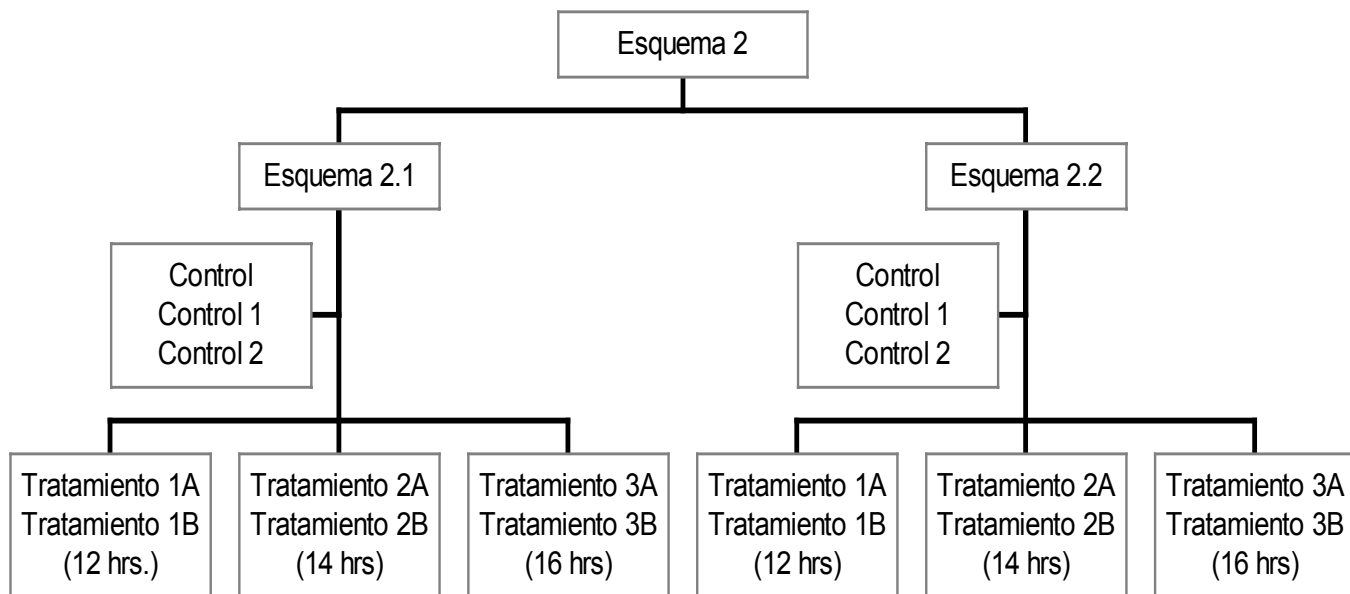
## Solarización

Se procedió con la evaluación de la técnica de desinfección solar, bajo condiciones meteorológicas de días despejados y dos esquemas de exposición solar según la duración del tratamiento, y se denominaron como esquema 1 y esquema 2.

El esquema 1 incluye doce muestras tratamiento y 4 muestras control, divididas en 2 subesquemas (2 muestras control cada subesquema), esquema 1.1 y 1.2 cada uno de tres grupos pares de muestras, que corresponden a 6, 8 y 10 hrs. de exposición solar. Se denominaron como tratamiento 1A, 1B, tratamiento 2A, 2B, tratamiento 3A y 3B respectivamente por cada subesquema. El esquema 2 también consta de 4 muestras control y 2 subesquemas divididos de igual forma, tanto las muestras control como las muestras tratamiento, es decir: esquema 2.1 y 2.2 cada uno de tres grupos pares de muestras y se denominaron como tratamiento 1A, 1B, tratamiento 2A, 2B, tratamiento 3A y 3B respectivamente, pero con exposiciones de 12, 14 y 16 hrs. de radiación solar para cada tratamiento. y 2 muestras control cada subesquema (fig. 1 y 2)



**Figura 1: Esquema 1 de muestreo**



**Figura 2: Esquema 2 de tratamiento**

Se llenaron de manera simultánea sólo hasta la mitad 6 envases, que corresponden a las muestras tratamiento. A cada muestra tratamiento se le realizó un agitado sugerido por la literatura, durante 20 segundos, para lograr una adecuada oxigenación. Finalmente se llenaron, completamente cada uno de los envases en un mismo punto del canal en cuestión. Dos envases se denominaron control y fueron obtenidos en el mismo punto que las muestras tratamiento. Sin embargo, fueron llenados en su totalidad, sin el proceso de agitado y remitidos de inmediato al Laboratorio de Microbiología, de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Católica de Temuco. Para esto se tomaron las muestras en bolsas estériles proporcionadas por el mismo laboratorio, para ser sometidos a la prueba de tubos múltiples para establecer la existencia de contaminación fecal pretratamiento. Cuando cada grupo terminó su periodo de tratamiento fue enviado al laboratorio para ser sometidos al aislamiento e identificación de coliformes totales.

Posteriormente se procedió con la validación de la técnica de desinfección solar, bajo el esquema 2 que corresponde a una mayor exposición solar en horas. Las muestras fueron obtenidas de la misma manera descrita para el esquema 1: dos envases fueron

designados como grupos control pretratamiento y 6 envases agrupados en pares estuvieron expuestos a 12, 14 y 16 horas de tratamiento respectivamente.

### **Aislamiento e identificación de coliformes totales mediante técnica de NMP.**

La muestra se agitó con movimientos de arriba abajo para asegurar su homogeneidad. Este procedimiento se repitió antes de inocular cada serie de diluciones.

Se inocularon 5 tubos de Lauril Sulfato Triptosa concentración doble con 10 ml de la muestra y 10 tubos de caldo LST concentración simple, 5 con 1 ml de muestra y los 5 restantes con 0.1 ml de muestra. Estos se agitaron suavemente para mezcla con el medio de cultivo y se incubaron a 35°C por 24 a 48 hrs. La presencia de turbidez en la campana de Durham se registró como prueba positiva, cualquiera que sea la cantidad de gas producido. Ausencia de gas a las 48 hrs. se registró como prueba negativa para coliformes. El número de tubos positivos se registró para cada dilución.

### **Prueba confirmativa para coliformes totales.**

Se mezcló por agitación el tubo de la prueba presuntiva y se transfirió un inóculo mediante vertido de aproximadamente 1ml de caldo LST a tubos de fermentación con caldo Lactosado Bilis Verde Brillante (BVB). Estos tubos se incubaron a 35°C durante 24 a 48 hrs. y se observó la formación de gas. La turbidez y presencia de gas en la campana es confirmativo de Coliformes Totales. Se registró el número de tubos positivos por dilución. Se informó como NMP de Coliformes Totales por ml de muestra, mediante el uso de la tabla de NMP (ISP, 1999) (Foto 5)



**Foto 5: Tubo de Bilis Verde Brillante con reacción positiva. Se observan burbujas de gas en las campanas de Durham.**

#### **Medición de la radiación y condiciones climáticas.**

Es importante mencionar que la información sobre las condiciones meteorológicas, durante el proceso experimental, fueron medidas por la Estación Meteorológica del Departamento de Ciencias Matemáticas y Física de la Facultad de Ciencias de la Universidad Católica de Temuco.

