

Fenómenos de dilución y autodepuración de un vertido de aguas residuales urbanas en un ecosistema litoral: El caso del estuario del Río Iro (suroeste de España)

Dilution and autodepuration processes in a coastal system affected by urban wastewater discharges: Case study of the Iro River estuary (southwestern Spain)

A. Acevedo-Merino*
C. Garrido-Pérez
E. Nebot-Sanz
D. Sales-Márquez

Facultad de Ciencias del Mar y Ambientales
Centro Andaluz Superior de Estudios Marinos (CASEM)
Universidad de Cádiz
Pol. Río San Pedro, s/n
11510, Puerto Real, Cádiz, España
* E-mail: asuncion.acevedo@uca.es

Recibido en junio de 2003; aceptado en octubre de 2003

Resumen

En este artículo se estudian e identifican los procesos de dilución y autodepuración que ocurren en un estuario de gran influencia mareal afectado por el vertido de una estación de tratamiento de aguas residuales urbanas. Para ello se han realizado tres estudios en diferentes estaciones climatológicas, cada uno de los cuales contó con dos experiencias realizadas en paralelo: caracterización del estuario y ensayos de microcosmos. En ambas experiencias se ha estudiado el comportamiento de diversos parámetros físicoquímicos y microbiológicos. Del estudio microbiológico se han obtenido valores T_{90} para los grupos bacterianos de coliformes fecales (CF) y estreptococos fecales (EF). En el estuario, el proceso de dilución fue identificado como el proceso de reducción de microorganismos más importante obteniéndose T_{90} de 12.2–40.8 y 11.7–53.5 minutos para CF y EF, respectivamente. En los microcosmos, los procesos de autodepuración por efecto de la salinidad fueron los de mayor importancia obteniéndose T_{90} de 3.1–42.6 y 4.6–54.8 horas para CF y EF, respectivamente. El grupo de CF fue identificado como el más sensible ante los procesos de autodepuración, siendo EF el más resistente a las condiciones adversas del medio acuático.

Palabras clave: estuario, patógenos, nutrientes, autodepuración, T_{90} .

Abstract

Dilution and autodepuration processes in an estuary of strong tidal regimen affected by sewage from a wastewater treatment plant have been studied and identified. To differentiate between both processes, three evaluations were made during different seasons. Two tests were developed in parallel during each evaluation: characterization of the estuary and microcosm trials. In both tests, the evolution of diverse microbiological and physicochemical parameters were examined. From the microbiological results, T_{90} for the faecal coliform (FC) and faecal streptococci (FS) bacterial groups were obtained. In the estuary, dilution was identified as the most important microorganism reduction process, with T_{90} of 12.2–40.8 and 11.7–53.5 minutes for FC and FS, respectively. In the microcosm trials, salinity was the main autodepuration factor, with T_{90} of 3.1–42.6 and 4.6–54.8 hours for FC and FS, respectively. The FC group proved to be the most sensitive bacteria to autodepuration processes and FS the most adaptable to the adverse conditions of the aquatic environment.

Key words: estuary, nutrients, pathogens, autodepuration, T_{90} .

Introducción

En la actualidad, la contaminación de las aguas costeras por aguas residuales urbanas es un problema ambiental primordial de ámbito mundial (NRC, 1993; Steets y Holden, 2003). En la Unión Europea, la Directiva 91/271/CEE (DOCE, 1991) establece las obligaciones y directrices que deben seguir los

Introduction

Contamination of coastal waters by sewage is a serious environmental problem worldwide (NRC, 1993; Steets and Holden, 2003). In the European Union, Directive 91/271/EEC (DOCE, 1991) establishes the obligations and guidelines that Member States must adhere to in relation to the collection,

Estados Miembros respecto a la depuración de las aguas residuales urbanas, los parámetros fisicoquímicos de control de la depuración y las concentraciones permitidas de éstos en el vertido a cualquier medio acuático receptor. Esta normativa establece limitaciones en las medidas tradicionales de materia orgánica (DBO y DQO) y el contenido de sólidos en suspensión, y en caso de que los vertidos se realicen a cuerpos de agua con riesgo de eutrofización se deben controlar además el contenido de nitrógeno y fósforo. Otros contaminantes importantes, tales como los contaminantes biológicos, quedan fuera del control administrativo. Los vertidos de aguas residuales urbanas contienen un gran número de patógenos que pueden comprometer usos tan importantes de las aguas receptoras como, por ejemplo, para el desarrollo de la vida acuática y las actividades recreativas.

Cuando se produce un vertido en un medio acuático se produce una rápida reducción en la concentración de microorganismos y otros contaminantes, que aumenta a medida que nos alejamos del foco del vertido. Esta disminución puede ser debida a dos causas fundamentales: dilución por procesos de mezcla y autodepuración del medio receptor. Para el caso de microorganismos la autodepuración se debe principalmente a los factores: salinidad, radiación solar, temperatura, variaciones del pH, presencia de sustancias tóxicas, competencia de nutrientes y depredación (McFeters y Stuart, 1972; Mitchell y Chamberlin, 1974; Ayres, 1977; Anderson *et al.*, 1979; Fujioka *et al.*, 1981; McCambridge y McMeekin, 1981; Scheuerman *et al.*, 1988; El-Sharkawi *et al.*, 1989; Solic y Krstulovic, 1992; Alkan *et al.*, 1995; Gabutti *et al.*, 2000; Yang *et al.*, 2000). Con relación a los contaminantes fisicoquímicos, la autodepuración se debe a procesos como precipitación, transformación de unos compuestos en otros, adsorción sobre partículas, etc.

