

Desinfección de agua por fotocatálisis. Aspectos básicos

*Ángela Guiovana Rincón¹,
Sonia Azucena Giraldo^{1,2} y César Pulgarín¹*

¹Laboratoire de Biotechnologie Environnementale (LBE),
Faculté Environnement Naturel et Construit (ENAC), École
Polytechnique Fédérale de Lausanne (EPFL), CH 1015
Lausanne, Suiza. Correo electrónico: angela.ricon-
benavides@epfl.ch; ²Centro de Investigaciones en Catáli-
sis (CICAT), Escuela de Ingeniería Química, Universidad In-
dustrial de Santander, A.A. 678, Bucaramanga, Colombia.

1. Introducción

Un tema importante relacionado con el agua potable y la de irrigación, especialmente en países en vía de desarrollo, es la presencia de microorganismos nocivos en el agua. En estos países los tratamientos de aguas servidas son a menudo inadecuados o inexistentes. El consumo de agua aun con contenidos bajos de microorganismos patógenos y compuestos tóxicos puede producir enfermedades graves, así como desórdenes crónicos en la salud debido a mutaciones genéticas que conducen a desarrollo de cáncer.

En Latino América, el 8% de las muertes de menores de 5 años son debidas a enfermedades diarreicas, de las cuales el 4,45% son causadas por infecciones provenientes del agua [5]. En los países en vía de desarrollo el método más utilizado para la obtención de agua potable y la prevención del riesgo por ingestión de microorganismos patógenos es la cloración del agua. Rook [1] detectó en el agua potable clorada la existencia de subproductos generados por reacción del cloro con la materia orgánica natural (NOM). Estos subproductos de la desinfección, llamados DBP (desinfection by-products), son principalmente trihalometanos (THM), ácidos haloacéticos y haloacetnitrilos. Los THM son potencialmente dañinos para la salud humana (mutaciones, cánceres, disfunción hormonal) [2-4]. La concentración de tales compuestos depende de la carga de NOM presente en el agua sin desinfectar. Particularmente en pequeñas comunidades y áreas rurales, la desinfección del agua con cloro es el único procedimiento disponible para obtener agua potable. Sin embargo, la cloración del agua no siempre se implementa con éxito en estas zonas, debido a problemas financieros que conducen a una desinfección intermitente, mala dosificación o una operación ineficiente y sin mantenimiento. En consecuencia, en pequeñas comunidades donde el proceso de desinfección no se realiza en condiciones óptimas, el riesgo químico debido a la generación de los DBP es muy alto. Este riesgo químico no solamente se debe a la cloración del agua sino también a la

presencia de una gran variedad de compuestos orgánicos e inorgánicos provenientes de las actividades agroindustriales. Entre estos contaminantes están los plaguicidas que debido a sus características químicas, a menudo son contaminantes resistentes a la biodegradación.

La fotocatalisis es una tecnología que podría aportar soluciones innovadoras para la desinfección del agua. Así, por ejemplo, la aplicación de un sistema fotocatalítico después de un tratamiento físico como la filtración, representa un acople con gran potencial para eliminar tanto los microorganismos como la NOM presentes en el agua. La degradación de una parte de la NOM por fotocatalisis limitará la formación de THM, en el caso de aplicar una cloración después del proceso fotocatalítico, para mantener la calidad del agua durante su almacenamiento.

Cuando un semiconductor tal como el TiO_2 se pone en contacto con agua y se irradia con luz ultravioleta (UV) cercana ($\lambda < 385 \text{ nm}$), después de la absorción de radiación, se generan los pares electrón/hueco, producidos en la banda de conducción y la banda de valencia respectivamente (ver Capítulo 9). Estas entidades participan en una serie de reacciones de oxidorreducción en fase adsorbida, principalmente con el agua, dando lugar a especies oxidantes tales como los radicales hidroxilos ($\cdot\text{OH}$), que son altamente activos tanto en la oxidación de sustancias orgánicas [6] como en la desactivación de bacterias y virus [7].

La aplicación de fotocatalisis, utilizando TiO_2 irradiado, en la desinfección del agua ha crecido en los últimos 12 años (1992-2004). Se encontraron cerca de 100 publicaciones en este periodo, con el más alto número de publicaciones en 2003 (15 publicaciones) y una tendencia al aumento en 2004. En los dos últimos años cerca de 20 laboratorios de todo el mundo han publicado sobre este tema.

Uno de los tópicos más investigados es la cinética de la desinfección, focalizada en la utilización de TiO_2 dopado con iones metálicos y aplicación de un campo eléctrico que acelera la desinfección del agua [8]. A nivel de laboratorio, la *Escherichia coli* (*E. coli*) se ha utilizado como microorganismo modelo en la mayoría de los estudios de desinfección del agua con luz UV ($200 < \lambda < 400 \text{ nm}$) o con lámparas que simulan la luz solar [9-11]; algunos estudios se realizaron con luz solar real [12-15]. Se usaron diferentes tipos y tamaños de reactores, con TiO_2 en suspensión, se han utilizado con este mismo propósito: fotorreactores *batch* con volúmenes entre 10 y 50 mL [16-18], reactores con lámpara inmersa [19], reactores coaxiales [20, 21]. En otros casos, se fijó el TiO_2 sobre placas de vidrio [22], sobre tubos de sílica [23] y sobre superficies plásticas [24].

Entre las investigaciones relacionadas con los mecanismos de desactivación se encuentran aquellas que estudian los trastornos en la pared celular del microorganismo [25-27], [28-31]; otras que evidencian trastornos en la parte interna del microorganismo, o que han estudiado la oxidación de componentes intracelulares [32-35], o la oxidación total de la bacteria [27, 36] e identifican y analizan el papel de las especies oxidantes reactivas [37-39].

Basándonos en la experiencia adquirida durante los últimos 5 años, en el Laboratorio de Biotecnología Ambiental (LBE) de la EPFL (Suiza), se pretende dar a conocer mediante estas notas, algunos aspectos fundamentales que intervienen en la desinfección del agua empleando un tratamiento fotocatalítico.

2. Aspectos metodológicos y/o experimentales

En esta sección se presenta la metodología experimental empleada para el análisis de diferentes parámetros de interés en el proceso de fotodesinfección.

2.1. Sistemas utilizados para los ensayos de desinfección

Sistema con reactor Batch

Se utiliza como reactor *batch* un frasco de vidrio Pyrex de 50 mL (3 cm de diámetro y 5 cm de altura); éste se pone sobre una placa de agitación magnética, dentro de una cámara recubierta con aluminio, que refleja en todas las direcciones (Hanau Suntest, AM1), provista de una lámpara de xenón, que posee una distribución espectral de luz, con cerca de 0,5% de fotones emitidos a longitudes de onda menores que 300 nm y cerca de 7% entre 300 y 400 nm. El espectro entre 400 y 800 nm simula el espectro solar. Esta cámara está provista de un sistema para fijar la intensidad de la luz en un valor determinado, tiene facilidades para la toma de muestras durante el tiempo de ensayo, y ventilación constante. Los experimentos comienzan a temperatura ambiente, que aumenta progresivamente hasta alrededor de 32°C. Mediante el uso de filtros, el espectro de la luz se puede cortar en un valor de λ definido. Se pueden usar varios reactores al mismo tiempo. Las medidas de la radiación se hacen con un fotodiodo YSI.

En este sistema experimental se realizaron la mayoría de los ensayos de desinfección descritos en estas notas.

Sistema con un reactor Cilindro-Parabólico Compuesto (CPC)

El fotorreactor tipo CPC es un sistema estático con una superficie que refleja describiendo una involuta enfocada hacia el eje de un tubo. El reflector está diseñado de tal manera que toda la radiación UV (no sólo directa sino también difusa) que llega a su superficie puede colectarse y se utiliza para el proceso en el reactor (ver Capítulo 8). La luz UV reflejada por el CPC se distribuye por detrás del fotorreactor tubular y así la mayoría de la circunferencia del tubo reactor se ilumina. El CPC utilizado tiene tres módulos (superficie colectora de 3,08 m², volumen del fotorreactor de 24 litros y un volumen total de 70 litros). Cada módulo consiste de 8 tubos montados sobre una plataforma fija inclinada 46° (latitud local). Los tres módulos están conectados en serie y a través de ellos circula agua a un flujo determinado, pasando por un tanque de recirculación conectado a una bomba centrífuga.

Durante los experimentos, la radiación ultravioleta se determina por medio de un radiómetro de UV global (KIPP & ZONEN modelo CUV3), y que también está montado sobre una plataforma con 46° de pendiente (igual ángulo que el CPC). El radiómetro provee datos en términos de potencia de energía solar UV global incidente por unidad de área (UV_G en W_{UV}/m^2). La potencia solar UV varía durante los experimentos. La combinación de datos de varios días y su comparación con otros experimentos fotocatalíticos se hace aplicando la ecuación (1).

$$Q_{UV,n} = Q_{UV,n-1} + \Delta t_n \overline{UV}_{G,n} \frac{A_{CPC}}{V_{TOT}} \quad (1)$$

En esta ecuación $Q_{UV,n}$ es la energía incidente acumulada en el fotorreactor por cada muestra durante el experimento por unidad de volumen (kJ/L), $\Delta t_n = t_n - t_{n-1}$, t_n

es el tiempo de radiación en la muestra n , $\overline{UV}_{G,n}$ es el promedio UV_G durante t_n , $A_{CPC} = 3,08 \text{ m}^2$, $V_{TOT} = 70 \text{ L}$.