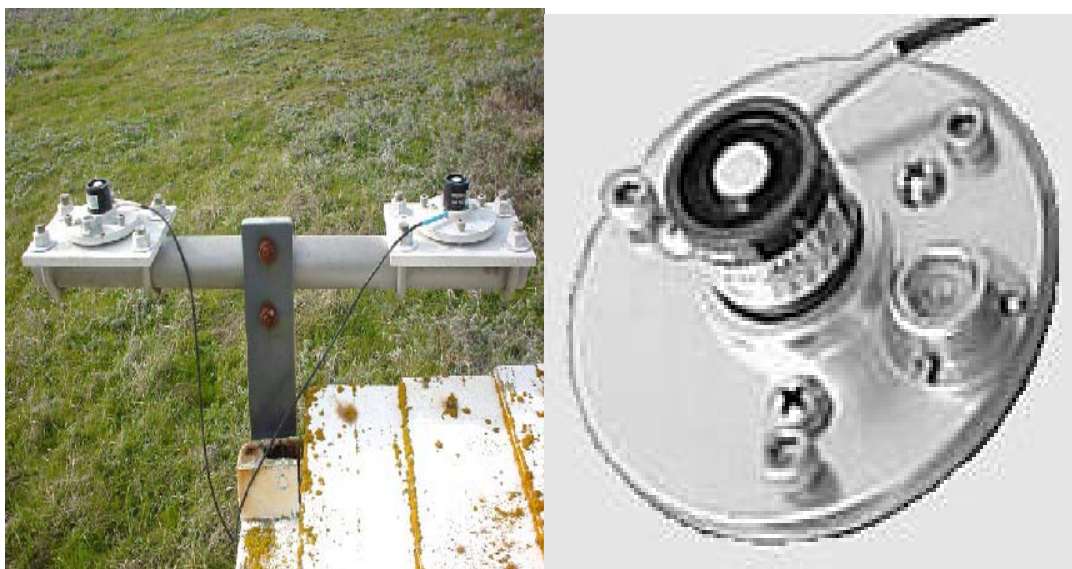
Además, a partir de esta misma fuente se obtuvo información sobre la radiación total integrada, parámetro que entrega información de radiación de longitud de onda que va desde los 400 hasta los 1100 nm. Este espectro incluye radiación ultravioleta del tipo UV-A y de la radiación infrarroja, ambas de vital importancia en el proceso de desinfección solar.

Las mediciones de radiación fueron realizadas por un sensor piranométrico marca LI-COR, modelo li200SA. Este aparato consta de un sensor con una celda fotovoltaica de silicio montada en una base con corrección del coseno. Esto implica una tecnología que

permite seguir midiendo radiación aun cuando el sol esta muy bajo es decir, al amanecer y atardecer.

El error de las mediciones es del rango del espectro solar completo y corresponde a un valor  $< \pm 5\%$ , con un error típico del  $\pm 3\%$ . La máquina posee un rango de sensibilidad de 0.4 a 1.1  $\mu$ .

El sensor esta conectado a un data logger el cual mide la irradiancia en Watt /m<sup>2</sup> a intervalos de 5 seg/hora del día para valores  $>$  a 0.5 Watt /m<sup>2</sup>. De estas lecturas el data logger registra el valor medio y el valor máximo en cada hora.<sup>2</sup>



**Foto 6: Sensor piranométrico licor li200sa**

---

<sup>2</sup> Mario Ramírez Profesor de Física Departamento de Ciencias Matemáticas y Físicas. Universidad Católica de Temuco.

## **Análisis estadístico.**

### Determinación del tamaño muestral.

El cálculo muestral está basado en la expresión

$$n \geq \frac{z^2 p(1-p)}{e^2}$$

Donde z corresponde a un valor aproximado de la curva normal asociado al nivel de confianza usualmente 0.95, así z aproximadamente es 1.96 la cual se considera 2.0,  $e$  es el máximo error permisible en este caso 0.05 y p es la prevalencia  $p= 0.99$  ( Sommer y col. ,1997).

. Realizando los correspondientes reemplazos se tiene que el tamaño de muestra mínimo es de aproximadamente 16 muestras.

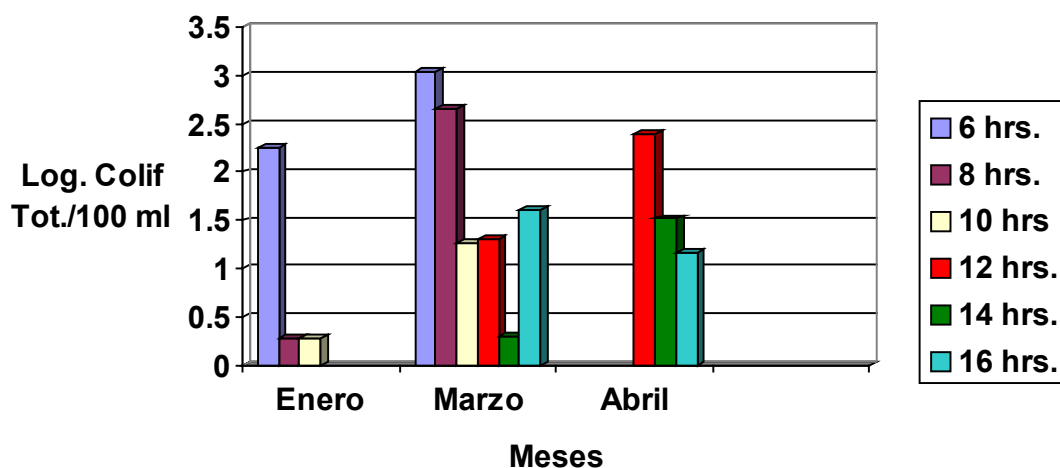
Las muestras son del tipo aleatorio sin reemplazo y la unidad muestral la constituye cada botella.

Para el procesamiento estadístico de las muestras se utilizó el método de Kruscall Wallis, que corresponde un anova no paramétrico.

Las muestras fueron recolectadas en envases plásticos del tipo PET, provenientes de botellas de desecho de bebidas de fantasía de dos litros de capacidad.

