

16

Desinfección con reactores solares: experiencia operativa

Pilar Fernández Ibáñez

Centro de Investigaciones Energéticas,
Medioambientales y Tecnológicas (CIEMAT).
Plataforma Solar de Almería (PSA), P. O. Box
22, 04200 Tabernas, Almería, España. Correo
electrónico: pilar.fernandez@psa.es

1. Introducción

Al comienzo de este libro se ha discutido el problema de la provisión de agua (ver [1]). Y vale la pena acotar que este problema no sólo se limita a países en vías de desarrollo; incluso en países de la OCDE, se dan con bastante frecuencia brotes de enfermedades de transmisión hídrica [2].

En el grueso de los capítulos se analizó la oferta de tecnologías eficaces y económicamente viables, en particular para los procesos de desinfección de aguas. Para los objetos de este capítulo conviene recordar que las coliformes fecales son bacterias comunes en el intestino de animales superiores y su presencia en agua suele tomarse como referente para cuantificar su nivel de contaminación ya que, aunque no significa que ésta contenga microorganismos patógenos, puede orientar sobre la contaminación fecal y patógena [3] (ver también Capítulos 2, 13 y 15).

En el presente capítulo discutiremos los resultados alcanzados con los reactores solares basados en la fotocatálisis y en la fotosensibilización. Un aspecto muy importante es la evaluación comparativa con los métodos convencionales de desinfección, discutidos en el Capítulo 4. Recordemos solamente que el cloro tiene el inconveniente de generar subproductos altamente tóxicos, como son los trihalometanos y otros compuestos cancerígenos, a lo que se añaden los riesgos que conllevan la producción, el almacenamiento, transporte y manejo del cloro para los operarios de las plantas de tratamiento y para el medioambiente. Sobre este tema se puede consultar las ref. [4-8]. Por ello, desde hace unos 20 años hasta la actualidad, se han venido desarrollando nuevas tecnologías de desinfección, entre las que cabe destacar la ozonización [6], la radiación ultravioleta (UV) (254 nm) [9], cada una con sus propias limitaciones, y más recientemente la fotocatálisis heterogénea y la fotogeneración de oxígeno singlete.

259

2. Fotocatálisis heterogénea para la desinfección de aguas

2.1. Generalidades

De entre los Procesos de Oxidación Avanzada (POAs, ver Capítulo 5), tratamientos de aguas basados en la generación de una especie fuertemente oxidante, los capaces de aprovechar la radiación solar son de especial interés. Estos procesos son la fotocatálisis «heterogénea» con TiO_2 y la fotorreacción «homogénea» con Foto-Fenton. La fotosensibilización, descrita en los Capítulos 14 y 15, usa luz visible para generar oxígeno singlete, sin producción del radical hidroxilo, $\cdot\text{OH}$, ni radicales equivalentes.

La descontaminación de aguas mediante fotocatálisis solar es en la actualidad una de las más exitosas aplicaciones de la fotoquímica solar [10-13]. Esto es debido a que se trata de una demostración de la aplicación de la energía solar a la preservación medioambiental y a que, al contrario de la mayoría de los procesos fotoquímicos, su versatilidad permite que sea empleada con mezclas complejas de contaminantes y de organismos vivos. De hecho, en la actualidad existen varias instalaciones y proyectos en fase de ejecución relacionadas con tales aplicaciones [14-17].

2.2. Acción bactericida de la fotocatálisis

Vale la pena repetir algunas ideas fundamentales ya desarrolladas a lo largo del libro.

Se define la *fotocatálisis* como la aceleración de una fotorreacción mediante la presencia de un catalizador [18]. Tanto la luz como el catalizador son elementos necesarios. El término fotocatálisis incluye un proceso según el cual se produce una alteración fotoquímica de alguna especie química como resultado de la absorción de radiación por otra especie fotosensible que es, en este caso, el catalizador. El concepto de *fotocatálisis heterogénea* es simple: se trata del uso de un sólido semiconductor (TiO_2 , ZnO , etc.) en presencia de agua o aire que es estimulado por radiación y produce una reacción química en la interfaz sólido/líquido o sólido/gas. Por definición, el catalizador debe de poder ser reutilizado después de actuar en el sistema de oxidación-reducción sin sufrir cambios significativos.

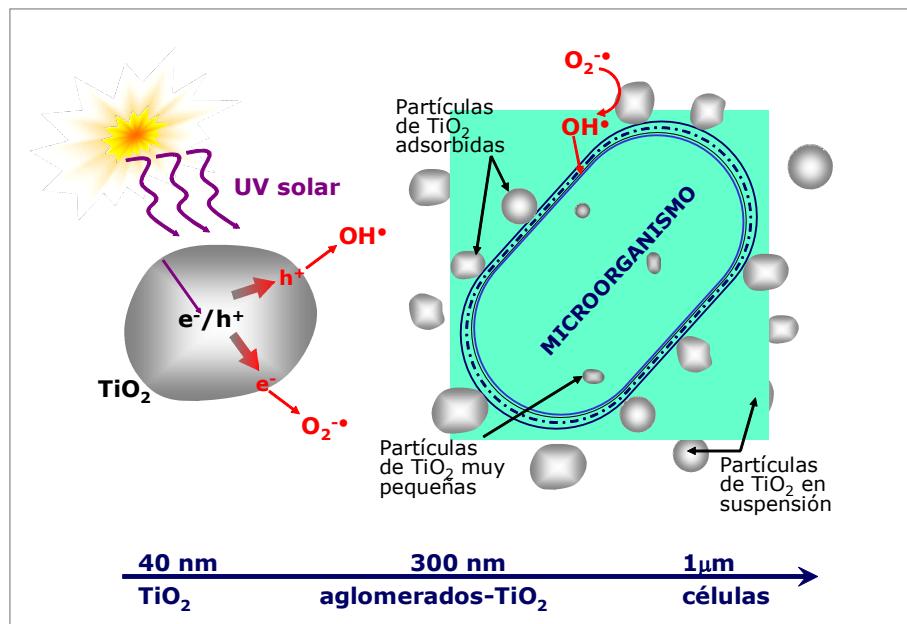
El proceso photocatalítico consta de distintas fases de reacciones químicas que generan especies reactivas (radical hidroxilo, peróxido de hidrógeno, superóxido, electrón de la banda de conducción y hueco de la banda de valencia) que pueden provocar daños mortales sobre diversos microorganismos [18-20]. Las especies reactivas con el oxígeno son capaces de romper o dañar células, funciones virales o estructuras de las mismas provocando así la inactivación de numerosos microorganismos.

Los radicales hidroxilo formados en presencia de agua a partir de los huecos fotogenerados no pueden difundir desde la superficie del TiO_2 hasta el seno de la disolución. Para una célula o un virus en contacto con la superficie del TiO_2 puede darse la transferencia directa de un electrón o un hueco al microorganismo o a alguno de sus componentes. Si las partículas de dióxido de titanio son suficientemente pequeñas, éstas pueden penetrar en la célula y los mecanismos del proceso photocatalítico darse en su interior [21].