En el presente artículo se muestran los resultados obtenidos a partir de una serie de experiencias de campo y de laboratorio realizadas en diferentes épocas del año y diseñadas con el objeto de diferenciar los procesos de eliminación de microorganismos por dilución y por autodepuración en un medio receptor costero afectado por un vertido de aguas residuales urbanas. Para ello se han seleccionado como indicadores de contaminación fecal los grupos de coliformes fecales (CF) y estreptococos fecales (EF). Ambos grupos han sido incluidos tradicionalmente en diferentes normativas para el control de la calidad de aguas receptoras de vertidos y estudios de sostenibilidad de diferentes usos del agua.

Material y métodos

Este estudio se ha realizado en un ambiente costero de marismas situado en el suroeste de la Península Ibérica. El sistema está formado por una red de pequeños caños cada uno de los cuales desemboca en un canal central denominado caño Sancti-Petri (fig. 1). La zona de estudio se localiza concretamente en el estuario del Río Iro. Éste es un río de carácter estacional con un caudal de agua insignificante exceptuando en

treatment and discharge of urban wastewater into any aquatic environment. This norm sets limits to the traditional measurements of organic matter (BOD and COD) and levels of suspended solids, and in the case of discharges into water bodies with high risk of eutrophication, nitrogen and phosphorus contents must also be controlled. Other important pollutants like biological contaminants are outside the management control. Urban wastewater discharges contain a large number of pathogens that can compromise important uses of receiving waters, such as for the development of aquatic life and recreational activities.

When wastewater is discharged into an aquatic environment, there is a rapid reduction in the concentration of microorganisms and other pollutants, which increases as the distance from the source increases. This decrease can be due to two basic causes: dilution by mixing processes and autodepuration of the receiving environment. In the case of microorganisms, autodepuration is mainly associated with salinity, solar radiation, temperature, pH variations, presence of toxic substances, competition for nutrients and depredation (McFeters and Stuart, 1972; Mitchell and Chamberlin, 1974; Ayres, 1977; Anderson *et al.*, 1979; Fujioka *et al.*, 1981; McCambridge and McMeekin, 1981; Scheuerman *et al.*, 1988; El-Sharkawi *et al.*, 1989; Solic and Krstulovic, 1992; Alkan *et al.*, 1995; Gabutti *et al.*, 2000; Yang *et al.*, 2000). In the case of physicochemical pollutants, autodepuration is the result of processes such as precipitation, transformation of some compounds into others, adsorption on particles, etc.

In this work we present the results obtained from a series of field and laboratory tests conducted during different seasons and designed to differentiate the processes of microorganism elimination by dilution or autodepuration in a coastal environment affected by urban wastewater discharges. For this, faecal coliforms (FC) and faecal streptococci (FS) were selected as indicators of faecal contamination. Both bacterial groups have traditionally been included in different norms for the control of sewage-receiving waters and water use sustainability studies.

Materials and methods

This study was conducted in a coastal marsh environment located in the Iro River estuary, in southwestern Spain (fig. 1). The system consists of several small channels that flow into the main Sancti-Petri Channel. Iro River is seasonal, with insignificant water volume except during the months of heavy rainfall. For most of the year the river estuary behaves as an arm of the sea strongly conditioned by a semidiurnal tidal regimen. In this situation, the water column reaches a mean height of approximately 1.5–2 m at high tide, whereas at low tide, water level is less than 20 cm in the middle of the channel. The head of the estuary receives the wastewater discharged by the treatment plant of the town Chiclana (100,000 inhabitants). The wastewater discharged is diluted throughout the 4.5-km-long estuary; however, the dilution processes are very limited because of the morphology and tidal regimen of the area.

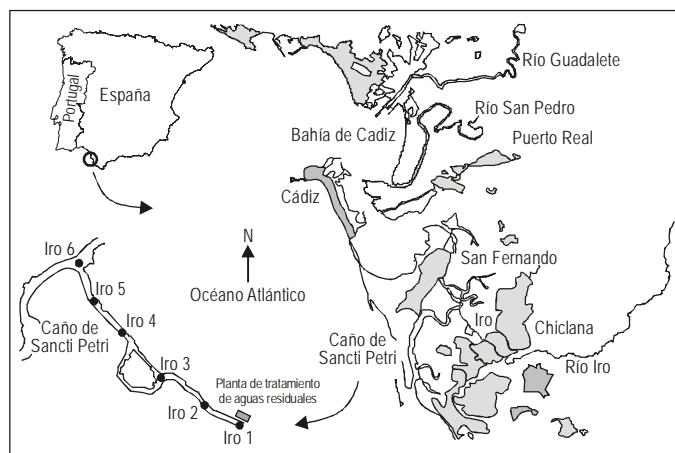


Figura 1. Mapa de la zona de estudio y localización de las estaciones de muestreo.

Figure 1. Map of the study area and location of the sampling stations.

los meses de fuertes precipitaciones. Durante gran parte del año, el estuario del río se comporta como un brazo de mar fuertemente condicionado por la onda de marea de régimen semidiurno. En esta situación la columna de agua alcanza una altura media en pleamar de aproximadamente 1.5 a 2 m, mientras que en bajamar la lámina de agua es inferior a 20 cm en el centro del caño. En la cabecera del estuario se produce el vertido de una instalación que trata las aguas residuales de la población de Chiclana de 100,000 habitantes-equivalentes. Una vez producido el vertido, las aguas residuales se diluyen a lo largo del estuario de longitud de 4.5 km. Los procesos de dilución del vertido están muy limitados debido a la morfología y el régimen mareal de la zona.

Para determinar y diferenciar los procesos de dilución y autodepuración del vertido en el estuario se realizaron conjuntamente dos tipos de experiencias: (1) caracterización de las aguas del estuario y (2) ensayo de microcosmos. Ambas experiencias se realizaron en tres estaciones climatológicas distintas: primavera, otoño e invierno.