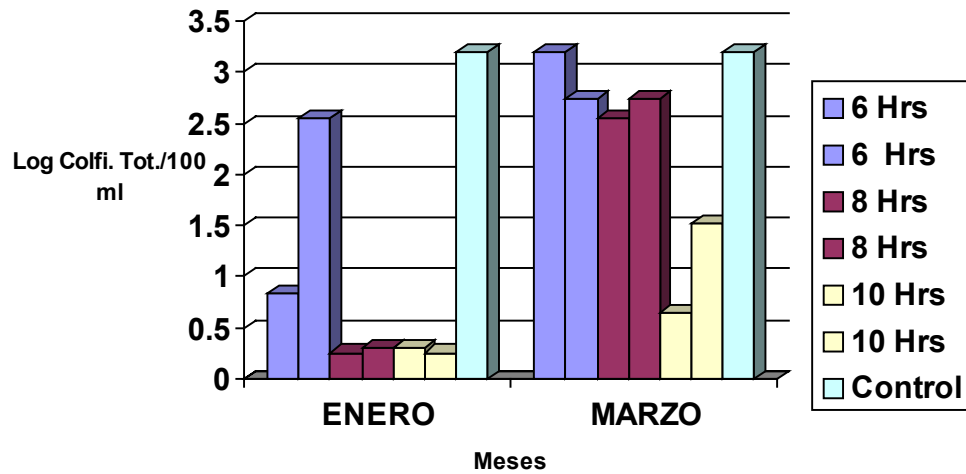
## RESULTADOS

Estos están expresados para los dos esquemas de tratamiento y serán presentados como logaritmos de los promedios de Número Más Probable de Coliformes Totales por 100 ml en cada tratamiento para cada esquema. Cada esquema tuvo una repetición y por lo tanto se le denominó esquema 1.1 y 1.2 lo mismo para el esquema 2 (esquema 2.1 y 2.2)



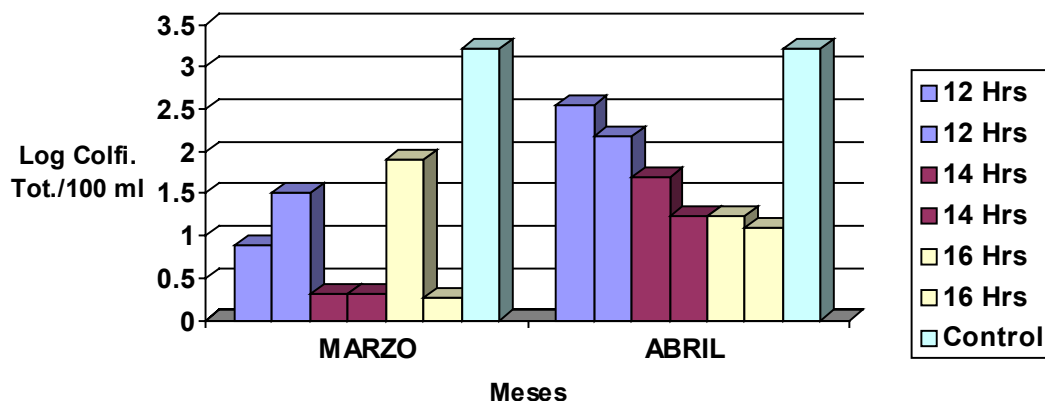
**Figura 3: Logaritmos Promedios de Coliformes Totales en agua sometida a Solarización durante Enero y Abril del 2004.**

En la Figura 3, se muestran gráficamente los promedios alcanzados por los Recuentos de Coliformes Totales en agua durante los meses que duró el estudio. Allí se puede apreciar una marcada elevación de los recuentos de coliformes durante Marzo, para las muestras tratadas durante 6, 8 y 10 hrs. en comparación con los obtenidos en Enero sometidos a los mismos tiempos de exposición. Situación similar que se aprecia para las muestras tratadas durante 12, 14 y 16 h en Marzo y Abril en comparación con las muestras solarizadas en los primeros muestreos de Enero.



**Figura 4: Promedio de Coliformes Totales para el Esquema 1 de tratamiento solar durante los meses de Enero y Marzo de 2004**

En esta Figura se aprecian los resultados obtenidos en el esquema 1 de tratamiento ( 6, 8 y 10 hrs.) para los muestreos realizados entre Enero y Marzo del 2004 además, figuran los recuentos de las muestras controles (ambas de 1600 colif.tot./100ml). Se aprecia que en Enero y con una solarización de 10 hrs. se obtuvo la mayor reducción en los recuentos 1.8 colif.tot./100ml (0.255 log. Colif. Tot./100ml) este valor corresponde al mínimo proporcionado por la sensibilidad del test, en tanto la mínima reducción en este mismo mes fue de 350 colif.tot./100ml (2.544 log. Colif. Tot./100ml) con 6 h de tratamiento. En Marzo la máxima reducción alcanzada fue de 4.5 colif.tot./100ml ( 0.6532 log. Colif. Tot./100ml) con 10 hrs. de solarización y la mínima fue de 540 colif.tot./100ml (2.732 log. Colif. Tot./100ml) con 6 h de exposición solar. El muestreo que obtuvo el valor más alto 1600 colif.tot./100ml (3.204 log. Colif. Tot./100ml) no registró reducción y por lo tanto no cuenta como tal.



**Figura 5: Promedio de Coliformes Totales para el Esquema 2 de tratamiento solar durante los meses de Marzo Y Abril de 2004.**

En la Figura 5 se presentan los resultados para los recuentos de Coliformes Totales de los muestreos realizados entre Marzo y Abril del 2004 sometidos a 12, 14 y 16 hrs. de solarización. La máxima reducción obtenida en los muestreos de Marzo fue de 1.8 colif.tot./100ml ( 0.255 log. Colif. Tot./100ml) con 16 h de solarización, en tanto que la mínima fue de 81 colif.tot./100ml (1.908 log. Colif. Tot./100ml) con 16 hrs. también. La máxima reducción obtenida durante Abril fue de 12.5 colif.tot./100ml (1.096 log. Colif. Tot./100ml) con 16 h de solarización. La mínima fue de 350 colif.tot./100ml (2.544log. Colif. Tot./100ml) con 12 hrs.

**Cuadro 1: Promedios de Recuentos de Coliformes Totales en agua sometida a desinfección solar para ambos esquemas de tratamiento.**

Tiempo	Col. Totales/ 100mL	Tiempo	Col. Totales/ 100mL
	Esquema 1		Esquema 2
6 hrs.	6.8	12 hrs.	7.8
6 hrs.	350	12 hrs.	33
6 hrs.	1600	12 hrs.	350
6 hrs.	540	12 hrs.	149.5
8 hrs.	1.8	14 hrs.	2
8 hrs.	2.0	14 hrs.	2
8 hrs.	350	14 hrs.	49
8 hrs.	540	14 hrs.	17
10 hrs.	2.0	16 hrs.	81
10 hrs.	1.8	16 hrs.	1.8
10 hrs.	4.5	16 hrs.	17
10 hrs.	33	16 hrs.	12.5
Promedio	285.99		60.21
Mínimo	1.8		1.8
Máximo	1600		350
Desv. Estándar	467.86509		100.992807

En el Cuadro 1 se presenta en las filas las reducciones de cada muestra para determinado tiempo de exposición solar. El promedio que figura al final de las columnas corresponde a la media aritmética del esquema en cuestión( 1 ó 2 según corresponda). También se presentan los valores mínimos, máximos alcanzados y la Desviación Estandar.