Los tamaños relativos de los microorganismos y el catalizador más empleado en fotocatálisis, el TiO_2 P25 fabricado por Degussa (Alemania), pueden dar una idea de

cómo se da el proceso (figura 1). La orientación de las partículas y microorganismos, su carga eléctrica superficial (membrana celular negativa y superficie de TiO_2 cargada en función del pH), así como su tamaño serán parámetros clave a la hora de producirse un posible acercamiento, la posterior adsorción ó penetración de las partículas del óxido a través de la pared celular y finalmente el proceso fotocatalítico.

Figura 1. Diagrama del proceso de fotocatálisis con microorganismos.



Los radicales hidroxilo son altamente reactivos y por tanto tienen una corta vida media. En cambio, los iones superóxido presentan una vida más larga pero, debido a su carga negativa, no pueden penetrar la membrana celular. Una vez generadas ambas especies en la superficie de la partícula de TiO_2 , interactúan inmediatamente con la pared externa del microorganismo, a no ser que la partícula de óxido haya entrado en la célula. Comparado con los radicales hidroxilo y iones superóxido, el papel del peróxido de hidrógeno es menos activo. Sin embargo, éste puede entrar en la célula y activarse con hierro a través de la reacción de Fenton. De hecho, la capacidad de la *Escherichia coli* para captar hierro es conocida [22]. Los niveles de hierro en la superficie de la célula son considerables, encontrándose éste en el espacio periplásmico o en su interior, formando complejos de hierro o como parte de proteínas que almacenan hierro, como por ejemplo en la ferritina.

El primer trabajo de desinfección fotocatalítica fue llevado a cabo por Matsunaga y col. en 1985. Este equipo fue capaz de demostrar que las partículas de TiO_2 irradiadas destruían bacterias tales como el *Lactobacillus acidophilus* y la *Escherichia coli* y levaduras como la *Saccharomyces cerevisiae*. Comprobaron además que la acción fotodestructiva de este catalizador estaba asociada a la reducción de los niveles intracelulares de la Coenzima A por foto-oxidación [23].

Destaca entre los primeros trabajos de investigación sobre este tema el de Cai y col., que demostraron cómo un tipo de células tumorales (HeLa) incorporaban en su

interior partículas de TiO_2 por fagocitosis durante tiempos de incubación de 24 horas. Mostraron, de este modo, que las partículas de TiO_2 no representaban ninguna toxicidad para tales células pero sí provocaban su foto-destrucción al ser irradiadas [24]. Otros trabajos mostraron que esta acción destructiva del TiO_2 podía mejorarse mediante la adición de la enzima superóxido dismutasa, que permite la conversión del ión superóxido en peróxido de hidrógeno [25].

Desde entonces hasta ahora se han realizado diversos trabajos de investigación destinados a la inactivación de gran variedad de bacterias y células tumorales, también existen trabajos dedicados a virus, levaduras y otras células aunque en menor número. El microorganismo más estudiado es la bacteria *E. coli*, por ser una bacteria representativa de la contaminación fecal y de fácil destrucción [18, 21]. Casi todos las investigaciones se han llevado a cabo con suspensiones de bacterias cultivadas en laboratorio, aunque también se conocen estudios realizados con aguas contaminadas reales.

Otros trabajos de desinfección fotocatalítica con TiO_2 se han llevado a cabo con bacterias como *Streptococcus mutants*, *Streptococcus rattus*, *Streptococcus cricetus*, *Streptococcus sobrinus*, *Streptococcus sobrinus* AHT, *Streptococcus faecalis*, con virus como Phage MS2 (RNA bacteriófago) y Poliovirus 1 y algunos tipos de células cancerígenas como las células HeLa (carcinoma cervical), T24 (cáncer de vejiga) y U937 (leucemia) [21].

La tendencia actual en este campo se dirige hacia la desinfección con TiO_2 de bacterias más resistentes, de protozoos patógenos como *Giardia lamblia* y *Cryptosporidium* o de algas resistentes. En cualquier caso, la demostrada capacidad de foto-desinfección del dióxido de titanio aún debe ser implantada y establecida como una técnica de desinfección.

Los dos inconvenientes principales de esta técnica son su falta de efecto residual y su lento comportamiento cinético si se compara con otras tecnologías convencionales. Aunque como ventajas destacan el aprovechamiento de una fuente de energía renovable, el uso de materiales e instalaciones que pueden llegar a ser muy baratos y la no producción de subproductos de desinfección nocivos.

2.3. Fotocatálisis solar con TiO_2

Si se utiliza el sol como fuente de radiación, dado que el espectro que llega a la superficie terrestre contiene sólo un 5-7% en la región UV, la fotocatálisis solar como método de desinfección tendrá una buena proyección en áreas del planeta en las que los períodos de exposición solar sean muy largos y sus niveles de radiación suficientemente elevados. Por tanto, sería ideal aplicarlo en comunidades rurales de zonas semiáridas debido principalmente a sus altos niveles de radiación solar y a la falta de agua e infraestructuras relacionadas.

Tal y como demuestran algunos trabajos [26-27], existe suficiente luz UV (por debajo de 400 nm) en la radiación solar como para activar el TiO_2 (ver Capítulos 6 y 7). Esta propiedad se ha utilizado para desarrollar diversas aplicaciones relacionadas con la desinfección.

La desinfección solar de aguas por fotocatálisis es un campo de investigación muy joven en el que se ha desarrollado poco trabajo hasta la fecha. Los primeros trabajos dedicados a este tema fueron publicados en 1994. Por un lado, la publicación

de Zhang y su equipo demostró la desactivación fotocatalítica de un 99% de las suspensiones de *E. coli* mediante anatasa irradiada con luz solar durante 23 minutos [27]. Por otro lado, el trabajo de Wei y col. mostró que la foto-inactivación solar de *E. coli* obedecía a una cinética de primer orden y que la dependencia con la intensidad de radiación era de tipo raíz cuadrada [28].

Block, Seng y Goswami demostraron la destrucción fotocatalítica de tres bacterias: *Serratia marcescens*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*. Mientras que la radiación solar por sí sola puede desactivarlas en más de una hora, en presencia del catalizador tarda tan sólo unos pocos minutos. En este trabajo se analiza el efecto negativo que tiene sobre el proceso la presencia de distintas especies químicas y se estudia una concentración óptima de TiO_2 [29].

Trabajos muy recientes, como los aportados por Rincón y Pulgarín analizan los distintos parámetros experimentales que afectan a la desinfección de diversas bacterias. La intensidad de radiación, su intermitencia, la presencia de distintos electrolitos y compuestos orgánicos, la comparación con la desinfección de aguas reales y el uso de algunos catalizadores de TiO_2 soportado, son exhaustivamente analizados en sus trabajos [30-31].

2.4. Parámetros fundamentales

Las eficiencias fotocatalíticas de desactivación de microorganismos dependen de muchos factores, como son el diseño del fotorreactor, el tipo y forma de disposición del catalizador, la composición química y pH del medio, la intensidad y continuidad de la radiación, el modo de operación (flujos y tiempos de exposición) la temperatura, la concentración inicial de los microorganismos y evidentemente, la propia naturaleza de los mismos. Aunque este campo aún se encuentra en fase de investigación y quedan muchas cuestiones abiertas, a continuación se comentan algunos de ellos.