2.2. Método de análisis microbiológico

Para identificar y cuantificar las bacterias heterótrofas cultivables presentes en el agua se realizó el análisis microbiológico de recuento heterótrofo de placa o recuento estándar en placa. Este método es muy utilizado para determinar la cantidad de microorganismos viables en los sustratos naturales; además permite valorar la diversidad microbiana a través de la morfología de las colonias (ver Capítulo 2). Las colonias pueden surgir en pares, cadenas, grupos o células unidas; todas ellas englobadas bajo el término Unidades Formadoras de Colonias (UFC). El número final depende de la interacción entre las colonias en desarrollo [40]. Para tal efecto se utilizaron los siguientes medios de cultivo: (1) *Plate-Count-Agar* (PCA, Merck, Alemania). Este es un medio nutritivo universal para el cultivo de microorganismos poco exigentes. En él crece todo tipo de bacterias desde Gram-positivas hasta Gram-negativas. (2) *CHROMagarECC* (*CHROMagar Microbiology*, Francia). Este es un medio selectivo para la identificación simultánea de coliformes totales y *E. coli* en muestras de agua y alimentos. La identificación de coliformes totales y *E. coli* se hace posible gracias a la presencia, de dos sustratos cromógenos. (3) Para la detección de bacterias Gram-positivas, se utiliza el medio *Enterococcus* agar Slatenz and Bartley (Merck, Alemania).

2.3. Procedimiento y condiciones

La cepa bacteriana usada como microorganismo modelo fue la *Escherichia coli* K12 (*E. coli*). La *E. coli* fue inoculada en el medio de Luria Bertani (LB) e incubada durante 12 h a 37°C con agitación constante bajo condiciones aeróbicas. Una alícuota de este cultivo fue inoculada en medio fresco de LB e incubada aeróbicamente a 37°C. En una fase exponencial del crecimiento, las bacterias fueron recogidas por centrifugación, lavadas con una solución de triptona; finalmente, suspendidas de nuevo en una solución de triptona y diluidas en el agua, hasta obtener una concentración de 10^4 a 10^7 UFC/mL.

Esta suspensión se expuso a la irradiación de la luz en presencia o ausencia de TiO_2 en el sistema de reacción escogido. En todas las experiencias se utilizó TiO_2 P25 de Degussa. Para seguir el proceso sin TiO_2 (fotolítico) o con TiO_2 (fotocatalítico), se tomaron muestras durante la iluminación y después de un subsiguiente período oscuro. Para el análisis de las muestras y en caso de necesidad, fueron preparadas diluciones en serie en la solución de triptona y las muestras fueron sembradas en cajas de Petri con los medios de cultivo adecuados. El conteo de las colonias se realizó después de una incubación de 24 h a 37°C. Los experimentos realizados bajo luz solar artificial se repitieron 3 veces y cada punto en las curvas representa el promedio de las repeticiones. Los datos divulgados de los experimentos realizados bajo irradiación solar real, son los promedios de 4 muestras tomadas al mismo tiempo.

2.4. Expresión de resultados

Velocidad inicial de desactivación (r_0) y constante global de velocidad de desactivación (k)

Con el propósito de comparar algunos sistemas se calculó la velocidad inicial de desactivación (r_0) como la variación de la concentración de las bacterias en los primeros 5 minutos de tratamiento, y la constante cinética (k) considerando una relación lineal negativa entre el logaritmo de la razón de las concentraciones de las bacterias (inicial/final) y el tiempo de desactivación.

Dosis en desinfección solar

Como ocurre con la desinfección química, el desempeño de los sistemas con radiación UV se determina por medio de la dosis de UV desinfectante. Un método común para comparar la desactivación de diferentes microorganismos producida por una radiación UV determinada, consiste en utilizar el concepto de la dosis de UV. En nuestro caso, la dosis se calcula multiplicando la intensidad promedio de UV solar (I en W/m^2) por el tiempo de residencia (t_r en h) en la parte irradiada del reactor (dosis = $I \cdot t_r$).

En la sección 6.5 se analiza la pertinencia del uso del concepto de dosis cuando se aplica iluminación solar y se utiliza el sistema de reacción con un CPC. En este último caso, para calcular la dosis (d) se utiliza la ecuación (2).

$$d = t \overline{UV}_{G,n} \frac{V_{IL}}{V_{TOT}} \quad (2)$$

Donde: t es el tiempo de tratamiento; \overline{UV}_G es la intensidad promedio de la luz UV solar; V_{IL} es el volumen iluminado y V_{TOT} el volumen total.

Tiempo de desinfección efectivo (TDE)

Con el propósito de asegurar un no recrecimiento bacteriano antes del consumo del agua, se ha definido el tiempo de desinfección efectivo (TDE_x, el subíndice indica el periodo de oscuridad en horas) como el tiempo necesario para abolir el recrecimiento de bacterias después de un periodo definido en la oscuridad (24 o 60 h), luego de haber terminado el fototratamiento [41]. El TDE_x debe determinarse durante la estandarización del proceso de desinfección solar porque depende, entre otros factores, de la intensidad, la matriz química del agua, del tipo y concentración inicial de bacterias.

3. Aspectos fisicoquímicos

3.1. Efecto de la intensidad de la luz en la desactivación de *E. coli*

Teniendo en cuenta que la luz solar que llega a la superficie terrestre tiene una intensidad promedio de $1000 W/m^2$ y que esta intensidad puede variar con la hora del día, la estación, la localización geográfica y las condiciones atmosféricas, se determinó en el laboratorio el efecto de la intensidad de la luz en el proceso de desinfección por fotocátalisis. Estas experiencias se realizaron en el reactor *batch* (ver sección 6.2).

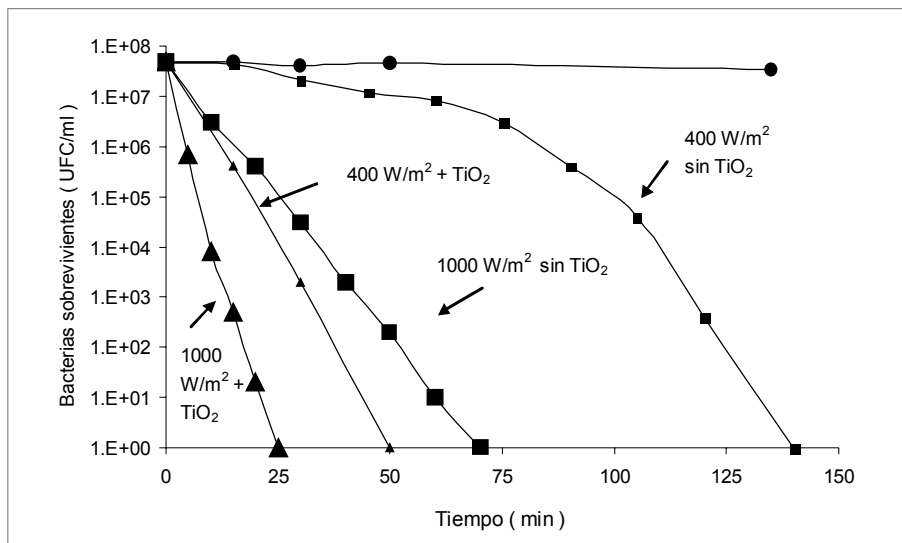
La figura 1 muestra que las bacterias se desactivan en ausencia (fotólisis) o en presencia (fotocátalisis) de TiO_2 y que éste aumenta la acción desinfectante de la luz. Se observa también un aumento en la velocidad de desactivación de la *E. coli*, en presencia y ausencia de TiO_2 , por el aumento de la intensidad desde 400 hasta $1.000 W/m^2$. Al comparar la velocidad inicial de desactivación bacteriana a ambas intensidades, se observa

que con el aumento de la intensidad, en los sistemas con TiO_2 se provoca un aumento de 1,5 veces la velocidad de inactivación mientras que en los sistemas fotolíticos el aumento es de 10 veces. Además, al comparar ambos sistemas en función de la intensidad de la luz, se observa que la razón entre las velocidades de inactivación iniciales es de 16 a 400 W/m^2 y solamente de 2 a 1.000 W/m^2 . A 1.000 W/m^2 , en ambos sistemas, los mecanismos de autoreparación y autodefensa de las bacterias son insuficientes para proteger las células. A esta intensidad, hay un flujo alto de fotones disponible, no sólo para un ataque directo a las bacterias sino también para inducir la generación de las especies oxidantes sobre la superficie del TiO_2 que subsecuentemente atacan las bacterias aumentando considerablemente su velocidad de desactivación [42]. El sistema sin fotocatalizador es más afectado por el incremento de la intensidad de la luz que aquel que lo contiene. Este hecho podría explicarse diciendo que el flujo elevado de fotones que ataca directamente las bacterias previene los mecanismos de defensa y fotoreactivación y por esto aumenta considerablemente la velocidad de inactivación bacteriana [42].

Resultados publicados por R. Sommer y col. [43] muestran, para tres tipos de *E. coli*, una mayor efectividad al aplicar una intensidad alta de UV por un corto tiempo, que al aplicar una intensidad baja por un periodo largo de tiempo. Los autores sugieren que este efecto puede deberse a la acción de enzimas que reparan las células las cuales son más influenciadas por la intensidad alta de UV.

Cuando se añade TiO_2 la acción concomitante de las entidades oxidantes, generadas sobre la superficie del TiO_2 , junto con el hecho que los fotones también atacan a las bacterias directamente, inactiva los mecanismos de autoreparación y conduce a un bloqueo de la replicación, aun a 400 W/m^2 . Por lo tanto, un aumento en la intensidad de la luz hasta 1.000 W/m^2 aumenta el proceso de desactivación en menor grado que el observado cuando el TiO_2 no está presente durante la iluminación. En el intervalo de intensidad de luz estudiado ninguno de los sistemas (con o sin TiO_2) muestra una dependencia lineal entre la velocidad de inactivación bacteriana inicial o global y la intensidad de la luz.

Figura 1. Inactivación de *E. coli* en un reactor *batch* en función del tiempo, a 400 W/m^2 y 1.000 W/m^2 , en sistemas fotocatalíticos (\blacktriangle) y fotolíticos (\blacksquare). Control en la oscuridad (\bullet).



Es interesante notar que la velocidad de fotodegradación de sustancias orgánicas usando TiO_2 no siempre depende linealmente de la intensidad de la luz. Según H. Krysova y col. [44] este efecto se debe a que la velocidad de recombinación de carga en la superficie del TiO_2 depende aproximadamente del cuadrado del número de electrones y huecos fotogenerados, mientras que la velocidad de transferencia de carga es una función lineal de este número.