**Cuadro 2: Reducciones de las muestras sometidas a tratamiento a distintos tiempos (hrs.) expresadas en número más probable de colf/100ml y su reducción porcentual asociada.**

<b>Carga inicial</b>	<b>Carga final</b>	<b>Reducción %</b>	<b>Tiempo</b>
1600	6.8	99.575	6
1600	350	78.125	6
1600	1600	0	6
1600	540	66.25	6
1600	1.8	99.8875	8
1600	2.0	99.875	8
1600	350	78.125	8
1600	540	66.25	8
1600	2.0	99.875	10
1600	1.8	99.8875	10
1600	4.5	99.71875	10
1600	33	97.9375	10
1600	7.8	99.5125	12
1600	33	97.9375	12
1600	350	78.125	12
1600	149.5	90.65625	12
1600	2.0	99.875	14
1600	2.0	99.875	14
1600	49	96.9375	14
1600	17	98.9375	14
1600	81	94.9375	16
1600	1.8	99.8875	16
1600	17	98.9375	16
1600	12.5	99.21875	16

En el Cuadro 2 se muestran las cargas iniciales que presentaron las muestras control, las cargas finales de cada muestra sometida a un determinado tiempo de exposición solar, y las reducciones porcentuales asociadas a estas. la mínima reducción porcentual fue de 0% y la máxima fue de 99.8875%.

Para resumir se puede afirmar que, como promedios en los Recuentos de Colifomes Totales en el agua sometida a tratamiento se obtuvieron 624.2, 223.45 y 10.35 Colifomes/ 100 mL para 6-8-10 hrs. de tratamiento respectivamente, para el esquema 1. En tanto que para el esquema 2 los Recuentos de Coliformes Totales

promedio fue de 135.075 Colifomes/ 100 mL para 12 hrs. 17.5 Colifomes/ 100 mL para 14 hrs. y 28.075 para 16 hrs. El recuento mínimo alcanzado fue de 1.8 Colifomes/ 100 mL para ambos esquemas de tratamiento. Los recuentos máximos alcanzados fueron de 1600 y 350 Colifomes/ 100 ml para el esquema 1 y 2 respectivamente.

## DISCUSION

A partir del análisis de los resultados observados para los tratamientos del esquema 1 y 2 es posible inferir que la metodología empleada no nos permitió lograr aptitud para el consumo humano de las muestras tratadas, considerando que la sensibilidad del método permite como mínimo obtener valores  $\leq 1.8$ , en circunstancias que la Norma Chilena exige un valor de 0 coliformes/100ml.

Un factor de importancia y que dificultó la toma de muestras fue la coordinación entre las condiciones climáticas con la factibilidad de procesamiento de las muestras.

Estadísticamente se puede afirmar que no existen diferencias significativas entre los tratamientos en cada uno de los esquemas, así como tampoco existen diferencias significativas entre la implementación de uno u otro esquema.

Sin embargo, es destacable el hecho de que en todos los muestreos la carga inicial de Coliformes Totales siempre fue mayor a 1600 coliformes totales por 100 ml (exceptuando sólo una muestra control) y, tal como lo avalan los resultados, las reducciones de cargas fueron importantes ya que la mínima reducción de coliformes fue de 540 coliformes totales por 100 ml. Esto, llevado a porcentaje, corresponde a una reducción de un 66.25% y la máxima fue de 1.8 coliformes totales/100 ml en porcentajes corresponde a una reducción de 99.8875%.

Resultados similares obtuvo Rosario (2003) en su trabajo realizado en Honduras bajo condiciones de 30% soleado con 7 horas de exposición y con una temperatura ambiental máxima de 23.5°C en el cual su reducción más alta en porcentaje fue de 100% y la más baja fue de 99.6%, haciendo la salvedad que sus mediciones las hizo en

Unidades Formadoras de Colonias(u.f.c). Encinas (2003) obtuvo un 100% de eficacia en la reducción de Coliformes Fecales en su investigación realizada en valle de Cochabamba en un rango de 3 a 6 horas de exposición, bajo condiciones de cielo despejado en la mayoría de los ensayos. Nuestras mediciones realizadas durante enero de 2004 fueron los que contaron con días absolutamente despejados y en estos las reducciones variaron entre un 78.125% y 99.8875%. En nuestro caso y como se mencionó anteriormente las mediciones fueron realizadas en Coliformes Totales por 100 ml y este test solo permite una sensibilidad máxima valores  $\leq 1.8$ , esto quiere decir que con este método de medición no es factible alcanzar reducciones porcentuales del 100%. Esto no excluye la probabilidad de que sean factibles reducciones de hasta la ausencia total de coliformes por 100 ml, pero debido a la sensibilidad del test estos valores no pueden ser detectados.

Además la determinación de Coliformes Totales en vez de Fecales puede incluir la presencia de organismos que están presentes de forma habitual en la naturaleza y no necesariamente indicarían una contaminación fecal ya sea de origen animal o humano, lo cual puede inducir a errores en la estimación del real origen de la contaminación del agua. En cambio los coliformes fecales son específicos para el crecimiento de *Escherichia coli* la cual es un excelente indicador de contaminación fecal<sup>3</sup>. Además E coli es una bacteria levemente más resistente a la radiación solar, en comparación con otros agentes patógenos tales como, *P. aeruginosa*, *S. flexneri*, *S. tiphy*, *S. enteritidis* por lo tanto puede ser usado como indicador en ensayos de luz solar y su efecto en bacterias entéricas Wegelin y col.(1994).

Sin embargo con la determinación de Coliformes Fecales mediante la técnica de tubos múltiples (número más probable) no es posible obtener valores iguales a 0 ( Shlegel 1997). Es por esto que se debe realizar de forma complementaria a la determinación del recuento por N.M.P una prueba de tipo

---

<sup>3</sup> Oriana Betancourt M. Cs

presencia/ausencia para determinar con una mayor certeza la ausencia total de *E. coli*, como indicador de contaminación fecal. La técnica de filtración de membrana permite obtener valores iguales a cero, sin embargo este método está diseñado solo para aguas cuyo origen es potable, ya que al aplicarlo en aguas muy contaminadas y con una alta carga de materia orgánica además de material en suspensión, inutilizaría el filtro<sup>4</sup>.

Otro punto importante a mencionar es que la novena región geográficamente se extiende entre 37° 35' y 39° 37' de latitud sur y desde los 70° 50' de longitud oeste hasta el Océano Pacífico. (Instituto Geográfico Militar 1999). La ciudad de Temuco se encuentra específicamente a 38.733 ° de latitud sur (Instituto Geográfico Militar 1999). Como antes se mencionó, el área geográfica ideal recomendada por el EAWAG/SANDEC se encuentra entre 15° y 35° de latitud Norte y Sur, ( Wegelin, y col. 1994 ), dato que fue considerado en el diseño del proyecto, pero uno de los objetivos de éste era la evaluación del sistema de desinfección solar fuera del área recomendada.