2.4.1. Electrolito

La naturaleza de la sal que contiene el medio acuoso de las suspensiones de bacterias puede tener un efecto importante sobre la velocidad y la cinética de la desinfección, igual que ocurre en la fotocatálisis de compuestos orgánicos. En particular, se conoce el efecto inhibidor de distintos electrolitos, siendo el ion fosfato el de mayor influencia y el cloruro el que menos afecta a los procesos de desinfección fotocatalítica [18-19]. Los fosfatos impiden la adsorción de aminoácidos sobre las partículas de TiO_2 , los carbonatos y otras especies pueden reaccionar con los radicales hidroxilo compitiendo así con los microorganismos y reduciendo la eficiencia del fotocatalizador [21].

Por otro lado, el uso de agua destilada puede suponer un problema a la hora de trabajar con suspensiones de bacterias y otros microorganismos ya que, aunque elimina la posible interferencia de iones y compuestos orgánicos en el proceso fotocatalítico, supone un escenario de estrés para los organismos vivos. Efectivamente, la ausencia de especies iónicas en el agua provoca a la larga un debilitamiento de la pared celular debido a la pérdida de iones de calcio y magnesio de su superficie. Cuando las paredes de las células se hallan resentidas es más difícil que éstas soporten su presión osmótica interna, la cual es resultado de la diferencia de concentraciones de soluto entre el interior celular y el agua externa. Todo esto provoca una debilidad en la pared de las células que las hace más fáciles de atacar y dañar.

2.4.2. Fuente de luz

La elección de una fuente de luz y de la configuración del reactor pueden variar significativamente. Se ha observado que algunas fuentes de luz provocan (en ausencia de catalizador) una reducción significativa en la concentración de microorganismos. Lo cual ocurre con lámparas que emiten a longitudes de onda inferiores a 300 nm. Además del tipo de luz, la cantidad de fotones emitido es un parámetro importante. Los experimentos realizados con lámparas cuyo flujo estaba entre 100 y 2000 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ occasionaron la desactivación de *E. coli* entre 7 y 120 minutos [21]. Además, los experimentos con radiación solar muestran tiempos de desactivación similares [29, 32].

2.4.3. Radiación solar

El efecto bactericida de la radiación solar fue dado a conocer por Downes y Blunt en 1877 [33]. La franja ultravioleta (UV) del espectro solar que alcanza la superficie terrestre se encuentra confinada a longitudes de onda superiores a 290 nm. La irradiación solar instantánea en una localización determinada depende de la altura solar y puede variar un factor de 2 a 100 [9]. De toda la radiación solar que llega a la superficie de la Tierra, menos de un 10% de la misma es luz UV, de la cual sólo una pequeña parte presenta la capacidad de uso para la desinfección de agua.

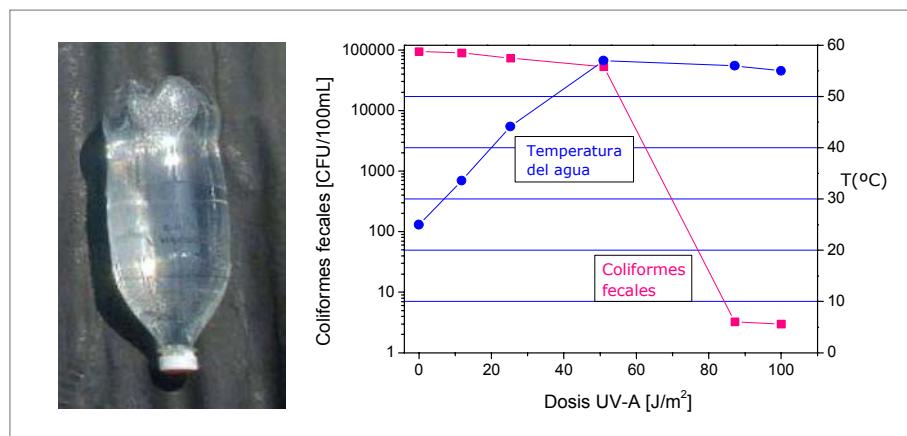
A pesar de ello, existen bastantes trabajos de tratamiento de agua contaminada con compuestos orgánicos y microorganismos basados en el uso exclusivo de la radiación solar [34-36]. Se ha demostrado su capacidad para eliminar una gran cantidad de orgánicos y organismos patógenos evitando la generación de subproductos tóxicos propios de las tecnologías convencionales [34].

La velocidad de desactivación bacteriana por radiación solar es proporcional a la intensidad de radiación y a la temperatura e inversamente proporcional a la profundidad del agua, debido a la dispersión de la luz dentro de la misma. La cantidad de radiación atenuada por este efecto depende del rango de longitudes de onda, por ejemplo, entre 200 y 400 nm la reducción no supera el 5% por metro de profundidad y a longitudes de onda superiores puede alcanzar hasta un 40%/m [37].

Las longitudes de onda más destructivas para las formas de vida microbianas son las del espectro UV-A (320 a 400 nm), mientras que la banda espectral de 400 a 490 nm es la menos dañina [38]. Mientras que no existen diferencias apreciables en la velocidad de inactivación de bacterias a temperaturas comprendidas entre 12 y 40°C, cuando la temperatura sube hasta 50°C la acción bactericida se acelera en un factor de 2, probablemente debido al efecto sinérgico entre radiación y temperatura [39]. El trabajo de Joyce y col. sobre desinfección de agua con bacterias fecales a concentraciones elevadas (10^6 UFC/mL) muestra resultados muy prometedores sobre el efecto bactericida del calentamiento (máximo de 55 °C) por insolación [40].

Una de las aplicaciones de la desinfección solar de agua más interesantes se conoce como proyecto SODIS® («Solar Water Disinfection», fundación SODIS: www.sodis.ch). Consiste en la desinfección de agua disponiéndola en botellas de plástico (PET) de pequeño volumen (1,5-2 L) expuestas a la radiación del sol durante períodos de tiempo de entre 4 y 8 horas, dependiendo del emplazamiento y nivel de radiación. Gracias al efecto bactericida de la radiación y calentamiento solar, se consiguen descensos importantes de concentración de microorganismos, como los 4 órdenes de magnitud de coliformes fecales que se muestran en la figura 2.

Figura 2. Botella de agua expuesta al sol (SODIS). Gráfica de aumento de temperatura y descenso de coliformes fecales en un experimento SODIS.



2.4.4. Catalizador

Cuando una suspensión de microorganismos se halla en presencia de dióxido de titanio y en ausencia de radiación se suele observar un leve descenso de su concentración probablemente a causa de la aglomeración de partículas de TiO_2 y su sedimentación con la posterior pérdida de microorganismos [21].

Aunque la luz por sí sola tiene un efecto bactericida, el TiO_2 en presencia de radiación (solar o con lámparas) inactiva los microorganismos más rápidamente. La mayoría de las investigaciones se han realizado con TiO_2 comercial, el conocido como Degussa-P25 (ver Capítulo 9). También existen algunos trabajos realizados con anatasa y rutilo puros, o con alguna de esas formas dopada con plata, platino, etc.

La forma de utilizar el catalizador puede variar, se puede utilizar en suspensión acuosa, también conocida como *slurry*, o con el catalizador inmovilizado sobre una matriz inerte. La elección de uno u otro modo depende de la finalidad y diseño del fotorreactor. Si el objeto del reactor es suministrar agua para consumo humano lo ideal es utilizar el catalizador soportado o acoplar un sistema de filtración al fotorreactor, ambas formas de trabajo se encuentran aún en fase de estudio. Pero si se desea investigar y optimizar las eficiencias de destrucción fotocatalítica el campo de trabajo es muy amplio y las formas de operación dependen muy estrechamente del diseño del fotorreactor.