Una correlación no lineal entre la intensidad de la luz y la desactivación bacteriana (o la degradación de compuestos orgánicos) podría deberse al hecho que una generación excesiva de radicales $\cdot\text{OH}$ a alta intensidad de luz conduce a su propia recombinación. Sin embargo, otros autores encontraron que en un sistema fotocatalítico usando TiO_2 la constante de velocidad de inactivación de la *E. coli* y del bacteriófago QB expresada en min^{-1} [16] o en porcentaje de sobrevivencia después de 30 min [45], aumentan proporcionalmente con el aumento de la intensidad de la luz incidente.

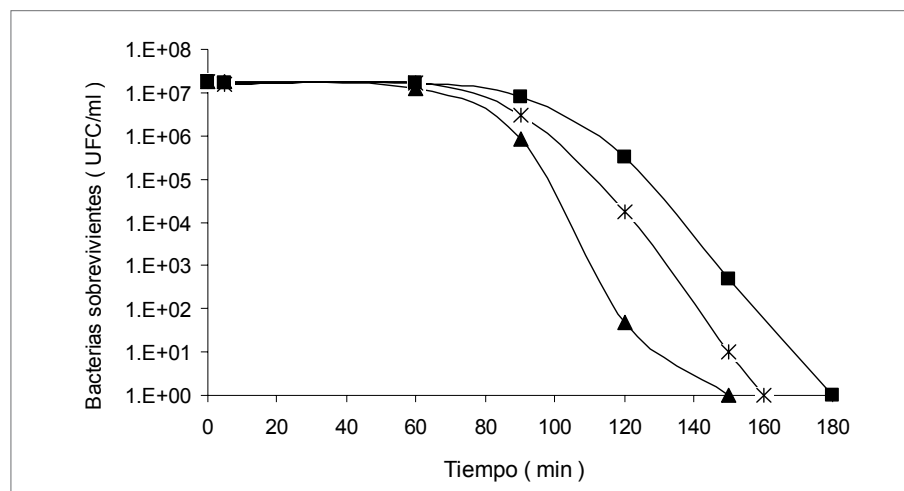
3.2. Efecto del TiO_2 inmovilizado en la desactivación de *E. coli*

En esta sección se compara el efecto inmovilizado del fotocatalizador con él mismo suspendido y con el sistema fotolítico. La utilización de fotocatalizadores fijos es bastante ventajosa por razones técnicas, especialmente bajo condiciones de flujo, puesto que pueden abolirse las etapas para recobrar el fotocatalizador, como la filtración o la decantación. Se evaluó el efecto fotocatalítico sobre la desactivación de *E. coli*, del TiO_2 inmovilizado sobre la pared interna del reactor *batch* (vidrio Pyrex) o en membranas de Nafión (membrana catiónica Dupon 117) que se adhieren también a esta pared.

TiO₂ inmovilizado en membranas de Nafión

La figura 2 muestra que el TiO_2 fijado en la membrana de Nafión desactiva la *E. coli* con una eficiencia cercana a la observada en una suspensión bacteriana con la misma concentración de TiO_2 en suspensión (25 mg en 40 mL). La baja concentración de TiO_2 utilizada en ambas formas (fijo y en suspensión) explica el pequeño efecto benéfico del proceso fotocatalítico sobre la desactivación al compararlo con la fotólisis directa.

Figura 2. Inactivación de *E. coli* en un reactor *batch*, en función del tiempo, en sistemas fotocatalíticos con 0,25 mg de TiO_2 fijo en una membrana de Nafión (*), 0,25 mg de TiO_2 suspendido (▲) y sistema fotolítico (■).



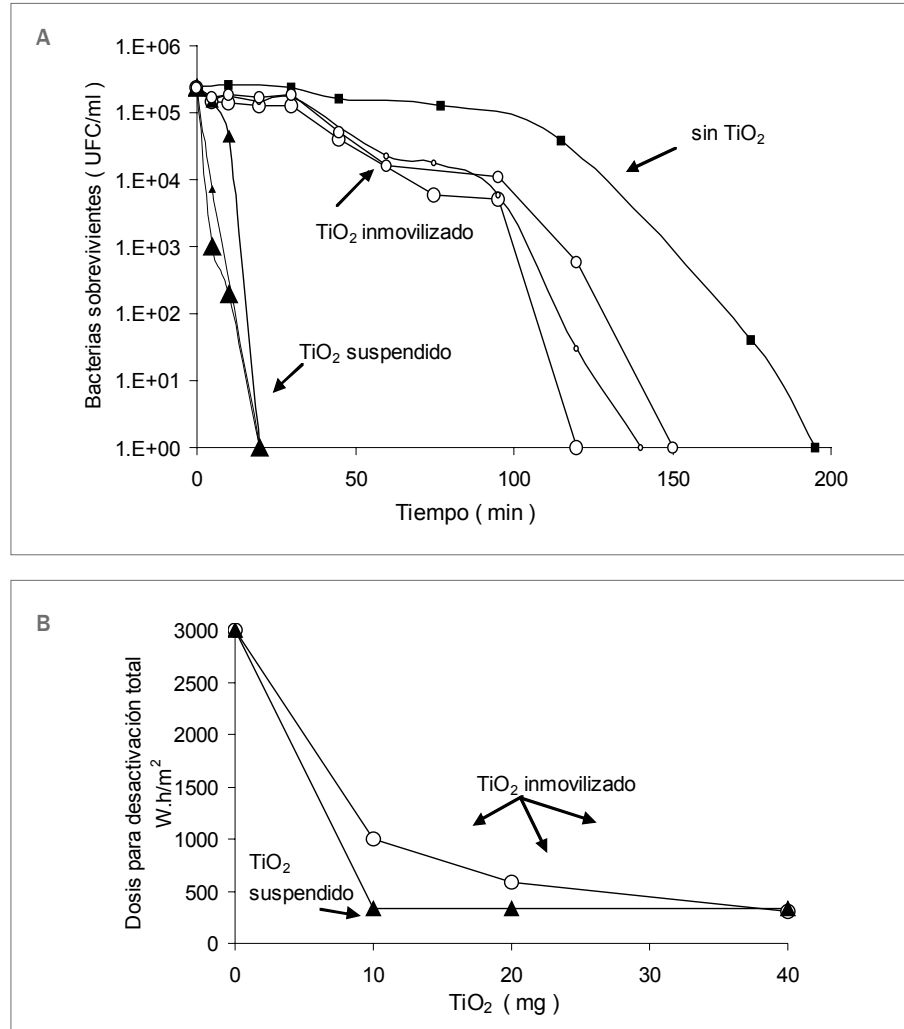
Además, la fijación de cantidades grandes de TiO_2 podría resultar en una disminución de la penetración de la luz, la cual también limitaría la eficiencia del proceso. Por consiguiente, se debe encontrar un compromiso entre estos dos hechos [42]. En términos de aplicabilidad de este sistema, se podrían explorar otros soportes más baratos que el Nafión.

TiO₂ inmovilizado sobre el vidrio de la pared del reactor

La figura 3(a) muestra que el tiempo total requerido para inactivar las bacterias utilizando el TiO_2 adherido a la pared interna del reactor fue más largo que el observado con las mismas cantidades de TiO_2 suspendido (40, 20 y 10 mg de TiO_2 en 40 mL de agua). El orden observado en la eficiencia de desactivación utilizando TiO_2 inmovilizado fue de $10 > 20 > 40$ mg, lo cual está en concordancia con la disminución del espesor de la capa formada por el depósito de TiO_2 y consecuentemente con la porción de luz que alcanza la mayor parte de la suspensión bacteriana. En otras palabras, la transmisión de la luz dentro del reactor decrece cuando la cantidad de TiO_2 inmovilizado aumenta. Midiendo la intensidad de la luz dentro del frasco a un tiempo dado, se calculó la dosis necesaria para una desactivación total en función de la concentración del fotocatalizador. En la figura 3(b) se muestra que la dosis para una desactivación total bacteriana utilizando TiO_2 en suspensión es independiente de su concentración en el intervalo ensayado, sugiriendo que en este tipo de reactor, aun con 10 mg de TiO_2 suspendido, la generación de radicales $\cdot\text{OH}$ no es un factor limitante. Para TiO_2 inmovilizado la dosis necesaria para la total desactivación decrece al aumentar la cantidad de TiO_2 inmovilizado. Todas las cantidades de TiO_2 suspendido muestran el mismo comportamiento que 40 mg de TiO_2 inmovilizado, lo cual quiere decir que la cantidad óptima de TiO_2 inmovilizado, en este tipo de reactor, se encuentra entre 20 y 40 mg (contra menos de 10 mg si está en suspensión) por cada 40 mL de agua.

Los factores que influyen en la actividad fotocatalítica del TiO_2 inmovilizado son: (1) La superficie específica del fotocatalizador accesible a la luz y a las bacterias disminuye. (2) El soporte del TiO_2 puede aumentar la recombinación de los pares electrón/hueco generados. (3) El recorrido de la luz hasta llegar a las capas de TiO_2 que están en contacto con la suspensión bacteriana aumenta, en este caso, con la concentración del TiO_2 fijo, porque la fuente de luz está fuera del sistema reactivo (4) La iluminación y difusión del O_2 a través de las capas del TiO_2 cambia. (5) El fotocatalizador inmovilizado está menos expuesto que el suspendido a fuerzas de fricción que podría contribuir a su desactivación. (6) La distancia media entre las bacterias y el TiO_2 inmovilizado aumenta y causa una disminución de la posibilidad de ataque por $\cdot\text{OH}$ con respecto al TiO_2 en suspensión. (7) La penetración de partículas pequeñas de TiO_2 dentro de las bacterias ($\sim 1 \mu\text{m}$) decrece y por lo tanto no causan daños intracelulares. (8) La geometría del reactor determina la distribución de la luz y su disponibilidad para la excitación del TiO_2 fijo. En este caso la efectividad del fotocatalizador fijo sería más alta si la iluminación viniese del interior del reactor, porque la capa de TiO_2 que está en contacto con la suspensión bacteriana sería iluminada directamente.

Figura 3(a). Inactivación de bacterias con el tiempo en un reactor *batch*, en presencia de TiO_2 P-25 adherido en la pared del reactor de vidrio. Cantidad de TiO_2 : 10 (○), 20 (○) y 40 mg (○). Sistema fotolítico (■). TiO_2 suspendido 10 (▲), 20 (▲) y 40 mg (▲). **Figura 3(b).** Dosis requerida para alcanzar la inactivación total de la *E. coli* por fotocátalisis usando TiO_2 suspendido (▲) e inmovilizado en vidrio (○).