Aunque la desinfección ocurre por el efecto térmico, tanto como por el efecto de la radiación ya sea de manera separada o en conjunto, provocando un efecto sinérgico, según McGuigan y col. (1999) el efecto sinérgico de radiación y temperatura ocurriría sobre los 45°C, esto sumado a los resultados reportados por Lonnen y col. (2004) los cuales indican que con botellas expuestas a cero radiación mantenidas cubiertas con papel de aluminio con temperatura de 40°C durante 6 h, no se obtuvo ninguna reducción en las poblaciones de *E. coli*.

Esto nos llevaría a la conclusión que en nuestra experiencia las reducciones obtenidas ocurrieron más por la acción de la radiación que la de la temperatura, ya que

---

<sup>4</sup> Oriana Betancourt M. Cs

en nuestro caso la temperatura más alta alcanzada fue de 31°C. Retomando el párrafo anterior, los resultados nos indicarían que la restricción geográfica en nuestra zona estaría circunscrita a una menor temperatura (bajo los 45°C) la cual impediría alcanzar el efecto sinérgico más que a una menor dosis de radiación útil disponible.

Joyce y col. (1996), en experimentos realizados desde agosto a febrero de 1994 y 1995 respectivamente bajo condiciones climáticas que variaron desde completamente nublado a despejado y en los que tuvieron 3 temperaturas máximas (55, 45.6 y 36.3°C) en todos los muestreos existieron turbiedades de 200 UNT. Los resultados para las muestras sometidas a 55°C tuvieron una carga inicial de  $1 \times 10^6$  ufc/ml y luego de 6 h de tratamiento se lograron reducciones de  $1 \times 10^0$  y los mismos resultados se mantuvieron a las 12 y 25 hrs. de tratamiento. Con una temperatura de 45, 6°C y con cargas iniciales de  $3 \times 10^6$  luego de 6 h. obtuvieron concentraciones de  $1 \times 10^6$  los cuales se mantuvieron con 8 h. de tratamiento. Con 36,3°C y cargas iniciales de  $3 \times 10^6$  obtuvieron reducciones de  $2 \times 10^5$  a las 6 h. de tratamiento. En estos experimentos el organismo medido fue *Escherichia coli*.

Estos datos vienen a corroborar y a clarificar aún más cuáles son los rangos de temperatura en que opera la radiación infrarroja en su rol desinfectante en el proceso SODIS ya que en todas las muestras existía una turbiedad de 200 UNT lo cual indicaría que el proceso se llevó principalmente acaso por la temperatura alcanzada más que por efecto de la radiación debido a la alta cantidad de sólidos en suspensión siendo que las condiciones recomendadas para una correcta funcionalidad del método son de 30 UNT. Pese a esto, se lograron reducciones considerables en las concentraciones de u.f.c de *E. Coli*.

Con respecto al proceso de aeración y su rol mejorador en el método SODIS no es factible dilucidarlo con nuestra investigación ya que el objetivo de esta no incluía valorar

su utilidad. Con respecto, a este punto los hallazgos bibliográficos son poco claros ya que según Kehoe y col. (2001), en el cual buscaban mejorar la eficiencia del proceso de desinfección solar mediante la evaluación de los efectos de la agitación periódica, no obtuvo resultados positivos si no que estadísticamente no existían diferencias significativas entre las muestras sometidas al proceso de agitado vigoroso durante un minuto y aquellas muestras a las que sólo se las sometía a un suave giro de la botella SODIS. Esto contrasta con lo afirmado por Reed (1996), que en sus trabajos concluye que un agitado vigoroso favorecería la disponibilidad de oxígeno disuelto y con esto la presencia de formas altamente reactivas de oxígeno, las cuales favorecerían la inactivación de microorganismos en el proceso SODIS. Pero en nuestro caso, como previamente se enunció, todas las muestras fueron agitadas y quedaría pendiente para trabajos posteriores determinar si es que existiesen diferencias en la ejecución, del tratamiento con o sin el proceso de aireación.

En el caso de la única muestra post tratamiento que no arrojó ninguna reducción, puede haberse debido a que un fragmento de materia orgánica de gran tamaño, probablemente de origen fecal, fue incluida en la muestra y por lo tanto alterando los resultados<sup>5</sup>. Pese a esto, las evidencias dan pie a la idea de que las importantes reducciones obtenidas evidencian la factibilidad de lograr resultados satisfactorios en los que concierne a disminuciones de cargas bacterianas a niveles aceptables para consumo humano, incluso fuera del área ideal recomendada. Pero se hace necesario implementar modificaciones leves al diseño del sistema tales como una filtración pretratamiento, ya que si nos basamos en la premisa de que en nuestra zona geográfica no es factible alcanzar temperaturas de 45°C se hace necesario maximizar las probabilidades de obtener una buena radiación que vendría a ser el componente de mayor importancia en nuestra realidad climatológica.

---

<sup>5</sup> Oriana Betancourt M. Cs

Así lo corroboran los datos obtenidos por Solarte y col. (1996), ya que las observaciones de su trabajo sugieren que los resultados obtenidos con diferentes turbiedades indican, que con agua cruda (turbiedad alta) se necesitó casi el doble de la radiación que la necesaria con agua prefiltrada (turbiedad media). Infiriéndose así que las turbiedades altas (y los sólidos suspendidos) reducen la eficiencia de la SODIS.

## CONCLUSIONES

Con respecto a la demostración de la efectividad del proceso de desinfección solar bajo condiciones climáticas de días soleados a través del recuentos de Coliformes Totales entre Enero y Abril, se concluye que el método es una técnica que permite alcanzar grandes reducciones de agentes indicadores de contaminación fecal que pudiesen incluir organismos patógenos bacterianos. Los resultados obtenidos son prometedores y nos llevan a concluir que al introducir modificaciones que potencien los factores de mayor importancia en nuestra realidad, tales como la penetración de la radiación en la columna de agua, podrían lograrse reducciones a niveles aceptables para el consumo seguro del agua de bebida en zonas rurales dispersas y así contribuir a una mejora en la calidad de vida de las personas.

En lo que se refiere a la comparación del método a distintos tiempos tal como se mencionó en la discusión, estadísticamente no existen diferencias significativas entre los tratamientos en cada uno de los esquemas, ni tampoco en la implementación de uno u otro esquema. Debido a esto estadísticamente se puede concluir que con este trabajo no fue posible dilucidar el tiempo mínimo para una adecuada desinfección del agua

Por lo tanto se recomienda diseñar el experimento solo para condiciones de días despejados en época veraniega, época que coincide con un mayor consumo de agua, además es cuando se cuenta con la mayor cantidad de factores a favor del método los cuales son altas temperaturas, escasa nubosidades y altos índices de radiación.

También se puede afirmar que nuestros resultados nos permiten concluir que es recomendable en futuros trabajos realizar como mínimo una exposición de 12 h. y un

filtrado mediante el paso del agua a través de una tela tupida y/o decantación del agua pre tratamiento durante 24 h, aunque la muestra supere la prueba de la lectura de un trozo de papel a través del envase para así maximizar el efecto de la radiación disponible ya que no es posible alcanzar temperaturas superiores a 45°C.