De forma general, los procesos fotocatalíticos de compuestos orgánicos con *slurry* de TiO_2 ofrecen mayores eficiencias fotocatalíticas que los realizados con catalizador inmovilizado, debido al aumento de la superficie activa de catalizador. Aunque este mismo efecto podría esperarse en el caso de bacterias y virus y se da en algunas ocasiones [32], no es una regla general. Esto se debe a que la cinética de adsorción sustrato-catalizador que precede a la fotogeneración de especies oxidantes puede asumirse en fotocatálisis de moléculas pero no siempre es válida en el caso de microorganismos por razones de tamaño del catalizador y de la célula.

La concentración de catalizador (en caso de *slurry*) que ofrece la máxima velocidad de inactivación de microorganismos es un tema investigado, sin embargo los resultados dependen en gran medida del diseño del fotorreactor y de la intensidad

de radiación. Evidentemente, la entrada y distribución correcta de fotones dentro del fluido de trabajo será función del paso óptico de los circuitos expuestos a la luz, de la transmisividad UV de los materiales empleados, de la intensidad radiante recibida en cada momento y, en su caso, del comportamiento físico de los concentradores o captadores de luz empleados. Por ello, existen en la literatura tanta variedad de resultados como estudios publicados: Li y col. encuentran un máximo de 2g/L de TiO₂ para la destrucción de *E. coli* y coliformes totales en un reactor anular con iluminación artificial [41]; Bekbölet establece el óptimo de P25 en 1g/L para la desactivación de coliformes en un reactor de agitación con lámparas [42]; el trabajo con fibra óptica de Matsunaga y Okochi determina el óptimo de concentración de TiO₂ a 2,5 mg/L [43], etc. En el caso de un reactor solar utilizando tecnología de concentración tipo CPC la inactivación de *E. coli* es óptima a 50 mg/L de TiO₂, Degussa P25 [32], mientras que el trabajo de Block y col. con radiación solar encuentra el óptimo en 100 mg/L [29].

2.4.5. Concentración inicial de bacteria

La dependencia de la velocidad de inactivación de bacterias por fotocatálisis como función de su concentración inicial obedece normalmente a una cinética de primer orden. Esto se ha probado con coliformes totales, esporas, etc. Dependiendo del tipo de microorganismo, existe un rango de concentraciones dentro del cual la cinética de primer orden se cumple; es habitual encontrar que por debajo de 10³ UFC/mL y por encima de 10¹⁰ UFC/mL la velocidad de destrucción es independiente de la concentración inicial [21]. El mecanismo de la reacción puede expresarse según las ecuaciones (1) o (2) [28, 31], donde r_i es la velocidad inicial de inactivación de bacterias, k es la constante de velocidad, c_i es la concentración inicial y n es el orden de la reacción.

(1)

$$r_i = kc_i^n \quad (2)$$

$$\log r_i = \log k + n \log c_i$$

Representando $\log r_i$ frente a $\log c_i$ se obtiene una pendiente cuyo valor es cercano a uno.

3. Mecanismos de desinfección

A lo largo de la presente Sección, recordaremos y elaboraremos los conceptos desarrollados en el Capítulo 13, ya que en el presente estado de desarrollo de la tecnología de desinfección fotocatalítica, es difícil separar los estudios fundamentales de los desarrollos y aplicaciones prácticas.

Tal y como se ha comentado anteriormente, la mayoría de las técnicas de desinfección utilizan aditivos químicos que provocan la inactivación de los microorganismos mediante reacciones de destrucción oxidativa. Sin embargo existen otros mecanismos de desinfección como el debido a la radiación UV y a la fotocatálisis heterogénea.

3.1. Mecanismo de desinfección por irradiación

Según la ley de Grothius-Draper, sólo los fotones absorbidos son fotones activos. Considerando que la desinfección por irradiación UV es un proceso fundamentalmente fotoquímico, los fotones UV deben ser absorbidos para ser activos. Esta absorción

por la materia celular tiene origen en la absorción de las proteínas y ácidos nucleicos (ADN y ARN) [44].

La destrucción e inactivación de microorganismos se produce cuando existe en ellos una falta de capacidad de multiplicación, como ocurre a los que tienen los ácidos nucleicos dañados. Por este motivo, la curva del efecto germicida de la radiación UV es muy parecida a la de absorción UV-C (220-280 nm) de las distintas bases que componen los ácidos nucleicos [9]. De hecho, la irradiación UV de las bases de los ácidos nucleicos, como la timina, induce la producción de dímeros de timina bloqueando el mecanismo de síntesis de proteínas y deshabilitando la propiedad de replicación de la hélice de la macromolécula de ADN durante el ciclo de división celular [21].

Los dímeros también pueden absorber luz (el dímero de timina absorbe en el azul visible) y reparar el daño provocado por la radiación UV, volviendo a su estructura inicial de ácido nucleico. Se conocen además mecanismos de reparación enzimática como por ejemplo los llevados a cabo por las enzimas UV-exonucleasa y la ácido nucleico-polimerasa. Sin embargo, los mecanismos de reparación no son universales, existen muchos microorganismos que no presentan esta capacidad (*Haemophilus influenzae*, *Diplococcus pneumoniae*, *Bacillus subtilis*, *Micrococcus radiodurans* y todo tipo de virus) mientras que otros sí (*Streptomyces*, *E. coli* y otras enterobacterias, etc.) [45]. Los efectos de post-recrecimiento en oscuridad se han estudiado en muchos microorganismos tras la desinfección UV y se ha encontrado que no se producen si la concentración de carbono disuelto en el agua es suficientemente baja (inferior a 1 mg/L), aunque este es un tema que debe seguir estudiándose [45].

3.2. Mecanismos de destrucción celular por fotocatálisis

Existen muchos trabajos sobre destrucción fotocatalítica de diversos tipos de microorganismos. Sin embargo, el modo de acción del TiO₂ durante la inactivación o muerte celular no se conoce demasiado, a pesar de que su dominio es fundamental para el desarrollo de este proceso como tecnología alternativa de desinfección de aguas.

En la literatura se han propuesto distintos mecanismos posibles de inactivación celular durante la fotocatálisis. El primero fue ideado por el equipo de Matsunaga [23], que demostró la oxidación de la coenzima A (CoA) en presencia del sistema TiO₂/Pt irradiado con lámparas y atribuyó un descenso en la actividad respiratoria y la posterior muerte celular de la *S. cereviciae* (levadura) a la pérdida de los niveles de CoA. Además, la acción fuertemente oxidativa de distintas especies generadas en la superficie de las partículas de TiO₂ iluminadas no es selectiva, por lo que es lógico suponer que la membrana celular sea progresivamente oxidada perdiendo su cualidad semipermeable y permitiendo la fotooxidación de sus componentes internos, como la CoA [21].