3.3. Efecto de la concentración del TiO_2 en la desactivación de *E. coli*

En la degradación fotocatalítica de compuestos orgánicos, la concentración óptima de TiO_2 depende principalmente tanto de la naturaleza del compuesto como de la geometría del reactor [46]. La concentración óptima de TiO_2 reportada en la literatura [17, 47] tanto para la degradación fotocatalítica de compuestos orgánicos como para la fotodesinfección está entre 0,1 y 5 g/L.

Se analizó la influencia de la concentración del TiO_2 en la desactivación de la *E. coli* variándola entre 0,025 y 2,0 g/L a dos diferentes intensidades de luz. En la figura 4 se observa que a 400 W/m^2 el tiempo requerido para una desactivación total aumenta mientras la concentración de TiO_2 decrece. El inserto en la figura 4 muestra que la velocidad de desactivación inicial (r_0), aumenta con la

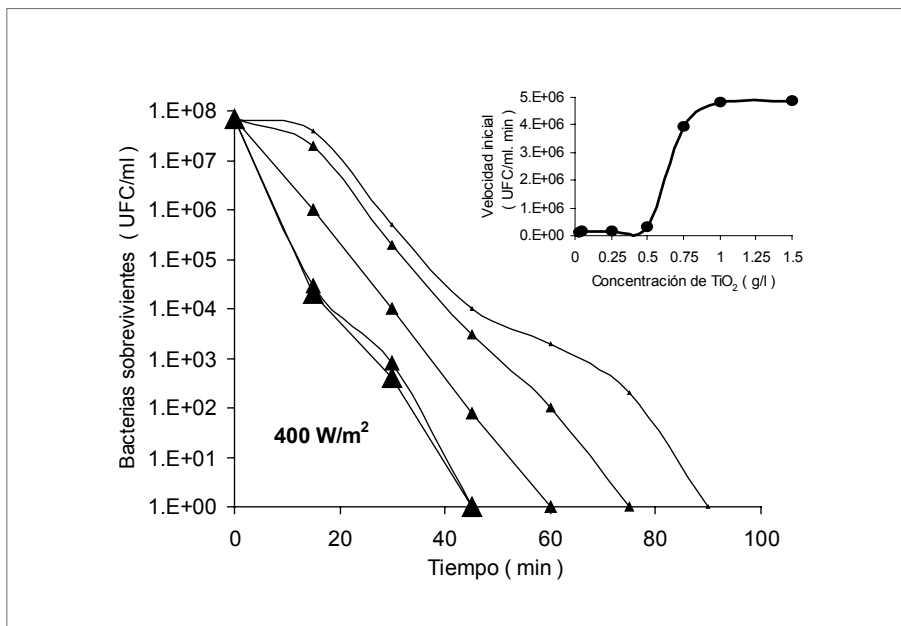
concentración del catalizador y a partir de 1g/L permanece constante debido probablemente a una absorción completa de la luz incidente por el TiO₂ (efecto sombra). En verdad, a concentraciones mayores de 1 g/L, la débil penetración de la luz a la totalidad de la solución hace que tanto la actividad del fotocatalizador como la acción directa de la luz sobre las bacterias (fotólisis directa) sean menos efectivas.

A concentraciones altas de TiO₂, las reacciones terminales (ecuaciones (3) y (4)), también podrían contribuir a la disminución de la desactivación bacteriana. En la ecuación (3) los radicales •OH se dimerizan para formar H₂O₂, el cual puede producir HO₂• (ecuación (4)). Este radical hidroperoxilo es menos reactivo y no contribuye al proceso oxidativo [48].



A 1.000 W/m², resultados no mostrados aquí [42], la eficiencia de la fotooxidación durante los primeros 15 min. es dependiente de la concentración de TiO₂ en el intervalo de 0,25 a 1,5 g/L. En contraste, no se encontró una influencia significativa de la concentración del TiO₂ sobre el tiempo de desactivación total, el cual es 25 min. para todas las concentraciones ensayadas. En verdad, en estas condiciones, aún a las más bajas concentraciones de TiO₂ ensayadas (0,25 g/L), se generan suficientes radicales •OH para desactivar completamente las bacterias. Dos posibles explicaciones, para esta observación, son: primera, a 1.000 W/m² (concentración alta de fotones) ocurre una autolimpieza fuerte del catalizador y por consecuencia su reactivación. Para que tenga lugar este proceso se necesita tiempo

Figura 4. Efecto de la concentración del TiO₂ en la inactivación bacteriana en función del tiempo, en un reactor *batch* a 400 W/m². 0,25 g/L (▲), 0,50 g/L (▲), 0,75 g/L (▲), 1,0 g/L (▲), 1,5 g/L (▲). El inserto contiene la velocidad inicial de inactivación bacteriana en función de la concentración del catalizador a 400 W/m² de intensidad.



y durante el periodo inicial depende de la concentración del TiO_2 . Cuando el catalizador está fresco, la actividad desinfectante es máxima aún a concentraciones bajas de TiO_2 . Por lo tanto, a 1.000 W/m^2 , la concentración del catalizador no es un factor limitante para la desactivación total. La segunda razón que podría explicar la no influencia de la concentración del TiO_2 sobre el tiempo requerido para la desactivación bacteriana total a 1.000 W/m^2 es que las bacterias no se desactivan inmediatamente después del ataque conjunto entre los radicales $\cdot\text{OH}$ y los fotones. Los mecanismos de autoprotección desarrollados por las bacterias podrían retardar su desactivación [42].

En general, la relación entre la velocidad de desactivación inicial y la concentración de TiO_2 es función de la intensidad de la luz como se explica en la sección 3.1; esta relación también es función de la concentración inicial de bacterias.

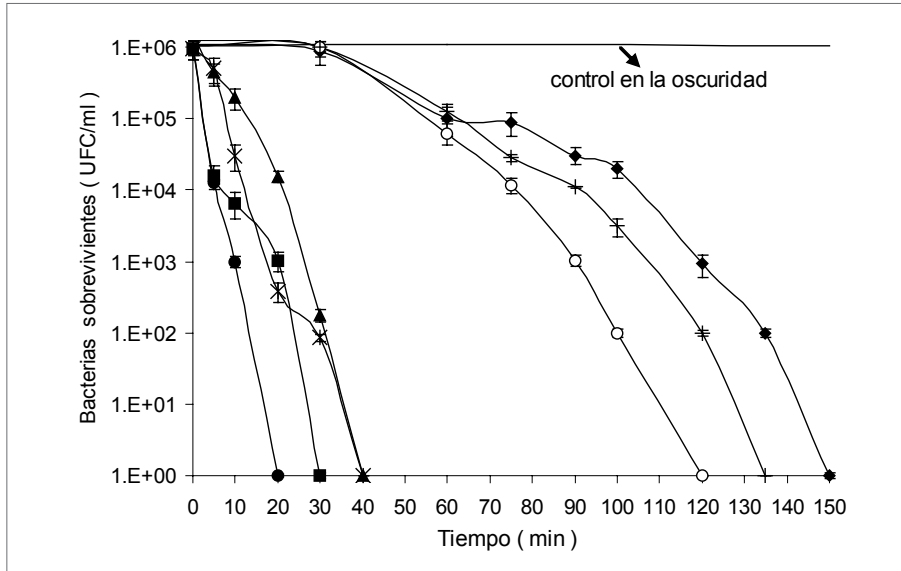
De acuerdo con estos resultados, la concentración del catalizador adquiere importancia en función de la intensidad de la luz y la calidad del agua. Si el objetivo es la producción de agua potable (100% de desactivación bacteriana) y se utilizan 1.000 W/m^2 , la concentración del catalizador no es un factor limitante en el intervalo estudiado (0,25-1,5 g/L). Por el contrario, si el objetivo es la producción de agua de «buena calidad» para usos diferentes al consumo humano (desde 50 a 90% de desactivación bacteriana), la concentración de TiO_2 sigue siendo un parámetro importante que se debe optimizar para cada intensidad de luz [42].

3.4. Efecto de la presencia de iones en la desactivación de *E. coli*

Se analizó la influencia de algunos aniones inorgánicos como HCO_3^- , SO_4^{2-} , HPO_4^{2-} y NO_3^- sobre la fotodesactivación bacteriana, puesto que estos iones están presentes de forma natural en las fuentes de agua y por consiguiente forman parte de los ciclos para actividades domésticas, agrícolas e industriales.

En la figura 5 se presentan resultados de la desactivación bacteriana en presencia de diferentes aniones naturales. En general estas curvas muestran una forma similar a la publicada por otros autores para la degradación de sustancias orgánicas [49], concretamente, $\text{H}_2\text{PO}_4^-/\text{HPO}_4^{2-}$, HCO_3^- y SO_4^{2-} provocan una inhibición alta del proceso de desinfección fotocatalítico. Sin embargo, el efecto inhibitorio de sales inorgánicas puede modificarse cambiando el pH de la solución. Recientemente, Hu y col. [50] publicaron que el SO_4^{2-} y el H_2PO_4^- aumentan la velocidad de fotodegradación de tintas en medio ácido pero no en medio básico. En este último caso, la fotodegradación se retardó. En verdad, en una solución que contiene sustancias orgánicas y bacterias, el pH que modifica las propiedades químicas de iones orgánicos puede afectar significativamente el proceso de desinfección fotocatalítica. Pero la toxicidad de los iones, la cual depende de su concentración, puede representar un estrés suplementario para las bacterias afectando tanto su metabolismo como sus fuerzas osmóticas en la solución [51]. La turbidez y la absorción óptica, muy a menudo generadas en la presencia de iones, influyen sobre la penetración de la luz y consecuentemente disminuyen su efecto tanto en la bacteria como en el TiO_2 .