Otra recomendación es la de seleccionar un punto de muestro con una carga de contaminación más realista ya que realmente la contaminación del curso de agua elegido para el presente trabajo fue extremo y las muestras fueron tomadas próximas de una descarga de agua servida y siempre excedieron la sensibilidad máxima del test de Coliformes Totales. Esto fue un punto bastante importante y de gran incidencia en nuestros resultados ya que según Wegelin y col. (1994). La carga inicial de contaminación fecal no debe ser mayor a 1000 colf/100 m para que la desinfección solar de agua pueda ser aplicada efectivamente.

Se define como más realista investigar un canal en el área rural dispersa a partir del cual personas obtengan agua para bebida.

También recomendamos la determinación de Coliformes Fecales en vez de Totales por los argumentos previamente enunciados en la discusión.

Es importante mencionar que la disparidad entre los resultados obtenidos se debe probablemente al número muestral, el cual debe ser recalculado tomando como base las reducciones (prevalencias) obtenidas en este estudio.

También es importante mencionar que este estudio no persigue la implementación del método SODIS como un sustituto al abastecimiento de agua potable proveniente de redes de distribución pública, si no que como una herramienta de alta utilidad en aquellos

lugares o casos en los cuales el agua se obtiene de fuentes poco seguras y donde no existan o sea muy costoso implementar los métodos tradicionales.

Para recomendar esta técnica de manera segura como una alternativa a los tradicionales métodos de tratamientos de aguas de bebida, en los lugares en los cuales no es factible aplicar estos, se hace necesario realizar más estudios, de tal manera de lograr determinar el tiempo mínimo de exposición necesario para una adecuada desinfección del agua en condiciones de días despejados en la época estival. Y así dar pie a subsiguientes estudios para otras condiciones climáticas como la de días nublados. Sin olvidar que es indispensable utilizar una técnica que asegure una sensibilidad que arroje valores 0 de indicadores de contaminación fecal.

Debido a lo anterior, no se recomienda su uso para sectores rurales dispersos mientras no sean aclarados los tiempos mínimos que avalen una adecuada desinfección del agua de bebida.

Se hace evidente en los resultados obtenidos en el presente trabajo, que las mayores reducciones se lograron en los primeros y en los últimos muestreos. Esto podría significar que no necesariamente los mejores resultados se obtuvieron con mayores temperaturas sino que con mayores radiaciones acumuladas.

## BIBLIOGRAFÍA

CONROY, R. M., MEEGAN, M. E., JOYCE, T., MCGUIGAN, K., BARNES, J. 1999. Solar disinfection of water reduces diarrheal disease: an update. *Arch. Dis. Child.* 81:337–338

INSTITUTO NACIONAL DE NORMALIZACION. N.N 1994. Norma Chilena Calidad Del Agua. Instituto Nacional de Normalización Santiago.

REED, R.H. 1996. Sol-air water treatment. 22nd WEDC Conference: Discussion paper. New Delhi, India, 295-296.

REED, R.H. 1997. Sunshine and fresh air: A practical approach to combating water-borne disease. *Waterlines.* 4: 27-29.

WEGELIN, M. CANONICA, S., MECHSNER, T., FLEISCHMANN, F., PESARO, F., METZLER, A . 1994. Solar water disinfection: scope of the process and analysis of radiation experiments. *J Water SRTAqua*, 1994 N°. 3, 154-169. SODIS News No. 3, August 1994.

HOOPER, G. 1987. Chemical disinfection, in Lorch, W. *Handbook of water purification*. Second Edition. Ellis Horwood Series in Water and Wastewater Technology. Chichester, Inglaterra.

WEGELIN, M., SOMMER, B. 1998. Solar Water Disinfection (SODIS) - destined for worldwide use? *Waterlines.* 3:30-32.

SABBADINI, F. 1994. Evaluation of field tests carried out in Cali, Colombia. Internal Report, EAWAG Duebendorf/CINARA.

REED, R.H.. 1997. Solar inactivation of faecal bacteria in water: The critical role of oxygen. Appl Microbiol. 24: 276-80.

CANAVOS, C.G. .1988. Probabilidad y Estadística Aplicaciones y Métodos. Primera edición. Editorial Mc Graw- Hill/Internamericana de México. México.

PASCUAL, M.1992. Microbiología Alimentaria metodología analítica para alimentos y bebidas. Primera edición. Ediciones Diaz de Santos S.A.. Madrid España.

SOMMER, B. 1997. SODIS-an emerging water treatment process. J Water SRT-Aqua. 3: 127-137.

ACRA, A.1998, Internal report. Water Disinfection by Solar Radiation - Assessment and Application. Technical Study 66e IDRC SODIS News. 3: 5

MARIÑO, A., WEGELIN, M. 1995. Solar Water Disinfection: Evaluation of the Field Tests Carried Out in Khon Kaen, Thailand. Internal Monitoring Report Part I.

ARISTANTI, CH., WEGELIN, M. 1998. Solar Water Disinfection. Water Treatment With Solar Energy.. Internal Report.

LAWANDA, T. A..1994 Use of solar radiation for water disinfection. Quebec, Canadá. Brace Research Institute.1994 .

SMITH, J.E. (1991) *Upgrading existing or designing new drinking water treatment facilities*. Pollution Technology Review No. 198. New Jersey, U.S.A. Noyes Data Corporation. 1991.

MINISTERIO DE OBRAS PUBLICAS. DIRECCION DE OBRAS HIDRAULICAS. 1997. Plan Maestro de Evacuación y Drenaje de Aguas Lluvias de la ciudad de Temuco y Padre las Casas.

BYE, R., LINARES, E. 1999. Medicinal plant diversity of México and its potential for animal health sciences. In: T. P. Lyons and K. A. Jaques (eds.). *Biotechnology in the feed industry*. Proceedings of Alltech's Fifteenth Annual Symposium. pp 265-294.

ACRA, A., RAFFOUL, Z., KARAHAGOPIAN, Y. 1984. *Solar Disinfection of Drinking Water and Oral Rehydration Solutions. Guidelines for Household Application in Developing Countries*. Published for UNICEF by Illustrated Publications S.A.L, Beirut, Lebanon.

MARQUEZ, L. 2003. *Desinfección Solar* Instituto Mexicano de Tecnología del Agua. México.

PFAMMATTER, R., WEGELIN, M. 1993. *Solar Water Disinfection: Evaluation of Field Tests* carried out in Cali, Colombia (16.8.-23.9.93). Internal Monitoring Report.

INSTITUTO NACIONAL DE ESTADISTICAS. I.N.E. 2002. *Resultados Generales Censo 2002. Cuadro 10.5: Viviendas particulares ocupadas y personas, por tipo de vivienda, según división político administrativa, área urbana-rural, disponibilidad de alumbrado eléctrico y de agua por cañería.*

WORLD HEALTH ORGANISATION ( W.H.O.). 1979. Environmental health criteria 14: Ultraviolet radiation. WHO, Geneva, Switzerland. 110pp.