Para la caracterización del estuario se seleccionaron seis estaciones de muestreo. La estación Iro 1 se localiza exactamente en el punto donde se produce la primera mezcla del vertido de aguas residuales urbanas con el medio receptor. Las estaciones Iro 2 a Iro 5 están dispuestas a lo largo de los 4.5 km de recorrido del río hasta su desembocadura en el caño de Sancti-Petri en donde está ubicada la estación Iro 6.

Durante la pleamar y desde una embarcación neumática se realizó la toma de muestra de la estación Iro 1 ($t = 0$) para la caracterización de la mezcla del vertido con el estuario. Al mismo tiempo se tomó un gran volumen de agua de este punto y se almacenó en un recipiente rectangular de superficie 500 cm² y altura 50 cm, que permite almacenar un volumen máximo de 250 L. Esta muestra se denominó Mic 1. El microcosmos así constituido simula la estación Iro 1 durante el transcurso de todo el ensayo y por tanto nos permite estudiar la

To determine and differentiate the dilution and autodepuration processes in the estuary, two tests were carried out at the same time: (1) characterization of the estuarine water and (2) microcosm trials. Both tests were carried out during three seasons of the year: spring, autumn and winter.

To characterize the estuary, six sampling stations were selected. Station Iro 1 was located exactly at the point where the first mixing occurs between the urban wastewater discharges and the receiving environment. Stations Iro 2 to Iro 5 were situated along the stretch of 4.5 km until the river flows into the Sancti-Petri Channel, where station Iro 6 was located.

Samples were collected during high tide and from a rubber dinghy at station Iro 1 ($t = 0$) to characterize the mixing of the sewage and estuary. At the same time, a large volume of water was taken from this point and stored in a 50-cm-high, 500-cm² rectangular recipient, with a maximum volume capacity of 250 L. This sample was called Mic 1. This microcosm simulates station Iro 1 throughout the study and thus allows us to study the death rate of the microorganisms as a result of the joint effects of solar radiation and salinity. We then proceeded to drift downstream from the effluent at the same speed as the current until the next sampling station where samples of the estuary (Iro 2) and microcosm (Mic 2) were taken. This procedure was repeated at all the stations. The sampling of the microcosm continued for several days, putting the samples in a place close to the estuary under similar solar radiation and climatic conditions.

The microbiological parameters were determined by the membrane filtration process and incubation in a nutritive medium and suitable temperature (APHA-AWWA-WPCF, 1992).

It is generally assumed that the number of bacteria remaining in a certain environment after time t fits an equation derived from Chick's Law: $N_t = N_0 \times e^{-kt}$, where t is the time of contact, N_t is the number of bacteria that remain after the time of contact and N_0 is the number of bacteria at time zero. The disappearance/inactivation velocity constant (k , min⁻¹) of each bacterial group can be expressed as the slope of the line $\log(N_t/N_0)$ vs time t without intercept. From these expressions, T_{90} is defined as the time required for the disappearance/inactivation of 90% of the initial microorganisms.

The physicochemical characterization consisted of determining water temperature, salinity, pH, oxygen, ammonium and phosphates. The indophenol blue colorimetric method was used for the analytical determination of ammonium (Grasshoff *et al.*, 1983; IOC, 1983). Phosphate content was determined using the ascorbic acid colorimetric method (Grasshoff *et al.*, 1983; IOC, 1983; APHA-AWWA-WPCF, 1992).

Results and discussion

Behaviour of wastewater in contact with estuarine water

Once the urban wastewater has been discharged it dilutes with the estuarine water. The resulting mixture flows towards

velocidad con que los microorganismos mueren por los efectos conjuntos de la radiación solar y salinidad. Posteriormente, la embarcación se deslizó aguas abajo del vertido a la misma velocidad de la corriente hasta la próxima estación de muestreo donde se tomó muestra del estuario (Iro 2) y del microcosmos (Mic 2). Este procedimiento se repitió hasta completar todas las estaciones del estuario. El muestreo del microcosmos se continuó varios días situando las muestras en un lugar próximo al estuario en condiciones de radiación solar y climáticas similares.

La determinación de los parámetros microbiológicos se realizó mediante el procedimiento de filtración por membrana e incubación en medio nutritivo y a temperatura adecuada (APHA-AWWA-WPCF, 1992).

En general se asume que el número de bacterias que permanece en un ambiente determinado transcurrido un tiempo t , se ajusta a una ecuación derivada de la Ley de Chick: $N_t = N_0 \times e^{-kt}$, donde t es el tiempo de contacto, N_t es el número de bacterias que permanece después del tiempo de contacto y N_0 es el número de bacterias en el tiempo cero. La constante de velocidad de desaparición/inactivación (k , min^{-1}) de cada grupo bacteriano puede expresarse como la pendiente de la línea $\log(N_t/N_0)$ frente al tiempo t sin intercepto. A partir de estas expresiones se define T_{90} como el tiempo requerido en la desaparición/inactivación del 90% de los microorganismos iniciales.

La caracterización fisicoquímica consistió en la determinación de la temperatura del agua, pH, salinidad, oxígeno, amonio y fosfatos. La determinación analítica del amonio se realizó mediante el método colorimétrico del azul de indofenol (Grasshoff *et al.*, 1983; IOC, 1983). El contenido en fosfatos se determinó mediante el método colorimétrico del ácido ascórbico (Grasshoff *et al.*, 1983; IOC, 1983; APHA-AWWA-WPCF, 1992).