Figura 5. Inactivación de bacterias por fotocatalisis en presencia de aniones naturales. 0,25 g/L de TiO_2 y 0,2 mmol/L de: HCO_3^- (○), $\text{H}_2\text{PO}_4^-/\text{HPO}_4^{2-}$ (◆), Cl^- (■), NO_3^- (*), y SO_4^{2-} (▲). Sistema sin TiO_2 ni aniones (+), sistema con TiO_2 y sin aniones (●). Para una concentración inicial de bacterias de 10^6 UFC/mL, a 1.000 W/m^2 de intensidad de luz.



No se observó una correlación entre la secuencia de desactivación de *E. coli*, en el sistema fotocatalítico con cada anión, y el orden de desaparición de iones de la solución: $\text{HCO}_3^- > \text{HPO}_4^{2-} > \text{SO}_4^{2-} > \text{NO}_3^- > \text{Cl}^-$. El sistema fotocatalítico (anión + bacteria + TiO_2 + luz) presentó una secuencia de desaparición de aniones que no es comparable a la observada en otros sistemas como: anión + bacteria bajo luz y oscuridad; anión + TiO_2 bajo luz y oscuridad; anión + TiO_2 + bacteria en la oscuridad. El efecto final observado es complejo, producto de una penetración de aniones dentro de las bacterias y la adsorción de estos sobre el TiO_2 . La penetración de aniones hacia las bacterias es simultáneamente afectada por la luz y por los radicales oxidantes generados por la iluminación del TiO_2 que atacan la membrana celular. Sin embargo, esta entrada de aniones está en competición (¿equilibrio?) con la adsorción de aniones sobre el TiO_2 , mientras que esta última, también se modifica por la presencia de bacterias. En estos experimentos, las bacterias se estresan a causa de la cantidad baja de nutrientes y los aniones presentes en la solución acuosa. Según N. Laszlo y col. [52], para que la *E. coli* pueda mantener estable el potencial de la membrana en su valor de -120 a -150 mv, la penetración de K^+ durante el estrés osmótico debe ser balanceada por la acumulación de aniones equivalentes o expulsión de cationes. Por lo anterior, en los sistemas estudiados aquí, tanto en los fotocatalíticos como en los fotolíticos, es difícil encontrar una correlación entre la desaparición de iones de la solución y la sobrevivencia de las bacterias.

Por su parte, Christensen y col. [8] estudiaron la desactivación fotocatalítica de *E. coli* en suspensión con TiO_2 en un reactor fotoelectroquímico. Ellos encontraron que la adición de fosfato envenena al electrodo y la suspensión de una manera parcialmente reversible, mientras que el efecto dañino del bicarbonato fue irreversible después de lavar los electrodos con agua fría. Y. Koizumi y col. [53] demostraron

que la presencia de NO_3^- , SO_4^{2-} , $\text{HPO}_4^{2-}/\text{H}_2\text{PO}_4^-$, K^+ o Ca^{2+} en la mezcla de reacción inhibió la desactivación fotocatalítica del bacteriófago MS2 con TiO_2 . Probablemente, los iones afectan la interacción TiO_2 -bacteriófago; se explicaron los efectos inhibitorios a partir de la proporcionalidad directa entre la constante de velocidad de desactivación y los bacteriófagos adsorbidos sobre la superficie del TiO_2 .

En un sistema compuesto de: aniones + TiO_2 + luz (sin bacterias), el TiO_2 adsorbió menos SO_4^{2-} que NO_3^- y Cl^- . No obstante, SO_4^{2-} inhibe la desactivación de la *E. coli* en una mayor extensión que Cl^- y NO_3^- (ver figura 5). Esto sugiere que otros mecanismos diferentes a la adsorción sobre el TiO_2 están involucrados en la inhibición de la desinfección fotocatalítica por algunos aniones. También se ha considerado el secuestro de especies oxidantes por los aniones (ecuación (5)); sin embargo, al comparar las velocidades de las reacciones de secuestro de los $\bullet\text{OH}$ por los diferentes aniones con las de desinfección fotocatalítica con los mismos aniones, no se encontró ninguna correlación. Esto se ilustra por el hecho que SO_4^{2-} tiene la constante de reacción de secuestro de radicales más alta que los otros iones, pero no inhiben en mayor extensión la desinfección fotocatalítica. En verdad, la inhibición de la desinfección fotocatalítica no es exclusivamente debida al secuestro de los $\bullet\text{OH}$ por aniones como se ilustra con las ecuaciones (5) y (6) [51].



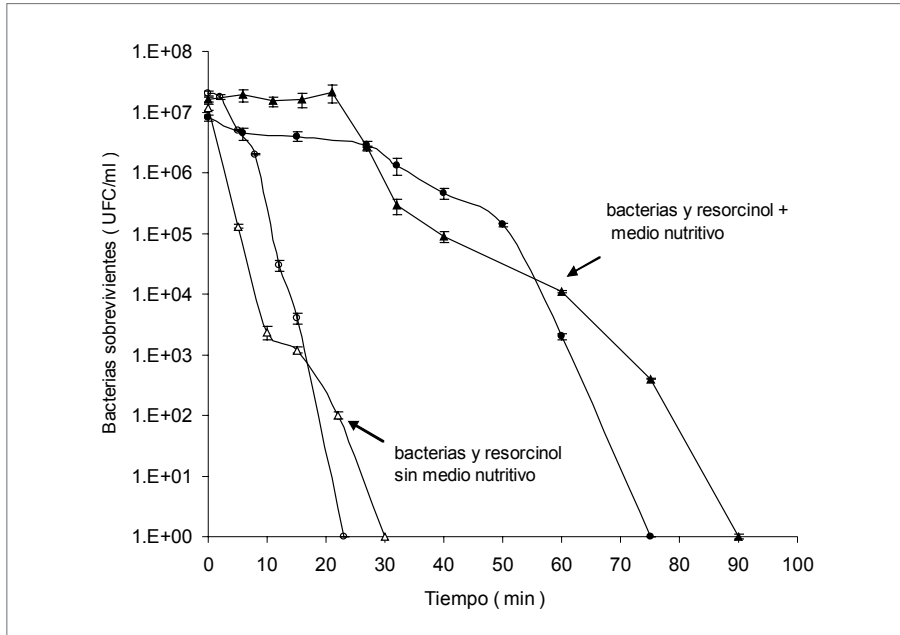
3.5. Efecto de una mezcla de sustancias químicas en la desactivación de *E. coli*

Se sabe que la NOM algunas veces actúa como fotosensibilizador en una gran variedad de reacciones químicas que ocurren por transferencia de energía, oxígeno singlete y generación de especies radicales [51]. El medio nutritivo es una mezcla de sustancias orgánicas e inorgánicas que mejora el estado fisiológico de las bacterias y aumenta sus mecanismos de defensa hacia la luz y las entidades oxidantes como los radicales $\bullet\text{OH}$ [51].

En los experimentos aquí presentados se utilizaron el resorcinol como sustancia modelo representativa de la NOM y un medio nutritivo, con el objeto de simular una matriz química compleja en el agua. La figura 6 muestra que la presencia del medio nutritivo, contenido en la suspensión bacteriana, aumenta en un factor alrededor de 4 el tiempo requerido para completar la desactivación fotocatalítica de *E. coli* con TiO_2 . En esta figura se puede observar que hay un tiempo de latencia inicial largo, el cual revela que al comienzo de la desactivación, las bacterias son afectadas ligeramente por el fototratamiento. Esta inhibición fuerte del medio contenido en la solución podría también explicarse por la combinación de varios efectos: el secuestro de radicales, la inhibición del catalizador, la absorción de la luz por los componentes del medio, la competición entre compuestos orgánicos del medio y de la bacteria por acción de los radicales $\bullet\text{OH}$.

Los resultados de la figura 6, también muestran una evolución similar de la sobrevivencia de bacterias cuando el resorcinol está presente en la solución de reacción. En este último caso, es evidente la competición entre los compuestos orgánicos del medio nutritivo y los de la degradación del resorcinol por radicales, así

Figura 6. Desinfección fotocatalítica de agua contaminada con *E. coli* en presencia (▲) y ausencia (●) de medio nutritivo; en presencia (△) y ausencia (○) de medio nutritivo y resorcinol. TiO_2 : 1 g/L. Las barras de error muestran la desviación estándar.



como la competición entre la desinfección fotocatalítica y la degradación de todos los compuestos orgánicos. El resorcinol aumenta el efecto de la materia orgánica presente en el agua contaminada [17]. La velocidad de degradación fotocatalítica del resorcinol fue más baja en presencia que en ausencia del medio nutriente; se observó un resultado similar en el control sin bacterias (resorcinol + TiO_2). Estos resultados sugieren que la disminución de la desactivación bacteriana se debe a la inhibición del fotocatalizador por los componentes de la solución, y la competición de compuestos orgánicos por los $\cdot\text{OH}$, pero no al crecimiento de las bacterias [51].

3.6. Efecto del pH de la suspensión en la desactivación de *E. coli*

Teniendo en cuenta que el pH del agua puede afectar no sólo las bacterias sino también la carga superficial del fotocatalizador y de esta manera favorecer o no la adsorción de estas en la superficie del fotocatalizador y por consiguiente su desactivación, se analizó el efecto del pH de la suspensión durante la desactivación de la *E. coli*.

En los experimentos de desinfección fotolíticos y fotocatalíticos, cuando se modificó el pH inicial de la suspensión entre 4 y 9 no se observó un efecto sistemático sobre la velocidad de desinfección (k global similar). Sin embargo, la modificación del pH durante la iluminación por adición de HCl, en un sistema fotolítico aumentó en gran proporción la desactivación de las bacterias. Esto sugiere que la desinfección por fotocatalisis resulta de un efecto acumulado de tres factores: modificación del pH, acción directa de la luz y ataque de las especies oxidadas [51].