La destrucción total o parcial de la pared celular parece ser uno de los pasos clave en la destrucción de la vida de las células mediante las especies oxidativas generadas en la fotocatálisis, tal y como proponen Saito y sus colaboradores a partir de los resultados de su trabajo con el *Streptococcus sobrinus* AHT [46]. El trabajo de Sakai con células tumorales (T24) demuestra un mecanismo similar, comprobando que las partículas de TiO₂ se disponen en la membrana externa de las células y en el

citoplasma. El segundo caso puede deberse a la fagocitosis celular, que es un mecanismo de defensa según el cual las células engullen material ajeno para su posterior digestión [47-48]. Los autores de este trabajo atribuyen las causas de la muerte celular al ataque oxidativo de las especies fotogeneradas a partir del TiO₂ de los lípidos insaturados de la membrana. Otros investigadores también encuentran indicios de que la fotocatálisis con TiO₂ induce la ruptura de la membrana celular y la posterior muerte de microorganismos como la bacteria *E. coli* [49]. Aparte de la pared celular, existe otra posible causa de muerte, ésta es el efecto destructivo que sobre el ARN y ADN tiene la oxidación fotocatalítica, sobre todo debido a causa de los radicales hidroxilo [50].

4. Metodología de trabajo

4.1. Elaboración de cultivos

Muchos trabajos de investigación dedicados al tratamiento de aguas trabajan con aguas contaminadas reales, por lo que en ese caso la dificultad del trabajo experimental radica en la identificación y cuantificación de los diversos tipos de bacterias que coexisten en la misma muestra. Para ello se utilizan medios de cultivo selectivos y protocolos muy específicos de incubación (ver Capítulo 2). Sin embargo, el procedimiento habitual del trabajo de investigación con agua contaminada con bacterias consiste en la preparación de suspensiones artificiales mediante la elaboración de cultivos de las mismas a partir de cepas obtenidas de las instituciones o empresas que la aislan, conservan y comercializan.

Dependiendo del tipo de bacteria las condiciones de cultivo varían (medio, temperatura y tiempo de incubación). Por ser muy común, se indica a continuación el protocolo de cultivo de la bacteria *Escherichia coli*. Éste consta de 20 g/L de medio *Luria Broth* ó *LB*, que a su vez contiene en % de peso: 50 % peptona de caseína, 25 % de extracto de levadura y 25 % de NaCl. El cultivo en medio sólido es necesario cuando se realiza la inoculación de muestras de agua o diluciones de las mismas para la posterior cuantificación y análisis de resultados (sección 14.5.5). El medio sólido para *E. coli* se prepara con agar 15 g/L, peptona de caseina 10 g/L, extracto de levadura 5 g/L, NaCl 5 g/L, pH = 7.0.

A partir de un cultivo anterior, o del cultivo madre, de *E. coli* en medio sólido se toma una pequeña cantidad de bacterias para dispersarla en un determinado volumen de líquido nutriente. Esta suspensión debe mantenerse en continua agitación orbital a una temperatura constante de 37°C (en un incubador) dentro de un frasco cuya cámara de aire le permita una aireación correcta (crecimiento aeróbico) en una atmósfera estéril durante 18-20 horas. Transcurrido ese tiempo, la suspensión se habrá desarrollado hasta alcanzar las condiciones de equilibrio basal y una concentración próxima a 10⁹ UFC/mL. Mediante la realización de medidas de Densidad Óptica a 600 nm puede comprobarse la concentración.

268

La preparación de suspensiones de bacterias en agua para los experimentos requiere la eliminación del medio nutriente mediante lavado del cultivo. Para ello, se suele centrifugar éste 3 veces durante 15 minutos a 3.000 r.p.m. eliminando el sobrenadante y resuspendiendo el pellet en agua ultrapura o destilada esterilizada. Finalmente, el pellet se resuspenderá en agua esterilizada o en una disolución acuosa

para obtener la concentración de bacterias deseada en el reactor. Cuando se utilizan concentraciones de bacterias suficientemente bajas (100-1000 UFC/mL) no es necesario llevar a cabo el procedimiento de lavado del cultivo pues el factor de dilución es tan alto que se puede suponer despreciable la cantidad de nutrientes que permanecen en el medio.

4.2. Preparación de experimentos y manipulación de muestras

Al empezar cada ensayo los colectores solares del fotorreactor deben estar tapados para evitar la entrada de radiación antes de tiempo. Las suspensiones de bacterias se inocularán en condiciones de esterilidad en el agua del fotorreactor antes de añadir el catalizador para poder determinar antes la cantidad inicial de microorganismos. Tras recircular en oscuridad la suspensión anterior se añade el TiO₂ en polvo o previamente dispersado en un pequeño volumen de agua esterilizada. Si el catalizador se halla inmovilizado sobre una matriz sólida, ésta se habrá introducido convenientemente en el reactor antes de llenarlo.

El experimento solar dará comienzo al quitar la cubierta de los colectores. Las muestras se tomarán y manipularán en el laboratorio según un programa de tiempos predeterminado.

La radiación solar UV debe medirse con un radiómetro de UV global colocado próximo al fotorreactor y con la misma inclinación del colector solar. De este modo se obtiene la cantidad de energía radiante UV solar que por unidad de tiempo y superficie (W_{UV} m⁻²) incide sobre el sistema de captación.

La manipulación de muestras ha de ser muy cuidadosa. Deben tomarse en condiciones de esterilidad. Para ello la toma de muestra del reactor ha de ser estéril o limpiarla convenientemente antes y después de cada toma. El frasco de muestreo y todo el material de trabajo en el laboratorio debe ser esterilizado (comprado o esterilizado en autoclave durante 20 minutos a 121°C). En caso necesario, las diluciones de las muestras se harán sobre agua ultrapura o autoclavada y se inocularán sobre el medio sólido, haciendo todo ello en una cabina de flujo laminar perfectamente esterilizada (con radiación UV, limpieza con desinfectante apropiado o con etanol al 70%). El número de microorganismos viables en cada muestra se determinará y evaluará aplicando el método de detección y enumeración elegido.

Como en todo tipo de experimentación, hay que trabajar con precisión y sistema, pero en el caso de la desinfección con fotorreactores solares es necesario extremar precauciones ya que la introducción de errores es más probable al tratarse de organismos vivos, reactores de intemperie y grandes volúmenes de trabajo. Por ello, es importante determinar el límite de detección del método de cuantificación y repetir los experimentos al menos dos veces (a menudo tres) para asegurar la reproducibilidad de los resultados.

4.3. Cinéticas de desinfección

La expresión básica que define la cinética de los procesos de desinfección es la equivalente a una reacción de primer orden: $C_t = C_0 e^{-k_1 t}$, donde C_t y C_0 son respectivamente la concentración volumétrica de microorganismos tras un tiempo de exposición t y antes de dicha exposición (tiempo 0), expresadas en UFC/mL, y k_1 es

una constante expresada en s^{-1} . Cuando se utiliza un desinfectante químico o irradiación (de intensidad I , $W\ m^{-2}$), la reacción se convierte en un proceso de segundo orden aparente [9]. Esta se conoce como ley de Bunsen-Roscoe e indica que el nivel de desinfección se relaciona con una ecuación de primer orden a una dosis de exposición $[It]$:

$$C_t = C_0 \exp - k[It] \quad (3)$$

En caso de utilizar energía radiante, el término $[It]$ se conoce como «dosis» y coincide con la energía radiante por unidad de superficie o potencia de irradiación ($J\ m^{-2}$). En teoría, la dosis activa es la dosis absorbida [9].