Resultados y discusión

Comportamiento del vertido ante la mezcla estuárica

Una vez producido el vertido de aguas residuales urbanas, éste se diluye con el agua del estuario. La mezcla resultante fluye hacia la desembocadura del estuario produciéndose gradualmente una mayor dilución, promovida por la mezcla turbulenta con las aguas del estuario. Para estudiar estos procesos de mezcla y el comportamiento de las variables de estudio ante la misma se ha utilizado el modelo descrito por Boyle (1974) basado en las propiedades conservativas de la salinidad. Representando los valores de cada variable frente a la salinidad se obtuvieron las curvas de mezcla así como el comportamiento de cada compuesto químico o cada grupo microbiológico ante la mezcla estuárica. La figura 2 muestra el comportamiento promedio de las tres experiencias. Tanto para los grupos microbianos como para las variables amonio y fosfato se observa un comportamiento no conservativo con

the mouth of the estuary, a greater dilution gradually occurring as a result of turbulent mixing with the estuarine water. To study these mixing processes and the behaviour of the study variables in relation to this mixing, we used the model described by Boyle (1974) based on the conservative properties of salinity. By plotting the values of each variable against salinity we obtained the mixing curves and the behaviour of each chemical compound or each microbiological group in regard to the estuarine mixing. Figure 2 shows the average behaviour of the three evaluations. A non-conservative behaviour is observed for the microbial groups as well as the ammonium and phosphate variables, with losses against the estuarine mixture. Other authors have described processes such as depredation, influence of solar radiation, effect of salinity and sedimentation that can act together and produce a greater decrease in the population of microorganisms than that produced by dilution. Very high levels (above 95%) of photosynthetic pigments and oxygen saturation were reported in previous studies of this estuary (Acevedo, 2001). Many authors have identified ammonium as the most assimilable form of nitrogen for primary producers (Wetzel, 1983; Harris, 1986). In such a toxic environment, ammonium rapidly evolves the oxidated forms of nitrogen, that is, nitrites and nitrates. The loss of ammonium vs estuarine mixing is explained based on the joint action of the aforementioned biological and chemical processes. The loss of phosphorus vs mixing is justified by biological processes of incorporation by primary producers in the estuary.

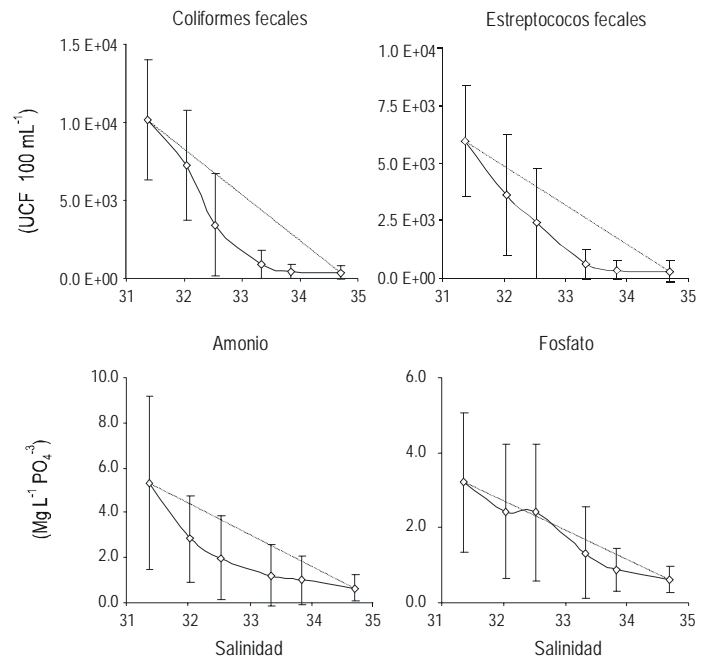


Figura 2. Gráficas de mezcla de las variables microbiológicas y fisicoquímicas vs salinidad en el estuario del Río Iro.
 Figure 2. Mixing of microbiological and physicochemical variables vs salinity in the Iro River estuary.

pérdida frente a la mezcla estuárica. Procesos descritos por otros autores tales como depredación, influencia de la radiación solar, efecto de la salinidad y sedimentación, pueden actuar conjuntamente y producir un descenso en la población de microorganismos superior a la producida por dilución. En estudios previos de caracterización de este estuario se determinaron niveles muy elevados de pigmentos fotosintéticos y de saturación de oxígeno por encima del 95% (Acevedo, 2001). Muchos autores han identificado al amonio como la forma más asimilable de nitrógeno para los productores primarios (Wetzel, 1983; Harris, 1986). En un medio tan oxidante, el amonio evoluciona rápidamente a las formas oxidadas de nitrógeno, esto es, a nitritos y nitratos. La pérdida de amonio ante la mezcla estuárica se explica en base a la acción conjunta de los procesos biológicos y químicos descritos anteriormente. Respecto al fósforo, la pérdida ante la mezcla se justifica con procesos biológicos de incorporación por parte de productores primarios presentes en el estuario.

Evolución temporal de la concentración de microorganismos en el estuario y en el microcosmos

Durante la primera hora de los microcosmos los procesos de autodepuración son insignificantes, produciéndose un leve decaimiento de las poblaciones ante las condiciones adversas del medio receptor. Una vez transcurrida esta etapa, aumenta gradualmente la mortalidad o inactivación en las poblaciones de bacterias hasta la desaparición total de ambos grupos (CF y EF) entre los 3 y 7 días. En el estuario se produce un rápido e intenso descenso en la concentración de los microorganismos, haciendo patentes procesos de dilución más acusados en las experiencias I y III realizadas en mareas de coeficiente medio-alto (0.62 y 0.73 respectivamente). En ellos, el descenso de concentraciones fue más notorio que en la experiencia II realizada bajo condiciones de coeficiente de marea muerta de 0.33.