También se analizó en un reactor *batch* la influencia de algunas características fisicoquímicas del TiO_2 (especialmente el punto isoeléctrico, PIE) sobre la

desactivación bacteriana por fotocátalisis. Con respecto a la carga superficial y el PIE, fotocatalizadores con diferente PIE, 7 y 4,9 respectivamente, similares características superficiales y preparados de la misma manera muestran que la diferencia en el PIE introduce un cambio significativo en la concentración bacteriana después de 4 h de irradiación; en particular, cuanto más bajo sea el PIE menor será la disminución de la concentración bacteriana. Además, el cambio de la carga superficial del TiO_2 , obtenido gracias a la modificación del pH inicial de la suspensión, no produce ningún efecto importante en ella. Sin embargo, se observa que la cinética inicial (15 min.) se acelera cuando la superficie del TiO_2 está cargada positivamente. El fotocatalizador cargado más negativamente muestra una velocidad de desactivación inicial más lenta. Esta observación sugiere que la atracción electrostática entre la *E. coli* y el TiO_2 mejora el proceso fotocatalítico, porque la *E. coli* está cargada negativamente a pH entre 3 y 9. Los resultados obtenidos muestran que tanto el método de preparación como la carga superficial, el tamaño de los agregados y la estructura cristalina del TiO_2 juegan un papel importante durante la transferencia de carga interfacial entre el TiO_2 y la *E. coli*. La optimización de la interrelación de estos parámetros podría conducir a una desactivación bacteriana muy favorable [54].

4. Aspectos biológicos

4.1. Influencia de la concentración inicial de bacterias

Se realizaron experiencias, en el sistema con reactor *batch*, para evaluar la influencia de la concentración inicial de bacterias en la desactivación de *E. coli*; para tal efecto se varió esta concentración entre 10^7 y 10^2 UFC/mL y en cada caso se siguió el proceso hasta desactivación total. Los resultados confirmaron que se requieren tiempos más largos cuando la concentración inicial de bacterias es más alta. Sin embargo, la velocidad de desactivación calculada para una inactivación total es 10^4 veces más alta para una concentración inicial de 10^7 UFC/mL que para una de 10^2 UFC/mL [41]. También, se constató un aumento de la velocidad inicial de desactivación (r_0) en función de la concentración inicial bacteriana. Wei y col. [16] y Huang y col. [55] obtuvieron resultados similares.

4.2. Duración de la desactivación de la *E. coli* por fotocátalisis. Eventos de posradiación

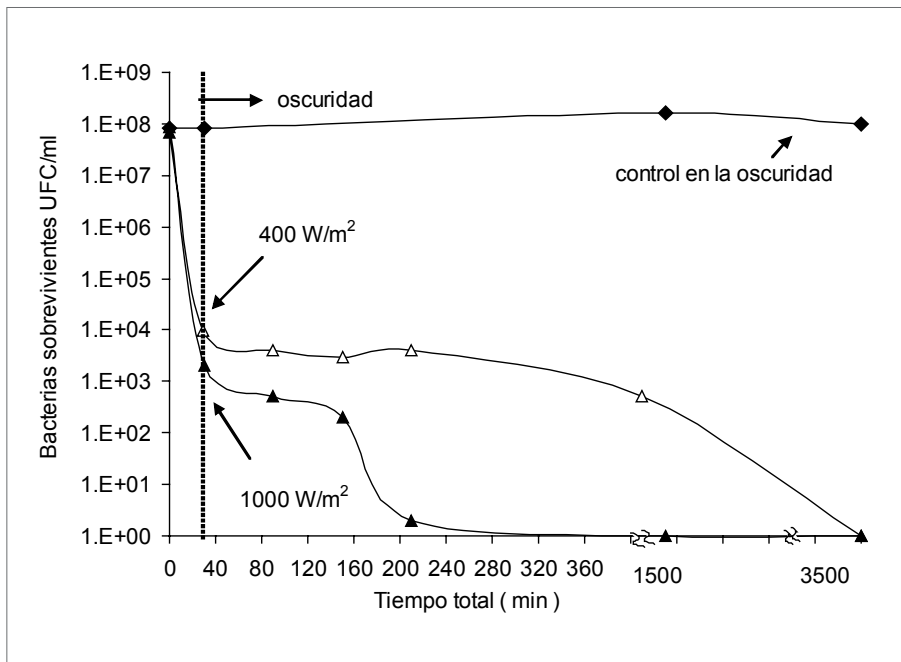
La principal ventaja de utilizar cloro para desinfectar agua potable es la presencia de una cantidad residual del oxidante que asegura la inhibición bacteriana durante el transporte y el almacenamiento del agua. Durante los procesos fotolítico y fotocatalítico, las especies oxidantes generadas tienen un tiempo de vida media mucho más corto que el cloro. En verdad, cuando se aplica un fototratamiento es importante determinar el tiempo requerido para alcanzar una desinfección completa del agua pero también para verificar la duración de la fotodesinfección. Por estas razones, en los experimentos mostrados en la figura 1 a 400 W/m^2 y al final de la iluminación en condiciones fotocatalíticas y fotolíticas, se examinó la desactivación de la *E. coli*, bajo agitación permanente, durante un subsiguiente periodo oscuro de 60 h. En el sistema fotolítico no se alcanzaron ni el TDE_{24} ni el TDE_{60} , aun sin detectar *E. coli* a los 150 min. de iluminación. En verdad, si todas las bacterias no mueren, el recobro

de las bacterias afectadas y/o la reproducción celular de las no afectadas podría ocurrir en la oscuridad. Por el contrario en el sistema fotocatalítico, tanto el TDE₂₄ como el TDE₆₀ se alcanzaron después de 60 min. de irradiación.

En los experimentos mostrados en la figura 7, la irradiación se suspendió después de 30 min. de reacción fotocatalítica. Estos resultados muestran una disminución de la población de *E. coli* durante y después de la iluminación a 400 W/m². Una vez suspendida la irradiación, las bacterias cultivables alcanzan gradualmente valores indetectables después de 60 h de agitación en oscuridad, sugiriendo que el tratamiento fotocatalítico produce daños letales. El H₂O₂ y/u otras especies oxidantes generadas durante la iluminación del TiO₂, atacan las membranas y probablemente penetran las células produciendo su muerte. En contraste con lo observado en ausencia de TiO₂, no se observa recrecimiento de *E. coli* durante 60 h, sugiriendo que los daños sufridos por las bacterias en presencia de TiO₂ son irreversibles [41].

Cuando el proceso fotocatalítico se realizó a 1.000 W/m², la concentración de *E. coli* activas se redujo en una mayor proporción (ver figura 7). Se observa que a esta intensidad los eventos de posradiación son acelerados drásticamente. Para confirmar los daños irreversibles en las células por el concomitante efecto de la UV proveniente de la luz solar y del TiO₂ iluminado, suspensiones de *E. coli* fototratadas por 60 min. a 400 y 1.000 W/m² fueron inoculadas en LB. En estas condiciones, no se observó crecimiento bacteriano, durante 60 h de incubación en la oscuridad.

Figura 7. Irradiación de *E. coli* durante 30 min. en un simulador solar, a 400 y 1.000 W/m². Desinfección en el subsiguiente periodo de oscuridad (24 y 60 h). TiO₂ = 0,5 g/L. La barra indica el inicio del tratamiento en la oscuridad. Control sin iluminación (◆).



4.3. Efecto del proceso fotocatalítico sobre un consorcio de bacterias

Las aguas servidas domésticas tratadas por un sistema de lodos activados aún contienen una cantidad significativa de una gran variedad de cepas bacterianas. Si se considera el reuso de esta agua con propósitos industriales o agrícolas, debe respetarse la normativa existente para estas aplicaciones. Por otra parte, aguas naturales, usadas como agua para consumo humano en ciertas regiones de países en vía de desarrollo, están altamente contaminadas, pues a menudo sus características químicas y biológicas están muy cercanas a aquellas de las aguas residuales.

Se ensayaron con tratamiento fotocatalítico y fotolítico, muestras de agua real, tomadas a la salida de la planta de tratamiento biológico de lodos activados de Lausanne-Vidy (Suiza) y se evaluaron los eventos posteriores a la irradiación. Los resultados se muestran a continuación.

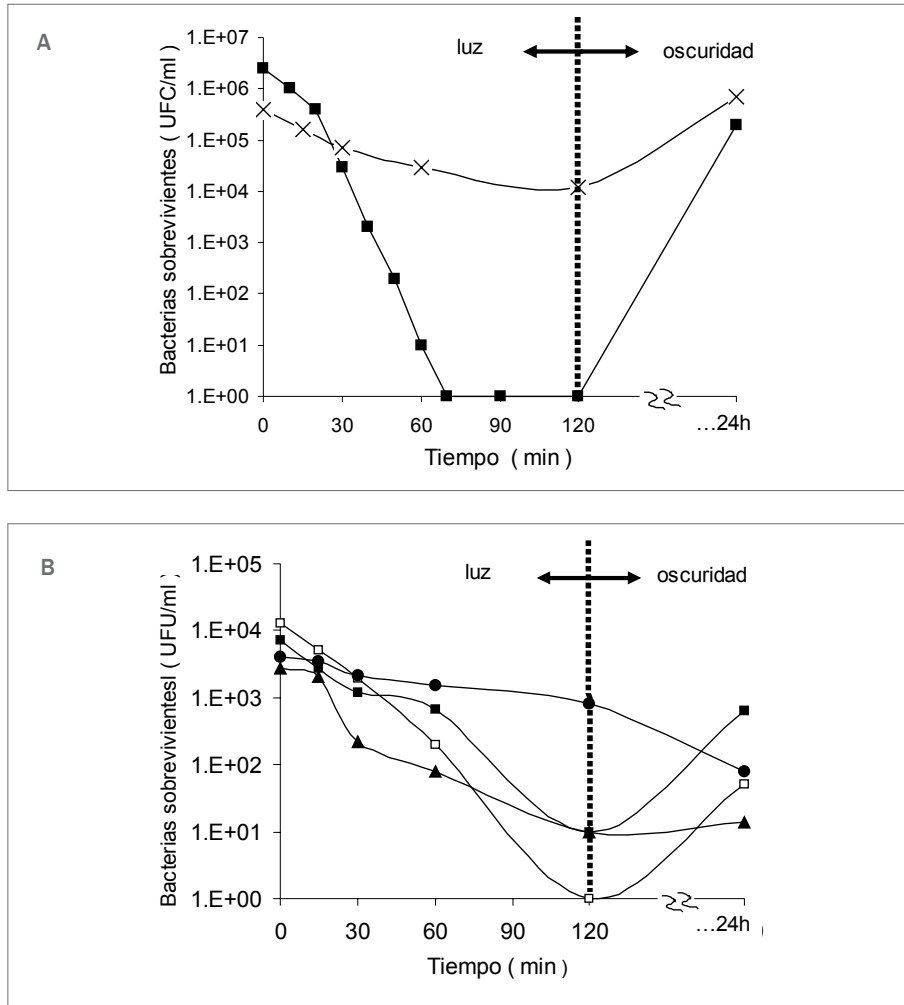
Fototratamiento y eventos de posradiación de aguas servidas en ausencia de TiO_2

Se irradió una muestra de agua residual proveniente de una planta de tratamiento (Vidy), con una intensidad de luz de 1.000 W/m^2 durante 2 h. En la figura 8(a) se presentan los resultados del tratamiento fotolítico. Se puede observar una velocidad de inactivación baja de todo el consorcio de bacterias (trazo x). Las bacterias activas decrecen desde $5,5 \times 10^5$ hasta $4,0 \times 10^4$ UFC/mL después de 2 h de irradiación. En contraste, un experimento realizado con *E. coli* pura suspendida en agua desionizada (trazo ■), muestra un decaimiento desde 2×10^6 UFC/mL a valores indetectables en 70 min. En ambos casos, con *E. coli* pura y con el consorcio de bacterias, se observa un recrecimiento después de 24 h bajo agitación y en la oscuridad.