Las constantes cinéticas de los procesos photocatalíticos pueden ser obtenidas mediante la representación de la concentración del compuesto contaminante (detoxificación) o de microorganismos (desinfección) en función de tres variables independientes distintas: tiempo, radiación incidente dentro del reactor y flujo fotónico absorbido por el catalizador. Dependiendo del procedimiento, la complejidad de estas magnitudes varía tanto como su aplicabilidad.

Cuando se usa el flujo fotónico absorbido por el catalizador como variable independiente, la extrapolación de los resultados es mejor. Sin embargo, deben ser conocidos para esto algunos parámetros como los fotones incidentes que pasan a través del reactor sin interacción con el catalizador, la dirección de la luz dispersada, la distribución de tamaño de las partículas suspendidas en el líquido, etc., lo cual puede ser muy complicado dependiendo del diseño del reactor.

El uso del tiempo experimental como unidad de cálculo es una elección correcta cuando la fuente de radiación proporciona una intensidad constante (lámpara en buen estado), pero si el fotorreactor tiene elementos no iluminados podría originar errores en la interpretación de los resultados. Está claro que, si se utiliza el sol como fuente de fotones, el tiempo experimental no será una buena elección para evaluar cinéticas ya que la intensidad de radiación varía en cada instante y posición.

La experimentación photocatalítica con fotorreactores de gran tamaño (volumen igual o superior a 50 L) requiere mucha instrumentación y el reactor debe ser también lo más versátil posible, lo cual incrementa sustancialmente su volumen no iluminado. Usando el tiempo de residencia, que es el tiempo que el agua está expuesta a la radiación, las conclusiones serían también erróneas. Esto es debido a que cuando el tiempo es la variable independiente, las variaciones en la radiación incidente en el reactor durante un experimento no son tomadas en cuenta.

4.4. Evaluación de la radiación UV

La radiación solar UV (ver Capítulos 6 y 7) es un parámetro esencial para la evaluación correcta de los datos obtenidos durante los experimentos photocatalíticos de desinfección solar de agua. Goslich y col. [51] propusieron una aproximación matemática muy útil para el tratamiento de los datos obtenidos en experimentos solares reales usando una relación entre la concentración de sustrato (C_i), el tiempo experimental (t), el volumen total del fotorreactor (V_r), la superficie iluminada de los colectores solares (A_r) y la densidad de la radiación UV global en el emplazamiento

(UV_G , $W_{UV} m^{-2}$) medida por un radiómetro. De este modo, recogiendo de forma continua los datos de radiación UV global donde se halla el fotorreactor se puede determinar la radiación incidente media sobre la superficie del colector ($UV_{G,n}$) en un periodo de tiempo (t) tal como indica la ecuación (4). En lugar de usar E_{UV} Malato y col. propusieron el uso de Q_{UV} , que se ajusta mejor al término de energía radiante (Q) recomendado por la IUPAC [52].

$$Q_{UV,n} = Q_{UV,n-1} + (t_n - t_{n-1}) UV_{G,n} A_r / V_t \quad (4)$$

donde t_n es el tiempo experimental de cada muestra y $Q_{UV,n}$ es la energía acumulada por unidad de volumen ($kJ L^{-1}$) incidente en el reactor para cada muestra tomada durante el experimento.

En el caso de desinfección, la ecuación cinética que antes se introducía en función del tiempo, ahora se redefiniría como función de Q_{UV} , ecuación (5) de modo que la forma de expresar la velocidad de desinfección o de desactivación de microorganismos podría ser la definida en la ecuación (6) (r_Q) lo cual es consistente con r (dC/dt), de uso general en la comunidad científica, para expresar la velocidad de reacción.

$$C_t = C_0 \exp - k' Q_{UV} \quad (5)$$

$$r_Q = - dC_t / dQ_{UV} \quad (6)$$

4.5. Métodos de Detección y Enumeración de Indicadores de Microorganismos

Uno de los análisis básicos de microorganismos en agua es el test de Presencia/Ausencia que, como su mismo nombre indica, determina la existencia o no de un gran número de bacterias en agua. Tal y como se comercializa no puede ser utilizado directamente para la cuantificación de las mismas. Se basa en el desarrollo de cierto color debido a la producción de un ácido en presencia de un indicador químico. El desarrollo de este color también puede deberse a una actividad enzimática específica bacteriana en presencia de sustratos cromogénicos y fluorogénicos adecuados. Las tres técnicas comúnmente conocidas como indicadores de bacterias para detectarlas y cuantificarlas de forma sistemática, el Número Más Probable (Most Probable Number, MPN), el Método de Filtrado con Membrana (Membrane Filtration, MF), y la Técnica de Conteo en Placas de Agar (muestra extendida o vertida), se han descrito en el Capítulo 2.

5. Experiencias con reactores solares para desinfección de agua

En el ámbito de la desinfección solar, es interesante la idea desarrollada por Caslake y col., pensada para su aplicación en comunidades aisladas de países en vías de desarrollo. Utilizan un sistema de desinfección solar basado en un circuito de PVC cubierto por una placa acrílica transparente a la radiación UV. No emplean photocatalizador y trabajan con aguas contaminadas de río. A pesar de los problemas que causa la turbidez del agua, consiguen bajar 4 potencias de 10 la concentración de coliformes totales [37].

También se utiliza el calentamiento solar en el trabajo de Kehoe y col. [53], donde inactivan suspensiones artificiales de *E. coli* en botellas (PET) de agua, mostrando que el efecto de la turbidez es un factor limitante de la eficiencia del proceso. Del mismo modo, pero añadiendo TiO_2 inmovilizado sobre distintos soportes Gelover y col. consiguen eficiencias fotocatalíticas parecidas a las de suspensiones de TiO_2 [54].

Una de las experiencias pioneras en desinfección por fotocatálisis solar en planta piloto fue la llevada a cabo por Vidal y col. Para ello utilizaron concentradores solares CPC de bajo coste en un fotorreactor de $4,5 \text{ m}^2$ de área iluminada y 25 L de volumen total. Demostraron la desactivación de *E. coli* y *E. faecalis* consiguiendo un descenso de 4 potencias de 10 durante un tiempo de exposición a la luz solar de unos 20 minutos. Además, basándose en el cálculo económico de una planta de tratamiento de 500 m^2 demostraron que esta tecnología podría ser competitiva [55-56].

A escala de planta piloto cabe destacar también el trabajo de Fernández y col., donde se estudian experimentalmente los parámetros de operación más importantes de una planta piloto de desinfección de aguas [32]. Demuestran que mientras que en 1 hora la radiación solar provoca un descenso de 10^4 UFC/mL de *E. coli* hasta 0, la presencia de 50 mg de TiO_2 en suspensión reduce seis veces el tiempo necesario para la misma inactivación. A esta escala, la influencia del caudal es un factor muy

Figura 3. Inactivación de *E. coli* a tres caudales distintos (22.5, 13.0 y 5.0 L/min) en un fotorreactor CPC. Izquierda: en oscuridad y con luz (sin catalizador). Derecha: con luz en presencia y ausencia de catalizador [32].