Cálculo de T_{90}

En las tablas 1 y 2, y en la figura 3 se muestra la evolución temporal de las variables microbiológicas y fisicoquímicas en el estuario y el microcosmos. La tabla 3 resume los diferentes valores de T_{90} obtenidos en el estuario y el microcosmos. Para la aplicación del modelo se han considerado el conjunto de estaciones del estuario o de muestras del microcosmos cuya concentración de microorganismos fuese superior o igual a 10%, más la inmediatamente inferior. Respecto a la resistencia de los grupos bacterianos ante los factores que intervienen en la autodepuración, los valores de T_{90} obtenidos corroboran las conclusiones de otros autores acerca de la mayor resistencia del grupo EF respecto al CF (Paoletti *et al.*, 1978; Burton *et al.*, 1987; Del Vecchio, 1994; Gabutti *et al.*, 2000).

En el estuario se obtienen valores de T_{90} entre 12.2 y 40.8 min para CF y entre 11.7 y 53.5 min para EF. Estos

Temporal evolution of the concentration of microorganisms in the estuary and microcosm

During the first hour of the microcosm the autodepuration processes are insignificant, producing a slight decrease in the populations as a result of the adverse conditions of the receiving environment. After this stage, mortality or inactivation of the bacterial populations gradually increases until the total disappearance of both groups (FC and FS) between 3 and 7 days. In the estuary there is a rapid and high decrease in the concentration of microorganisms. The dilution processes are more pronounced in evaluations I and III, conducted during mean and high coefficient tides (0.62 and 0.73, respectively), in which the decrease of concentrations is more pronounced than in evaluation II, conducted under neap tide coefficient conditions (0.33).

Calculation of T_{90}

The graphs of figure 3 and tables 1 and 2 show the temporal variation of the concentration of the microbiological and physicochemical variables in the microcosm. The different T_{90} values obtained for the estuary and microcosm are shown in table 3. For the application of the model, we considered the estuary stations or microcosm samples whose concentration of microorganisms was greater or equal to 10%, plus the one immediately below. Regarding the resistance of the bacterial groups to the factors involved in autodepuration, the T_{90} obtained corroborate the conclusions presented by other authors in that the FS are more resistant than the FC (Paoletti *et al.*, 1978; Burton *et al.*, 1987; Del Vecchio, 1994; Gabutti *et al.*, 2000).

The T_{90} values obtained in the estuary ranged from 12.2 to 40.8 min for FC and from 11.7 to 53.5 min for FS. These results are comparable to those obtained for *Escherichia coli* by Beaudeau *et al.* (2001) in rivers with similar morphological and hydrological conditions to the Iro River. Steets and Holden (2003) modelled the decrease of FC in a coastal lagoon and in the mixing zone with the coastal waters. The values of the first order constant k that they obtained in tests conducted in summer coincide with this study's spring-autumn range.

After calculating the first order constants k in the microcosm, corresponding exclusively to autodepuration processes, the percentages of autodepuration corresponding to the estuary's T_{90} values were then calculated (table 4). Only a small percentage of the decrease in population is because of autodepuration processes, thus corroborating that dilution processes predominate in the estuary. In aquatic systems greatly influenced by the tide, these processes are strongly conditioned by the tidal wave. The estuary's T_{90} values were represented against the tidal coefficients (TC). The results indicate a strong linear dependence and the following expressions were obtained:

$$T_{90(\text{FC})}(\text{min}) = -70.984 \times \text{TC} + 64.351 \quad (r^2 = 0.9992)$$

$$T_{90(\text{FS})}(\text{min}) = -104.92 \times \text{TC} + 88.021 \quad (r^2 = 0.9998)$$

Tabla 1. Caracterización del medio natural del estuario del Río Iro.
Table 1. Characterization of the natural environment of the Iro River estuary.

Estaciones de muestreo	Tiempo (min)	Salinidad	Temperatura (°C)	Amonio (mg L ⁻¹)	Fosfatos (mg L ⁻¹)	Coliformes fecales (CFU 100 mL ⁻¹)	Estreptococos fecales (CFU 100 mL ⁻¹)
Evaluation I: Estuary in spring							
Wastewater	–	1.548*	24.5	41.129	12.468	153000	49000
Iro 1	0	32.0	22.2	1.015	1.135	9717	4200
Iro 2	6	32.4	21.9	0.886	0.346	8433	3000
Iro 3	19	32.8	20.5	0.524	0.291	1767	1133
Iro 4	22	33.0	20.0	0.451	0.280	520	240
Iro 5	57	33.5	20.0	0.357	0.242	133	67
Iro 6	62	34.5	19.5	0.315	0.209	87	33
Evaluation II: Estuary in autumn							
Wastewater	–	1.598*	24.6	41.267	10.511	209000	79300
Iro 1	0	32.7	22.6	6.459	3.757	14209	8717
Iro 2	8	32.9	22.3	4.738	3.373	10133	6900
Iro 3	16	33.1	22.3	4.090	3.342	7200	5100
Iro 4	28	33.7	22.1	2.755	2.668	1920	1353
Iro 5	51	34.7	22.8	2.264	1.362	920	837
Iro 6	63	35.7	21.7	1.296	0.747	890	837
Evaluation III: Estuary in winter							
Wastewater	–	2.210*	21.5	64.357	5.094	260000	120000
Iro 1	0	29.4	17.6	8.478	4.727	6500	5000
Iro 2	5	30.8	16.0	2.848	3.531	3300	1350
Iro 3	10	31.7	16.0	1.297	3.562	1300	910
Iro 4	15	33.3	17.0	0.372	1.014	290	240
Iro 5	20	33.3	16.0	0.335	0.968	165	135
Iro 6	25	33.9	16.0	0.311	0.897	90	25

* Conductivity (mS cm⁻¹).

resultados son comparables con los obtenidos para *Escherichia coli* por Beaudeau *et al.* (2001) en ríos de condiciones morfológicas e hidrológicas similares al Río Iro. Steets y Holden (2003) modelan el decaimiento de CF en una laguna costera y en la zona de mezcla con las aguas costeras. Los valores de la constante de primer orden k que obtienen en experiencias realizadas en verano coinciden con el rango primavera-otoño de este estudio.