Para monitorear la evolución de algunos grupos de bacterias presentes en el consorcio durante el proceso, se cultivaron las muestras irradiadas en medios selectivos. La figura 8(b) y la tabla 1 muestran que la sensibilidad de las bacterias a la irradiación solar es diferente para cada grupo y sólo la *E. coli* (trazo ○), presente en el consorcio, fue inactivada totalmente después de 2 h de iluminación. La secuencia del efecto dañino por la luz solar sobre diferentes grupos de bacterias desde la menos hasta la más resistente fue: *E. coli* > otras Gram-negativas > otras coliformes >> *Enterococcus* spp. Excepto para las otras Gram-negativas, el número de bacterias activas aumenta después de 24 h en la oscuridad. Para explicar el amplio intervalo de sensibilidad hacia la luz, se pueden considerar las diferencias fisiológicas y estructurales entre los microorganismos como aquellas existentes entre las Gram-negativas y Gram-positivas. Los resultados obtenidos, en este estudio, de la respuesta bacteriana a la luz solar están de acuerdo con los resultados publicados por Harris y col. [56]; los cuales sugieren que las *E. coli* son más sensibles a la radiación UV que las *Enterococcus* spp.

Algunos estudios [57, 58] de desinfección solar con aguas servidas publican que las *Enterococcus* spp. se desactivaron más lentamente que las coliformes fecales. R.J. Davies-Colley y col. explicaron estos resultados por la susceptibilidad intrínseca de cada indicador bacteriano a diferentes longitudes de ondas solares y la penetración diferencial de estas longitudes de onda en el agua de mar [59].

Figura 8. Desinfección fotolítica de agua servida tomada después del tratamiento biológico en una planta de tratamiento de aguas urbanas, y *E. coli* K 12 suspendida en agua deionizada, a 1000 W/m². (a) Las bacterias se detectaron usando un medio no selectivo. Todas las colonias (×), *E. coli* pura (■). (b) Bacterias detectadas usando medios selectivos. *E. coli* (□), otras coliformes diferentes a *E. coli* (●), otras bacterias Gram-negativa diferentes a coliformes (▲), *Enterococcus* spp (i%).



Fototratamiento y eventos de posradiación de aguas servidas en presencia de TiO₂

La figura 9(a) (trazo x) muestra que cuando se adiciona TiO₂ a la suspensión de agua servida, las bacterias activas detectadas usando un medio no selectivo decrecen desde 10⁵ a 10³ UCF/mL durante 2 h de fototratamiento, pero receren hasta 10⁷ UCF/mL durante el subsiguiente periodo oscuro. Para este consorcio bacteriano, se observó una constante de velocidad de inactivación bacteriana baja (tabla 1), mientras que en experimentos similares con *E. coli* suspendida en agua desionizada, se alcanzó un número indetectable de bacterias después de tan solo 30 min. de fototratamiento y tampoco se detectó *E. coli* durante las siguientes 24 h en la oscuridad.

Los resultados presentados en las figuras 9(a) y 10(a) (trazo x), muestran que el TDE₂₄ no se alcanzó para ningún caso porque la duración del fototratamiento no fue suficiente para asegurar la muerte de todas las bacterias; el TDE₂₄ se alcanzó con el cultivo de *E. coli* puro en presencia de TiO₂ (trazo ■ en la figura 9(b)).

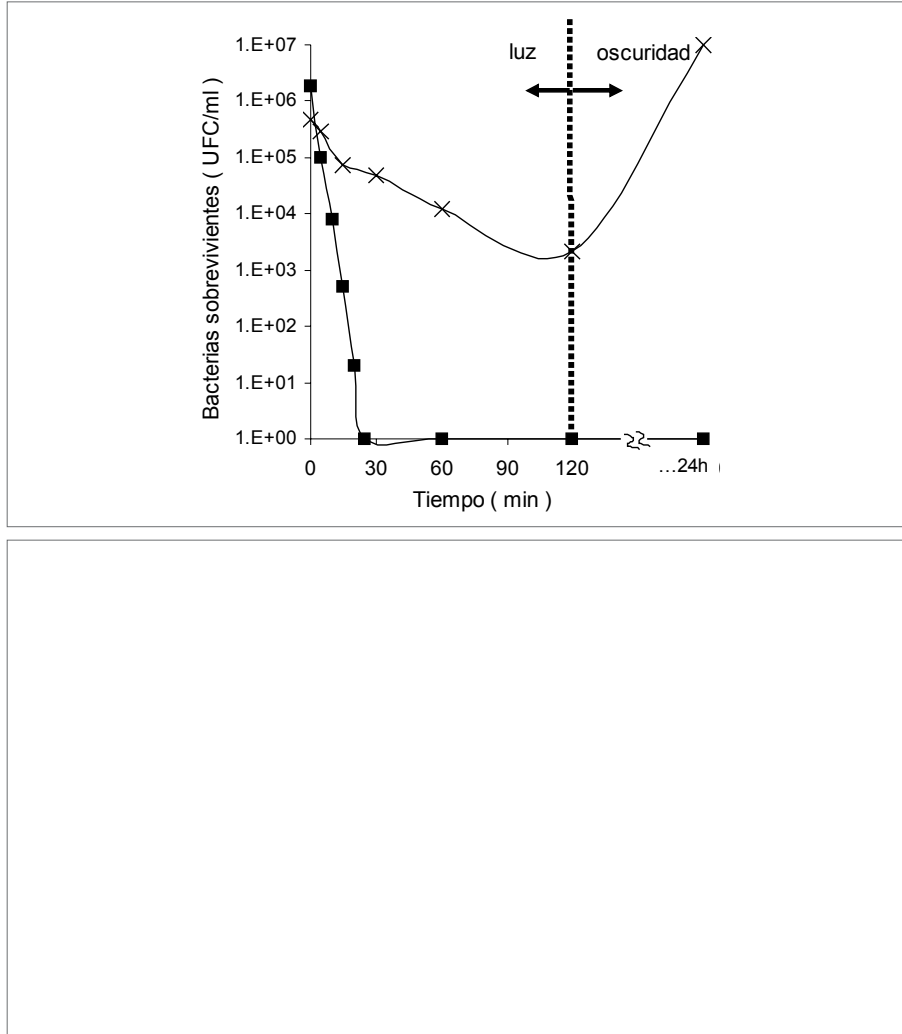
Cuando se llevo a cabo el conteo de bacterias en un medio selectivo (figura 9(b)), se observó que casi todos los grupos de bacterias alcanzaron valores indetectables después de 2 h de fototratamiento. En este caso, la fotodesactivación fue más rápida que en ausencia de TiO₂ (figura 8(b)) y las *Enterococcus* spp. exhiben la más baja velocidad de desactivación comparada con la exhibida por las *E. coli* u otras coliformes o grupos de Gram-negativas. En presencia de TiO₂ los últimos dos grupos de bacterias parecen ser más sensibles al fototratamiento que la *E. coli*. (tabla 1 y figura 9(a)). Sin embargo, el tiempo requerido para una desactivación total de otras bacterias Gram-negativas es el más corto, lo que podría deberse a su más baja concentración inicial. Todos los grupos de bacterias fototratadas, detectadas en el agua residual recrecen después de 24 h en la oscuridad. En verdad, la duración del tratamiento fotocatalítico no fue suficiente para asegurar la muerte de los grupos monitoreados.

En la oscuridad, el conteo bacteriano de todo el consorcio, utilizando un medio no selectivo fue 2 o 3 órdenes de magnitud más alto que aquel obtenido con un medio específico (figura 9(b)). Esto demuestra que se detectaron otros grupos, diferentes a coliformes y *Enterococcus* spp., con medios no-selectivos y no con el medio específico usado en estos experimentos. Ninguno de los sistemas estudiados (fotolítica y fotocatalítico) fue suficiente para desactivar totalmente el consorcio de bacterias presente en el agua servida. Sin embargo, las constantes de velocidades de desactivación de cada grupo de bacterias en presencia de TiO₂, expresadas en min.⁻¹, fueron más altas que aquellas obtenidas sin TiO₂ como muestra la tabla 1. Los tratamientos fotolítico y fotocatalítico producen en estas condiciones un efecto bacteriostático y no bactericida. En otros ensayos con el mismo tipo de agua, tanto en el sistema fotocatalítico como en el fotolítico iluminados durante 3 h se observó la misma secuencia de eliminación de las bacterias y se alcanzó el TDE₂₄ [41].