SOLARTE, Y. 1996. Uso de la radiación solar (UV-A y temperatura) en la inactivación del *Vibrio cholerae* en agua para consumo humano. Factores que condicionan la eficiencia del proceso.

ENCINAS, J. 2003. Eficiencia de SODIS sobre Coliformes Fecales, bajo distintas condiciones climáticas de Bolivia Tesista Centro de Aguas y Saneamiento Ambiental, UMSS Cochabamba, Bolivia Boletín N° 7 Fundación Sodis

TORRES, X. 2003. Talleres de difusión SODIS realizados en Centroamérica. Coordinadora Fundación SODIS Centro América. Boletín N° 6 Fundación Sodis

WEGELIN, M., CANONICA, S., ALDER, A., MARAZUELA, D., SUTER, M., BUCHELI, T., HAEFLIGER, , ZENOBI, R., MCGUIGAN, K., KELLY, M., IBRAHIM, P., LARROQUE, M. 2001. Does sunlight change the material and content of polyethylene terephthalate (PET) bottles? *Journal of Water Supply: Research and Technology-Aqua*. 50:3.

LONNEN, J., KILVINGTON, S., KEHOE, S., TOUATI, F., MCGUIGAN, K. 2004. *Water Research* WR2136 Solar and photocatalytic disinfection of protozoan, fungal and bacterial microbes in drinking water.

JOYCE, T., MCGUIGAN, K. ELMORE-MEEGAN, M., CONROY R.. 1996. Inactivation of Fecal Bacteria in Drinking Water by Solar Heating Applied and environmental microbiology. 62,( 2): 399–402

SCHLEGEL, H.1997. Microbiología general. Omega. España. Barcelona

INSTITUTO GEOGRÁFICO MILITAR.2002. Atlas Geográfico para la Educación/Instituto  
Geográfico Militar. Chile. Santiago.

## ANEXO 1

Tabla 1.

VOLUMEN DE LA MUESTRA, ml	CONCENTRACION DEL CALDO LAURIL TRIPTOSA O CALDO LACTOSADO	NUMERO DE TUBOS INOCULADOS
10	Doble	5
1	Simple	5
0.1*	Simple	5

(\*)diluir 1 ml de muestra en 9 ml de agua tamponada para dilución, e inocular 1 ml de esta dilución.

## ANEXO 2

### Tinción de Gram

Limpia una lamina portaobjeto, coloca sobre ella una gota de agua destilada y una pequeña cantidad de inculo, esparcir sobre la lamina y fijar a la llama de un mechero. Dejar enfriar y cubrir la lamina con gotas de solución de cristal violeta durante 1 minuto, eliminar el exceso de colorante enjuagando con agua destilada. Agregar solución de lugol y dejar durante 1 minuto, decolorar rápidamente con solución de alcohol-acetona agregar solución de fucsina o solución de safranina y dejar durante 30 segundos.

Lavar la lamina con agua destilada, secar y observar al microscopio utilizando objetivo de inmersión (100x) las bacterias coliformes se presentan como bacilos Gram-negativos de color rosado.

### ANEXO 3

Tratamiento de las muestras para días soleados.

**LAVADO DE LOS ENVASES**



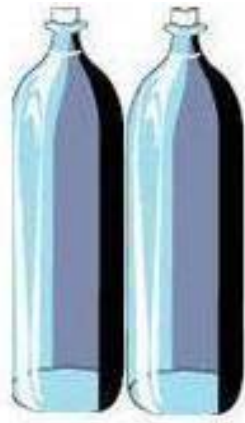
**LLENADO  
HASTA LA  
MITAD DE LOS  
ENVASES.**



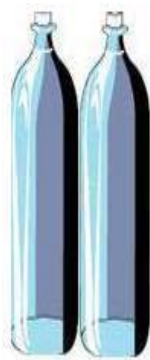
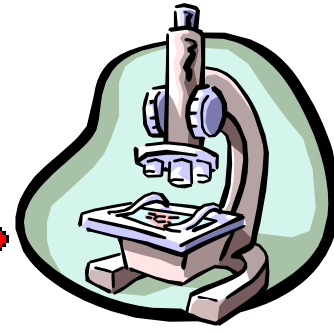
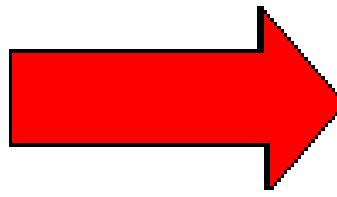
**AGITADO DURANTE 20  
SEGUNDOS**



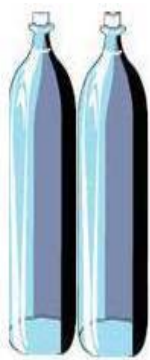
**LLENADO TOTAL DEL  
ENVASE**



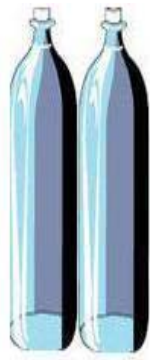
**Grupo Control.**



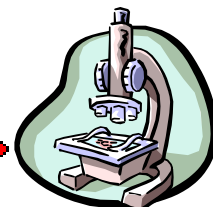
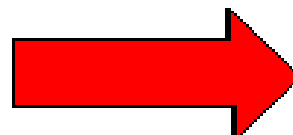
**6 Hrs.**



**8 Hrs.**



**10 Hrs.**



## ANEXO 4

**Tablas para el cálculo del Número más Probable.** (Tabla 2, 3 y 4)

Numero más probable (NMP) de bacterias por 100 ml, sembrando la combinación de:

- A) 5 tubos con 10 ml, 1 tubo con 1 ml y 1 tubo con 0,1 ml y
- B) 5 tubos con 10 ml, 5 tubo con 1 ml y 5 tubo con 0,1 ml