Calculadas las constantes de primer orden k en el microcosmos, correspondientes exclusivamente a procesos de autodepuración, se han calculado los porcentajes de autodepuración que corresponden a los valores de T_{90} en el estuario (tabla 4). Sólo un pequeño porcentaje del decaimiento de la población se debe a procesos de autodepuración, lo que corrobora que los procesos de dilución son los que predominan en el estuario. En sistemas acuáticos de gran influencia mareal, estos

These expressions are independent of the concentration of microorganisms in the receiving environment. Therefore, we can establish a continuous control of the estuary's depuration capability in terms of the tidal conditions. Evaluation II, conducted with a tidal coefficient of 0.33, probably represents the estuary's worst depuration situation because lower coefficients are highly unusual in the study area. Considering the T_{90} estuary values and that with this tidal coefficient the current flow was 1.21 m s⁻¹, the concentration of microorganisms originating from the urban wastewater discharges decreased by 90% at a distance of 2962 and 3884 m for FC and FS, respectively. If the distance of the estuary is 4500 m, it can be concluded that an effective depuration of the microorganisms occurs before exiting the estuary during the worst tidal conditions. Thus, the wastewater discharged into the estuary does not pose a risk for the recreational area located at the Sancti

procesos están muy condicionados por la onda de marea. Se han representado los valores de T_{90} del estuario de las tres experiencias frente a los coeficientes de marea (CM). Los resultados indican una fuerte dependencia lineal de acuerdo a las siguientes expresiones:

$$T_{90(CF)} \text{ (min)} = -70.984 \times CM + 64.351 \text{ (} r^2 = 0.9992 \text{)}$$

$$T_{90(EF)} \text{ (min)} = -104.92 \times CM + 88.021 \text{ (} r^2 = 0.9998 \text{)}$$

Petri beach, or for the aquaculture farms that use water from the Sancti Petri Channel.

In the microcosm, where only autodepuration processes occur, the T_{90} obtained are considerably higher than those of the estuary. The values for FC ranged from 3.1 to 42.6 h, which are similar to those reported by Gabutti *et al.* (2000). In the case of FS, the T_{90} values ranged from 4.6 to 54.8 h, which are lower than those obtained by Gabutti *et al.* (2000). In order to

Tabla 2. Caracterización de microcosmos.
Table 2. Characterization of the microcosm

Muestras de microcosmos	Tiempo (min)	Tiempo (días)	Salinidad	Temperatura (°C)	Amonio (mg L ⁻¹)	Fosfatos (mg L ⁻¹)	Coliformes fecales (CFU 100 mL ⁻¹)	Estreptococos fecales (CFU 100 mL ⁻¹)
Evaluation I: Microcosm of spring								
Mic 1	0	0	32.0	22.2	1.015	1.135	9717	4200
Mic 2	6	–	–	–	0.903	0.282	7450	3233
Mic 3	19	–	–	–	0.908	0.265	6433	2700
Mic 4	22	–	34.5	–	0.870	0.167	6133	2267
Mic 5	57	–	35.1	–	0.762	0.152	5600	1900
Mic 6	62	–	35.3	–	0.646	0.152	5450	1780
Mic 7	180	–	35.3	20.0	0.299	0.092	987	1260
Mic 8	–	1	37.1	23.5	0.331	0.022	60	340
Mic 9	–	2	39.2	24.0	0.213	0.017	0	13
Mic 10	–	3	41.7	23.5	0.117	0.024	–	0
Evaluation II: Microcosm of autumn								
Mic 1	0	0	32.7	22.6	6.459	3.757	14209	8717
Mic 2	8	–	–	–	6.128	3.891	12800	5400
Mic 3	16	–	–	–	6.085	3.858	11450	4650
Mic 4	28	–	–	–	5.957	3.876	9850	4700
Mic 5	51	–	–	–	6.153	3.922	5600	4400
Mic 6	63	–	–	–	6.220	4.054	4900	4250
Mic 7	78	–	–	–	6.098	3.959	4600	3550
Mic 8	98	–	–	–	6.092	3.930	9050	3500
Mic 9	113	–	–	–	5.951	3.907	7700	3150
Mic 10	143	–	–	18.5	5.969	3.883	3600	3250
Mic 11	173	–	33.9	22.0	5.969	3.915	3750	2250
Mic 12	–	1	34.1	18.5	5.693	3.299	1400	1650
Mic 13	–	2	34.3	18.5	5.252	3.309	1100	470
Mic 14	–	3	36.5	18.6	4.585	3.615	160	135
Mic 15	–	4	37.5	17.1	2.803	2.988	25	50
Mic 16	–	6	39.7	19.2	2.500	3.371	0	10
Mic 17	–	7	39.9	19.4	2.170	3.532	0	0

(Cont.)