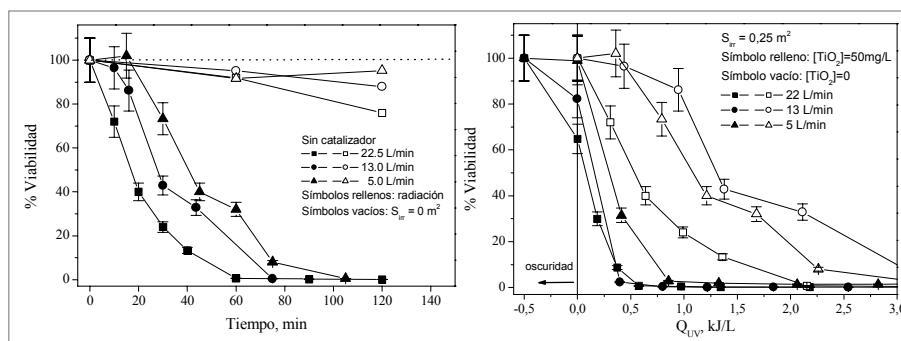
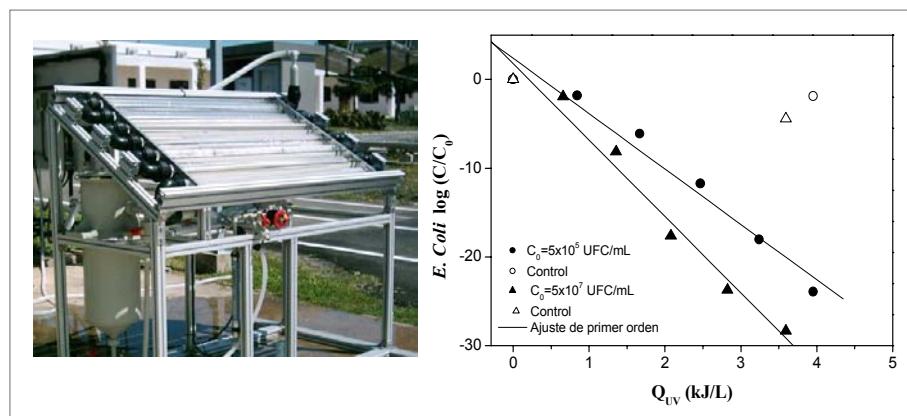


Figura 4. Inactivación de *E. coli* frente a Q_{UV} en un fotorreactor solar CPC. Izquierda: Evaluación de distintas concentraciones de TiO_2 en suspensión. Derecha: Comparación de suspensión de TiO_2 , 50 mg/L con catalizador soportado sobre matriz de celulosa (papel Ahlstrom 19,3 g- TiO_2/m^2) en dos usos fotocatalíticos [32].

importante trabajando con microorganismos, ya que el estrés de la agitación mecánica sobre ellos puede debilitarlos (figura 3). En este tipo de fotorreactor el óptimo de concentración de TiO_2 se encuentra a unos 50 mg/L, aunque no existen diferencias sustanciales con otras concentraciones evaluadas (25-500 mg/L) tal y como se observa en la figura 4 (izquierda). Sin embargo, sí existe diferencia entre la cinética del proceso llevado a cabo con suspensiones y con catalizador soportado (figura 4, derecha) [32].

Gracias a los fondos de los proyectos europeos de investigación *SOLWATER* (Contrato N° ICA4-CT-2002-10001) y *AQUACAT* (Contrato N° ICA3-CT2002-10016), destinados al desarrollo de un sistema solar de descontaminación de aguas para su implantación en zonas aisladas de países sudamericanos y de la cuenca mediterránea, se ha construido en la Plataforma Solar de Almería (CIEMAT, España) un prototipo de fotorreactor solar para desinfección basado en el uso de TiO_2 soportado sobre matrices de celulosa (figura 5, izquierda). En él se han realizado diversos experimentos de inactivación de *E. coli*, como el que se muestra en la figura 5 (derecha). Utilizando catalizador inmovilizado sobre matrices de celulosa, se ha probado que la cinética de desinfección en este caso también es de primer orden.

Figura 5. Izquierda: Prototipo de fotorreactor solar *SOLWATER*. Derecha: Cinéticas de desinfección de *E. coli* por fotocatálisis con TiO_2 inmovilizado a dos concentraciones iniciales de bacteria distintas.



6. Legislación aplicable

Según la Directiva del Consejo Europeo 98/83/EC de 3 de noviembre, sobre calidad de agua destinada a consumo humano, el valor límite de concentración de bacterias tipo *E. coli* y Enterococos en agua potable es 0 UFC/100 mL.

La Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (USEPA) establece límites similares. Según las normas actuales de la USEPA para el agua de consumo humano, vigentes desde el 31 de diciembre de 1990, el número total máximo permitido de coliformes y *E. coli* en agua es de 0 UFC/100 mL. Normalmente, se evalúa la presencia o ausencia de coliformes totales, ya que este tipo de test ofrece resultados rápidos y fiables. Cuando las muestras de agua arrojen un resultado de coliformes totales positivo se debe analizar la presencia de coliformes fecales y de *E. coli* y si éstas se hallan en el agua, debe notificarse a los organismos responsables [9].

De acuerdo con las directrices que establece la Organización Mundial de la Salud (OMS), el número total de coliformes fecales ha de ser cero en cualquier tipo de fuente de suministro de agua, sea canalizada o no canalizada, tratada o sin tratar [1].