Tabla 2

NUMERO DE TUBOS POSITIVOS	NUMERO MAS PROBABLE EN SIEMBRA DE:		NUMERO DE TUBOS POSITIVOS	NUMERO MAS PROBABLE EN SIEMBRA DE:		NUMERO DE TUBOS POSITIVOS	NUMERO MAS PROBABLE EN SIEMBRA DE:	
	5-10 1- 1 1-0.1	5- 10 5- 1 5-0.1		5-10 1- 1 1-0.1	5- 10 5- 1 5-0.1		5-10 1- 1 1-0.1	5- 10 5- 1 5-0.1
0 0 0	.....	.....	0 3 4	.....	13	1 1 0	4.4	4.0
0 0 1	2.0	1.8	0 3 5	.....	15	1 1 1	6.7	6.1
0 0 2	.....	3.6						
0 0 3	.....	5.4	0 4 0	.....	7.5	1 1 2	.....	8.1
0 0 4	.....	7.2	0 4 1	.....	9.4	1 1 3	.....	10
0 0 5	.....	9.0	0 4 2	.....	11	1 1 4	.....	12
			0 4 3	.....	13	1 1 5	.....	14
0 1 0	2.0	1.8	0 4 4	.....	15			
0 1 1	4.0	3.6	0 4 5	.....	17	1 2 0	.....	6.1
0 1 2	.....	5.5				1 2 1	.....	8.2
0 1 3	.....	7.3	0 5 0	.....	9.4	1 2 2	.....	10
0 1 4	.....	9.1	0 5 1	.....	11	1 2 3	.....	12
0 1 5	.....	11	0 5 2	.....	13	1 2 4	.....	15
			0 5 3	.....	15	1 2 5	.....	17
0 2 0	.....	3.7	0 5 4	.....	17			
0 2 1	.....	5.5	0 5 5	.....	19	1 3 0	.....	8.3
0 2 2	.....	7.4				1 3 1	.....	10
0 2 3	.....	9.2	1 0 0	2.2	2.0	1 3 2	.....	13
0 2 4	.....	11	1 0 1	4.4	4.0	1 3 3	.....	15
0 2 5	.....	13	1 0 3	.....	6.0	1 3 4	.....	17
			1 0 3	.....	8.0	1 3 5	.....	19
0 3 0	.....	5.6	1 0 4	.....	10			
0 3 1	.....	7.4	1 0 5	.....	12	1 4 0	.....	11
0 3 2	.....	9.3				1 4 1	.....	13
0 3 3	.....	11				1 4 2	.....	15
						1 4 3	.....	17
						1 4 4	.....	19
						1 4 5	.....	22

Tabla 3

NUMERO DE TUBOS POSITIVOS	NUMERO PROBABLE SIEMBRA DE:	MAS EN	NUMERO DE TUBOS POSITIVOS	NUMERO PROBABLE SIEMBRA DE:	MAS EN	NUMERO DE TUBOS POSITIVOS	NUMERO PROBABLE SIEMBRA DE:	MAS EN
10 1 0.1 ml	5-10 1- 1 1- 0.1	5- 10 5- 1 5 - 0.1	10 1 0.1 MI	5-10 1- 1 1- 0.1	5- 10 5- 1 5- 0.1	10 1 0.1 ml	5-10 1- 1 1- 0.1	5- 10 5- 1 5- 0.1
1 5 0	.....	13	2 3 0	.....	12	3 1 0	12	11
1 5 1	2.0	15	2 3 1	.....	14	3 1 1	16	14
1 5 2	.....	17	2 3 2	.....	17	3 1 2	.....	17
1 5 3	.....	19	2 3 3	.....	20	3 1 3	.....	20
1 5 4	.....	22	2 3 4	.....	22	3 1 4	.....	23
1 5 5	.....	24	2 3 5	.....	25	3 1 5	.....	27
2 0 0	.....	4.5	2 4 0	.....	15	3 2 0	.....	14
2 0 1	5.0	6.8	2 4 1	.....	17	3 2 1	.....	17
2 0 2	7.5	9.1	2 4 2	.....	20	3 2 2	.....	20
2 0 3	.....	12	2 4 3	.....	23	3 2 3	.....	24
2 0 4	.....	14	2 4 4	.....	25	3 2 4	.....	27
2 0 5	.....	16	2 4 5	.....	28	3 2 5	.....	31
2 1 0	.....	6.8	2 5 0	.....	17	3 3 0	.....	17
2 1 1	7.6	9.2	2 5 1	.....	20	3 3 1	.....	21
2 1 2	10	12	2 5 2	.....	23	3 3 2	.....	24
2 1 3	.....	14	2 5 3	.....	26	3 3 3	.....	28
2 1 4	.....	17	2 5 4	.....	29	3 3 4	.....	31
2 1 5	.....	19	2 5 5	.....	32	3 3 5	.....	35
2 2 0	.....	9.3	3 0 0	8.8	7.8	3 4 0	.....	21
2 2 1	.....	12	3 0 1	12	11	3 4 1	.....	24
2 2 2	.....	14	3 0 2	.....	13	3 4 2	.....	28
2 2 3	.....	17	3 0 3	.....	16	3 4 3	.....	32
2 2 4	.....	19	3 0 4	.....	20	3 4 4	.....	36
2 2 5	.....	22	3 0 5	.....	23	3 4 5	.....	40

Tabla 4

NUMERO DE TUBOS POSITIVOS	NUMERO PROBABLE SIEMBRA DE:	MAS EN	NUMERO DE TUBOS POSITIVOS	NUMERO PROBABLE SIEMBRA DE:	MAS EN	NUMERO DE TUBOS POSITIVOS	NUMERO PROBABLE SIEMBRA DE:	MAS EN
10 1 0.1 ml	5-10 1- 1 1- 0.1	5- 10 5- 1 5- 0.1	10 1 0.1 MI	5-10 1- 1 1- 0.1	5- 10 5- 1 5- 0.1	10 1 0.1 ml	5-10 1- 1 1- 0.1	5- 10 5- 1 5- 0.1
3 5 0	.....	25	4 3 0	.....	12	5 1 4	.....	110
3 5 1	.....	29	4 3 1	.....	14	5 1 5	.....	130
3 5 2	.....	32	4 3 2	.....	17			
3 5 3	.....	37	4 3 3	.....	20	5 2 0	.....	49
3 5 4	.....	41	4 3 4	.....	22	5 2 1	.....	70
3 5 5	.....	45	4 3 5	.....	25	5 2 2	.....	95
						5 2 3	.....	120
4 0 0	15	13	4 4 0	.....	15	5 2 4	.....	150
4 0 1	20	17	4 4 1	.....	17	5 2 5	.....	180
4 0 2	.....	21	4 4 2	.....	20			
4 0 3	.....	25	4 4 3	.....	23	5 3 0	.....	79
4 0 4	.....	30	4 4 4	.....	25	5 3 1	.....	110
4 0 5	.....	36	4 4 5	.....	28	5 3 2	.....	140
						5 3 3	.....	180
4 1 0	21	17	4 5 0	.....	17	5 3 4	.....	210
4 1 1	27	21	4 5 1	.....	20	5 3 5	.....	250
4 1 2	.....	26	4 5 2	.....	23			
4 1 3	.....	31	4 5 3	.....	26	5 4 0	.....	130
4 1 4	.....	36	4 5 4	.....	29	5 4 1	.....	170
4 1 5	.....	42	4 5 5	.....	32	5 4 2	.....	220
						5 4 3	.....	280
4 2 0	.....	22	5 0 0	38	7.8	5 4 4	.....	350
4 2 1	.....	26	5 0 1	96	11	5 4 5	.....	430
4 2 2	.....	32	5 0 2	.....	13			
4 2 3	.....	38	5 0 3	.....	16	5 5 0	.....	240
4 2 4	.....	44	5 0 4	.....	20	5 5 1	.....	350
4 2 5	.....	50	5 0 5	.....	23	5 5 2	.....	540
						5 5 3	.....	920
4 3 0	.....	27	5 1 0	240		5 5 4	.....	1600
4 3 1	.....	33	5 1 1	.....				
			5 1 2	.....				
			5 1 3	.....				