Muestras de microcosmos	Tiempo (min)	Tiempo (días)	Salinidad	Temperatura (°C)	Amonio (mg L ⁻¹)	Fosfatos (mg L ⁻¹)	Coliformes fecales (CFU 100 mL ⁻¹)	Estreptococos fecales (CFU 100 mL ⁻¹)
Evaluation III: Microcosm of winter								
Mic 1	0	0	29.4	17.6	8.478	4.727	6500	5000
Mic 2	5	–	–	–	7.590	1.363	6350	4550
Mic 3	10	–	–	–	7.450	1.373	5900	4650
Mic 4	15	–	–	–	7.407	1.389	5750	4500
Mic 5	20	–	–	–	7.435	1.389	5250	3950
Mic 6	25	–	–	–	7.548	1.409	4950	3900
Mic 7	35	–	–	–	7.464	1.383	3500	3250
Mic 8	45	–	–	–	7.169	1.409	2950	3200
Mic 9	90	–	–	–	7.057	1.378	2200	3100
Mic 10	–	1	28.57	19.0	6.734	1.394	1570	1810
Mic 11	–	2	28.49	18.3	6.215	1.281	530	810
Mic 12	–	3	31.09	17.9	5.611	1.312	120	270
Mic 13	–	4	32.64	16.5	4.034	1.256	0	25
Mic 14	–	7	31.58	18.0	4.090	1.241	–	0

Tabla 3. Resultados de T₉₀ (min).
Table 3. Results of T₉₀ (min).

	Primavera		Otoño		Invierno	
	Estuario	Microcosmos	Estuario	Microcosmos	Estuario	Microcosmos
Coliformes fecales, T ₉₀ (min)	20.8	187.2 (3.1 h)	40.8	1211.9 (20.2 h)	12.2	2558.4 (42.6 h)
Coliformes fecales, <i>k</i> (min ⁻¹)	0.1108	0.0123	0.0565	0.0019	0.1889	0.0009
Estreptococos fecales, T ₉₀ (min)	22.6	274.1 (4.6 h)	53.5	2093.3 (34.9 h)	11.7	3289.4 (54.8 h)
Estreptococos fecales, <i>k</i> (min ⁻¹)	0.1020	0.0084	0.0430	0.0011	0.1975	0.0007

Estas expresiones son independientes de la concentración de microorganismos en el medio receptor, por tanto, permiten establecer un control continuo de la capacidad de depuración del estuario en función de las condiciones de marea. La experiencia II, realizada con un coeficiente de marea de 0.33, representa prácticamente la peor situación de depuración del estuario puesto que coeficientes inferiores a éste son muy inusuales en la zona de estudio. Considerando que, con este coeficiente de marea, el flujo de la corriente fue de 1.21 m s⁻¹ y los valores de T₉₀ en el estuario, se obtiene que la concentración de microorganismos procedentes del vertido de aguas residuales urbanas ha disminuido en 90% a unas distancias de 2962 y 3884 m para CF y EF, respectivamente. Si la distancia

Tabla 4. Porcentajes de eliminación por procesos de autodepuración en el Estuario del Río Iro.
Table 4. Percentages of elimination by autodepuration processes in the Iro River estuary.

Porcentaje de autodepuración (%)	Coliformes fecales	Estreptococos fecales
Evaluation I (spring)	22.57	17.29
Evaluation II (autumn)	4.78	5.72
Evaluation III (winter)	1.09	0.82

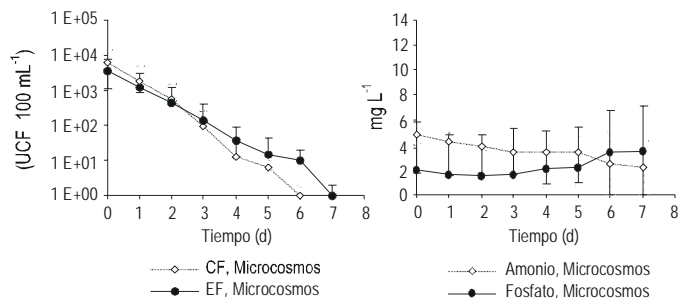


Figura 3. Variación temporal de la concentración de las variables microbiológicas y fisicoquímicas en el microcosmos.

Figure 3. Temporal variation of the concentration of the microbiological and physicochemical variables in the microcosm.

del estuario es de 4500 m, se puede concluir que en las peores condiciones de marea se produce una depuración efectiva de los microorganismos antes de que éstos salgan del estuario. Por tanto, el vertido de aguas residuales hacia el estuario no supone un riesgo para la zona recreativa situada en la playa de Sancti Petri, ni para las granjas acuícolas que se alimentan de las aguas del caño Sancti Petri.

En el microcosmos, donde sólo se producen procesos de autodepuración, los valores de T_{90} obtenidos son considerablemente superiores a las del estuario. Para CF, los valores oscilan entre 3.1 y 42.6 h, periodos similares a los obtenidos por Gabutti *et al.* (2000). En el caso de EF los valores de T_{90} oscilaron entre 4.6 y 54.8 h, los cuales fueron inferiores a lo obtenidos por el citado autor. Con el objeto de determinar el efecto de la salinidad sobre las poblaciones microbianas, se han representado los valores de T_{90} del microcosmos frente a la salinidad media obteniéndose una relación lineal inversa de acuerdo con las conclusiones obtenidas por algunos autores (El-Sharkawi *et al.*, 1989; Gabutti *et al.*, 2000; Yang *et al.*, 2000). Los altos coeficientes de correlación indican que la salinidad es uno de los factores principales en los mecanismos de autodepuración de estos grupos de microorganismos:

$$T_{90(CF)}(h) = -6.103 \times S + 219.618 \quad (r^2 = 0.936)$$

$$T_{90(EF)}(h) = -8.182 \times S + 298.13 \quad (r^2 = 0.858)$$

Agradecimientos

Los autores del presente trabajo agradecen al Ayuntamiento del Municipio de Chiclana de la Frontera (Cádiz, España) la financiación de este trabajo.

References

Acevedo, A. (2001). Caracterización microbiológica del Río Iro. Efecto de la estación depuradora "El Torno". Tesis de licenciatura, Universidad de Cádiz.