Referencias

- [1] P.R. Hunter, M. Waite y E. Ronchi, *Drinking Water and Infectious Disease. Establishing the Links*, CRC Press, London, (2003).
- [2] OECD, *Executive Summary of the Basingstoke 2000 Expert Group Meeting on Approaches for Establishing Links between Drinking Water y Infectious Diseases*, (2000).
- [3] J.R. Guimarães, J. Ibáñez, M.I. Litter y R. Pizarro, *Desinfección de Agua*. En: *Eliminación de Contaminantes por Fotocatálisis Heterogénea*, Editor Blesa, M.A., Red CYTED VIII-G, (2001).
- [4] P.P. Chen y G.B. Rest, *Public Works*, 36, (1996).
- [5] G.R. Finch, E.K. Black y L.L. Gyurek, Proc. AWWA Water Quality Technology Conference, San Francisco (U.S.), 1303, (1995).
- [6] T.F. Marhaba y M.B. Washington, *Adv. Environmental Research*, 2(1), 103, (1998).
- [7] S.D. Richardson, *Trend Anal. Chem.*, 22(10), 666, (2003).
- [8] S.D. Richardson, *Drinking Water Disinfection By-Products*, en *Encyclopedia of Environmental Analysis y Remediation*, John Wiley & Sons, New York, (1998).
- [9] W.J. Masschelin, *Use of Ultraviolet for Disinfection of Drinking Water*, en *Ultraviolet Light in Water y Wastewater Sanitation*, Editor Rice, R.G. 59-112, Lewis Publishers, Florida, (2002).
- [10] D.W. Bahnemann, J. Cunningham, M.A. Fox, E. Pelizzetti y N. Serpone, «*Photocatalytic Detoxification of Polluted Aquifers: Novel Catalyst y Solar Applications*» y «*Photocatalytic Treatment of Water*» en *Aquatic y Surface Photochemistry*, G.R. Helz, R.G. Zepp y D.G. Crosby (eds.), Lewis Publishers, 349-368 y 261-316, (1994).
- [11] R. Bauer, G. Waldner, H. Fallmann, S. Hager, M. Klare, T. Krutzler, S. Malato y P. Maletzky, *Catalysis Today*, 53, 131, (1999).
- [12] J. Blanco y S. Malato (Eds.), *Solar Detoxification*, UNESCO Publishing, Renewable Energies series, (2003).
- [13] T. Zhang, T. Oyama, S. Horikoshi, J. Zhao, H. Hidaka y N. Serpone, *Solar Energy*, 71(35), 305, (2001).
- [14] J.A. Ajona y A. Vidal, *Solar Energy*, 68(1), 109, (2000).
- [15] J. Blanco, S. Malato, P. Fernández, A. Vidal, A. Morales, P. Trincado, J.C. Oliveira, C. Minero, M. Musci, C. Casalle, M. Brunotte, S. Tratzky, N. Dischinger, K.H. Funken, C. Sattler, M. Vincent, M. Collares-Pereira, J.F. Mendes y C.M. Rangel, *Solar Energy*, 67(4-6), 317, (2000).
- [16] P.S. Mukherje y A.K. Ray, *Chem. Eng. Technol.*, 22, 253, (1999).
- [17] A. Chapelon y J.M. Herrman, *Applied Catalysis B: Environmental*, News Brief 50, N2- June 30, (2004).
- [18] A. Mills y S: Le Hunte, *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.*, 108, 1, (1997).
- [19] M.R. Hoffmann, S.T. Martin, W. Choi y D.W. Bahnemann, *Chem. Rev.*, 95, 69, (1995).
- [20] M.A. Fox y M.T. Dulay, *Chem. Rev.*, 93, 341, (1993).
- [21] D.M. Blake, P.C. Maness, Z. Huang, E.J. Wolfrum y J. Huang, *J. Separation and Purification Methods*, 28(1), 1-50, (1999).
- [22] J.B. Neiland, *Ann. Rev. Microbiol.*, 36, 285, (1982).
- [23] T. Matsunaga, R. Tomoda, T. Nakajima y H. Wake, *FEMS Microbiol. Lett.*, 29(1-2), 211, (1985).
- [24] R. Cai, K. Hashimoto, K. Itoh, Y. Kubota y A. Fujishima, *Bull. Cherm. Soc. Jpn.*, 64, 1268, (1991).
- [25] H. Sakai, R. Baba, K. Hashimoto, Y. Kubota y A. Fujishima, *Chem. Lett.*, 185, (1995).
- [26] D.Y. Goswami, *J. Solar Energy Eng.*, 119, 101, (1997).
- [27] P. Zhang, R.J. Scrudato y G. Germano, *Chemosphere*, 28, 607, (1994).
- [28] C. Wei, W.Y. Lin, Z. Zainal, N.E. Williams, K. Zhu, A.P. Kružic, R.L. Smith y K. Rajeshwar, *Environ. Sci. Technol.*, 28, 934, (1994).
- [29] S.S. Block, V.P. Seng y D.W. Goswami, *J. Sol. Energy Eng.*, 119, 85, (1997).
- [30] A.G. Rincón y C. Pulgarín, *Applied Catalysis B: Environmental*, 51, 283, (2004).
- [31] A.G. Rincón y C. Pulgarín, *Applied Catalysis B: Environmental*, 49, 99-112 (2004b).
- [32] P. Fernández, J. Blanco, C. Sichel y S. Malato, *Catalysis Today*, (en prensa, 2005).

- [33] A. Downes y T.P. Blunt, *Proc. R. Soc.*, 26, 488, (1877).
- [34] J. Calkins, J.D. Buckles y J.R. Moeller, *J. Photochem. Photobiol.*, 24, 49, (1976).
- [35] R.M. Conroy, M. Elmore-Meegan, T. Joyce, K.G. McGuigan y J. Barnes, *Lancet*, 348, 1695, (1996).
- [36] N. Safapour y R.H. Metcalf, *Appl. Environ. Microbiol.*, 65, 859, (1999).
- [37] L.F. Caslake, D.J. Connolly, V. Menon, C.M. Duncanson, R. Rojas y J. Tavakoli, *Applied y Environmental Microbiology*, 70(2), 1145, (2004).
- [38] J. Jagger, *Solar-UV actions on living cells*, Praeger Publishers, New York, (1985).
- [39] M. Wegelin, S. Canonica, K. Mechsnner, T. Fleischmann, F. Pesaro y A. Metzler, *J. Water Supply Res. Technol.*, AQUA, 43, 154, (1994).
- [40] T.M. Joyce, K.G. McGuigan, M. Elmore-Meegan y R.M. Conroy, *Appl. y Environmental Microbiology*, 62, 399, (1996).
- [41] X.Z. Li, M. Zhang y H. Chua, *Water Sci. Technol.*, 33(3), 111, (1996).
- [42] M. Bekbölet, *Water Science y Technology*, 35, 95–100, (1997).
- [43] T. Matsunaga y M. Okochi, *Environ. Sci. Technol.*, 29, 501-505, (1995).
- [44] J.R. Bolton, Light compendium-ultraviolet: principles y applications – USEPA – Newsletter, 66, 9, (1999).
- [45] H. Bernhardt y col., *Wasser-Abwasser*, 133, 632, (1992).
- [46] T. Saito, T. Iwase, J. Horie y T.J. Morioka, *Photochem. Photobiol. B*, 14, 369, (1992).
- [47] H. Sakai, R. Cai, T. Kato, K. Hashimoto, A. Fujishima, Y. Kubota, E. Ito y T. Yoshioka, *Photomed. Photobiol.*, 12, 135, (1990).
- [48] H. Sakai, E. Ito, R.X. Cai, T. Yoshioka, Y. Kubota, K. Hashimoto y A. Fujishima, *Biochim. Biophys. Acta*, 1201, 259, (1994).
- [49] K. Sunada, Y. Kikuchi, K. Hashimoto y A. Fujishima, *Environ. Sci. Technol.*, 32(5), 726, (1998).
- [50] H. Hidaka, S. Horikoshi, N. Serpone y J. Knowland, *J. Photochem. Photobiol. A*, 111, 205, (1997).
- [51] R. Goslich, D. Bahnemann, H.W. Schumacher, V. Benz y M. Müller, *Solar Thermal Concentrating Technologies*, M. Becker y M. Böhmer (eds.), 1337-1353, (1997).
- [52] S. Malato, J. Blanco, M.I. Maldonado, P. Fernández-Ibáñez y A. Campos, *Applied Catalysis B: Environ.*, 28, 163, (2000).
- [53] S.C. Kehoe, T.M. Joyce, P. Ibrahim, J.B. Gillespie, R.A. Shahar y K.G. McGuigan, *Water Research*, 35(4), 1061, (2001).
- [54] S. Gelover, P. Mondragón y A. Jiménez, *J. Photochem. & Photobiol. A: Chem.*, 165, 241, (2004).
- [55] A. Vidal, y A.J. Díaz, *Wat. Env. Res.*, 72(3), 271, (2000).
- [56] A. Vidal, A.I. Díaz, A. El Hraiki, M. Romero, I. Muguruza, F. Senhaji y J. González, *Catalysis Today*, 54, 183, (1999).