Alkan, U., Elliot, D.J. and Evison, L.M. (1995). Survival of enteric bacteria in relation to simulated solar radiation and other

determine the effect of salinity on the microbial populations, the microcosm T_{90} values were represented against mean salinity (S) and an inverse linear relation was obtained according to the conclusions reported by some authors (El-Sharkawi *et al.*, 1989; Gabutti *et al.*, 2000; Yang *et al.*, 2000). The high correlation coefficients indicate that salinity is one of the main factors in the autodepuración mechanisms of these groups of microorganisms:

$$T_{90(FC)}(h) = -6.103 \times S + 219.618 \quad (r^2 = 0.936)$$

$$T_{90(FS)}(h) = -8.182 \times S + 298.13 \quad (r^2 = 0.858)$$

Acknowledgements

The authors thank the town council of the municipality of Chiclana de la Frontera (Cádiz, Spain) for financing this study.

English translation by Christine Harris.

environmental factors in marine waters. *Water Res.*, 29: 2071–2081.

Anderson, I.C., Rhodes, M. and Kator, H. (1979). Sublethal stress in *Escherichia coli*: A function of salinity. *Appl. Environ. Microbiol.*, 38: 1147–1152.

APHA-AWWA-WPCF (1992). Métodos Normalizados para el Análisis de Aguas Potables y Residuales. Ed. Díaz de Santos, Barcelona.

Ayres, P.A. (1977). Coliphages in sewage and the marine environment. In: F.A. Skinner and J.M. Shewan (eds.), *Aquatic Microbiology*. Academic Press, New York, pp. 275–298.

Beaudeau, P., Tousset, N., Bruchon, F., Lefevre, A. and Taylos, H.D. (2001). *In situ* measurement and statistical modelling of *Escherichia coli* decay in small rivers. *Water Res.*, 35(13): 3168–3178.

Boyle, E. (1974). *Estuarine Chemistry and General Survey Strategy*. Practical Estuarine Chemistry. P.C. Head (ed.). Cambridge Univ. Press, Cambridge. pp. 278–325.

Burton, G.A. Jr., Gunnison, D. and Lanza, G.R. (1987). Survival of pathogenic bacteria in various freshwater sediments. *Appl. Environ. Microbiol.*, 53: 633–638.

Del Vecchio, G. (1994). Studi moderni sul potree autodepurativo del mare e sul destino dei batteri –specialmente gli enterici– in esso riversati. *Nuovi Annali d'Ígiene e Microbiologia*, 29: 383–392.

DOCE, Diario Oficial Comunidad Europea (1991). Directiva del Consejo 91/271/CEE, de 21 de mayo de 1991, sobre el tratamiento de las aguas residuales urbanas. 135/L, de 30 de mayo de 1991.

El-Sharkawi, F., Al-Attar, L., Gawad, A. and Molazem, S. (1989). Some environmental factors affecting survival of fecal pathogens and indicator organisms in seawater. *Water Sci. Technol.*, 21: 115–120.

Fujioka, R.S., Hashimoto, H.H., Siwak, E.B. and Young, R.H.F. (1981). Effect of sunlight on survival of indicator bacteria in seawater. *Appl. Environ. Microbiol.*, 41: 690–696.

Gabutti, G., De Donno, A., Bagordo, F. and Montagna, M.T. (2000). Comparative survival of faecal human contaminants and use of *Staphylococcus aureus* as an effective indicator of human pollution. *Mar. Pollut. Bull.*, 40(8): 697–700.

- Grasshoff, W.K., Weinheim, K., Ehrhasrdt, M. and Krempling, K. (eds.) (1983). *Methods of Seawater Analysis*. 2nd revised and extended ed. Verlag Chemie.
- Harris, G.P. (1986). *Phytoplankton Ecology, Structure, Function and Fluctuation*. Chapman and Hall, New York.
- IOC, Intergovernmental Oceanographic Commission (1983). *Chemical Methods for Use in Marine Environmental Monitoring*. Unesco.
- McCambridge, J. and McMeekin, T.A. (1981). Effect of solar radiation and predacious microorganisms on survival of faecal and other bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.*, 41: 1083–1087.
- McFeters, G.A. and Stuart, D.G. (1972). Survival of coliform bacteria in natural waters: Field and laboratory studies with membrane filter chambers. *Appl. Environ. Microbiol.*, 24: 805–811.
- Mitchell, R. and Chamberlin, G. (1974). Factors influencing the survival of enteric microorganisms in the sea. *International Symposium on Discharge of Sewage*, London, 25: 237–248.
- NRC, National Research Council (1993). *Managing Wastewater in Coastal Urban Areas*. National Academy Press, Washington, DC.
- Paoletti, A., Parrella, A., Aliberti, F. and Gargiulo, E. (1978). Il T₉₀ tempo di estinzione di enterobatteri ed enterovirus in acque di mare. *L'igiene Moderna*, 81: 38–85.
- Scheuerman, P.R., Schmidt, J.P. and Alexander, M. (1988). Factors affecting the survival and growth of bacteria introduced into lade water. *Arch. Microbiol.*, 150: 320–325.
- Solic, M. and Krstulovic, N. (1992). Separate and combined effects of solar radiation, temperature, salinity, and pH on the survival of faecal coliforms in seawater. *Mar. Pollut. Bull.*, 24: 411–416.
- Steets, B.M. and Holden, P.A. (2003). A mechanistic model of runoff-associated fecal coliform and transport through a coastal lagoon. *Water Res.*, 37: 589–608.
- Wetzel, R.G. (1983). *Limnology*. 2nd ed. Saunders College Publ., New York, 767 pp.
- Yang, L., Chang, W. and Huang, M.N. (2000). Natural disinfection of wastewater in marine outfall fields. *Water Res.*, 34(3): 743–750.