Tabla 1. Constantes de velocidad de inactivación de bacterias en agua residual tomada a la salida de una planta de tratamiento biológico de aguas residuales urbanas

Sistema iluminado		Fotolítico		Fotocatalítico	
Bacteria	Concentración inicial (UFC/mL)	k (min ⁻¹)	R ²	k (min ⁻¹)	R ²
<i>E. coli</i>	1,08 x 10 ⁴	0,0797	0,9952	0,1573	0,9805
Otros coliformes	5,65 x 10 ³	0,0527	0,9719	0,1485	0,9816
Otros Gram-negativas	1,85 x 10 ³	0,0477	0,9284	0,2474	0,9128
<i>Enterococcus</i> spp.	2,90 x 10 ³	0,0135	0,9682	0,0493	0,9583
Todas las colonias	4,1 x 10 ⁵	0,0271	0,9162	0,0426	0,9323

Figura 9. Desinfección fotocatalítica de agua servida tomada después del tratamiento biológico en una planta de tratamiento de aguas urbanas, y *E. coli* K 12 pura, suspendida en agua deionizada, a 1.000 W/m² y 1 g/L de TiO₂. (a) Las bacterias detectadas usando un medio no selectivo. Todas las colonias en el agua residual (×), *E. coli* pura (■). (b) Bacterias detectadas usando un medio selectivo: *E. coli* (□), otras coliformes diferentes a *E. coli* (▣), otras bacterias Gram-negativas diferentes a coliformes (▲), *Enterococcus* spp (ï%).



5. Aspectos tecnológicos

Con el propósito de evaluar algunos parámetros que influyen en la desinfección fotocatalítica a escala piloto, se realizaron experiencias con luz solar directa utilizando un CPC. Se analiza la pertinencia del uso de la dosis como un parámetro de control cuando se utiliza radiación solar real. Para estas experiencias se utilizó agua natural del lago Lemán (Suiza) contaminada con *E. coli*. Concentraciones de TiO₂ entre 0,02 y 0,1 g/L fueron suficientes para mejorar la desinfección de 70 litros de agua. Se realizaron experiencias en invierno y en verano y no se observó recrecimiento bacteriano después de terminado el fototratamiento. En cada periodo se calculó la dosis de UV solar necesaria para alcanzar una desactivación de *E. coli* aproximadamente de 99,99% (ver tabla 2 y ecuación (2)).

Tabla 2. Dosis UV necesaria para desactivar aproximadamente 99,99% de *E. coli* suspendida en agua del lago Lemán usando un reactor CPC en Lausana Suiza

Experimento y fecha	TiO ₂ (g/L)	Concentración de bacterias (UFC/mL)	UVG promedio (W/m ²)	Porcentaje de inactivación	UV ^b dosis Wh/m ²	Periodo de tratamiento (h:min)
1. Enero 17, 2003 ^a	0,1	1.200.000	7,20	99,99167	9,87	12:00-16:00
2. Enero 20, 2003 ^a	0,1	807.000	4,92	99,99876	6,75	12:30-16:30
3. Agosto 19, 2003 ^a	0,1	295.000	18,98	99,8986	19,52	15:30-18:30
4. Septiembre 4, 2003	0,1	514.000	33,83	99,9961	23,20	13:05-15:05
5. Agosto 21, 2003	0,1	414.000	37,28	99,9976	17,04	12:20-13:40
6. Agosto 15, 2002 ^a	--	220.000	36,24	99,9909	37,28	11:30-14:30
7. Mayo 16, 2002 ^a	--	400.000	36,77	99,9405	37,82	12:20-15:20
8. Septiembre 20, 2003 ^a	--	365.000	23,92	99,4247	43,74	10:50-16:10

^a (< 1 UFC/mL) no se alcanzó durante la irradiación; ^b la dosis (d) se calculó como indica la ecuación (2).

En ausencia de TiO₂ se observa una variabilidad alta de la dosis requerida. En verdad, el 15 de agosto (experimento 6) una dosis de 37,28 Wh/m² inactiva el 99,9909% de las bacterias, mientras que el 20 de septiembre (experimento 8), 43,74 Wh/m² solamente inactiva el 99,4240%. Se debe tener en cuenta que estos experimentos se llevaron a cabo en diferentes estaciones del año y consecuentemente bajo una radiación solar con diferente composición espectral. Como se esperaba, la dosis necesaria para inactivar una cantidad similar de bacterias es más alta en ausencia (experimentos 6, 7 y 8) que en presencia de TiO₂ (experimentos 4 y 5). Se debe tener en cuenta que en invierno (experimentos 1 y 2) fue posible alcanzar niveles similares de inactivación fotocatalítica con una dosis mucho menor que en verano (experimento 3), y en otoño (experimentos 4 y 5) con una dosis mucho más baja. Es posible que la temperatura del agua (entre 6 y 10°C) en invierno aumente la susceptibilidad de las bacterias al tratamiento fotocatalítico.

J. Ingraham [60] publicó que el almacenamiento de *E. coli* a bajas temperaturas produce un aumento en su susceptibilidad por cambios ambientales. Además, se conoce que el oxígeno disuelto disminuye al aumentar la temperatura del agua. La acción bactericida de la luz solar sobre el agua es dependiente de la concentración de oxígeno disuelto; el oxígeno es un aceptor de electrones, lo cual acelera el proceso fotocatalítico.

En el experimento 3 (agosto 19), con una dosis de 19,52 Wh/m² se obtiene menos desactivación bacteriana (*E. coli* activada >> 1 UFC/mL) que en el experimento 5 con una dosis de sólo 17,04 Wh/m². En el experimento 3, la desinfección fotocatalítica del agua muestra una tendencia similar a aquella observada para el fototratamiento en ausencia de TiO₂ (experimentos 6-8), donde la concentración de *E. coli* recrece al final del fototratamiento. Esto podría deberse a dos razones: la primera es que el experimento 3 comenzó en la última parte de la tarde cuando la luz visible tiene características espectrales menos favorables para la desactivación de la *E. coli*. La segunda razón es que el promedio de la intensidad de la UV solar, el 19 de agosto de 2003 (experimento 3) fue más baja (18,98 W/m²) que aquella del 21 de agosto del 2003 (37,28 W/m², experimento 5). Por lo tanto, una dosis de 19,52 Wh/m²

alcanzada en el experimento 3 no fue suficiente para producir una desactivación total de *E. coli* como fue el caso con el experimento 5. En este caso es claro que la intensidad de la luz UV tiene una influencia positiva sobre la desactivación bacteriana fotocatalítica, como lo han publicado otros autores [42, 45]. Sin embargo, se ha encontrado una correlación no lineal entre la intensidad de la luz y la desactivación bacteriana (ver sección 3.1). Por consiguiente, la dosis de UV solar no es un buen parámetro para predecir y estandarizar con precisión el impacto del proceso fotocatalítico sobre las bacterias. En efecto, las intensidades de longitudes de onda visible y UV, las características de cada estación y de la hora del día afectan significativamente la fotoinactivación solar y la fotoreactivación, también como el comportamiento bacteriano en los siguientes periodos oscuros [13].

En todas las experiencias fotocatalíticas presentadas en la tabla 2 se alcanzó un TDE₂₄. En ausencia de TiO₂ no se alcanzó una desinfección total durante la iluminación y se observó un recobro bacteriano antes de terminar la iluminación, como también en el periodo de posradiación. No se alcanzó el TDE₂₄ durante la desactivación de *E. coli* en ausencia de TiO₂. Se observó que el tiempo de residencia del agua en la parte iluminada del sistema, la intensidad de la luz y el momento del día (mañana o tarde) tienen una gran influencia sobre el TDE [13].

Después del tratamiento fotocatalítico solar tanto a escala piloto como a escala de laboratorio (*batch*) se observaron eventos similares de posradiación, especialmente un efecto de desinfección residual.

Referencias

- [1] J.J. Rook, *Journal AWWA*, 68, 168, (1976).
- [2] Ilsi, *Safety of water disinfection: Balancing chemical & microbial risks*, ed. G.F. Craun, Washington, D.C.: ILSI Press, (1993).
- [3] Ilsi. Second international conference. The safety Water disinfection: Balancing chemical and Microbial Risks. in *The safety Water disinfection: Balancing chemical and Microbial Risks*, Miami Beach Florida, (1999).
- [4] A.G. Rincón, P. Peringer y C. Pulgarin, Overview of chemical risk by drinking water consumption. in *AGUA 2000 Conferencia Internacional agua y saneamiento en poblaciones pequeñas y medianas en el marco de la visión mundial*, Cali, Colombia: CINARA, (2000).
- [5] G.F. Craun, *Water Quality in Latin America: Balancing the Microbial and Chemical Risks in drinking Water disinfection*, ed. I. Argentina, P.A.H. Organization, and W.H. Organization, Washington, D.C.: ILSI Press, (1996).
- [6] M.R. Hoffmann, S.T. Martin, W.Y. Choi y D.W. Bahnemann, *Chem. Rev.*, 95, 69, (1995).
- [7] D.M. Blake, P.C. Maness, Z. Huang, E.J. Wolfrum, J. Huang y W.A. Jacoby, *Sep. Purrif. Meth.*, 28, 1, (1999).
- [8] P.A. Christensen, T.P. Curtis, T.A. Egerton, S.A.M. Kosa y J.R. Tinlin, *Appl. Catal. B: Environ.*, 41, 371, (2003).
- [9] J.C. Ireland, *Photocatalytic Purification of Water and Air. Microbiological Issues related to drinking water disinfection chemistry: opportunities for further TiO₂ research*, ed. D.F.O.A.H.A.-E. (Editors), The Netherlands: Elsevier Science Publishers B.V. 557, (1993).
- [10] R. Armon, N. Laot, N. Narkis y I. Neeman, *J. Adv. Oxid. Technol.*, 3, 145, (1998).
- [11] T. Matsunaga y M. Okochi, *Environ. Sci. Technol.*, 29, 501, (1995).
- [12] A. Vidal y A.I. Diaz, *Water Environ. Res.*, 72, 271, (2000).
- [13] A.G. Rincón y C. Pulgarin, *Solar Energy*, 77, 635, (2004).
- [14] O.A. Mcloughlin, P.F. Ibanez, W. Gernjak, M.S. y L.W. Gill, *Solar Energy*, 77, 625, (2004).
- [15] O.A. Mcloughlin, S.C. Kehoe, K.G. Mcguigan, E.F. Duffy, F.A. Touati, W. Gernjak, I.O. Alberola, S.M. Rodriguez y L.W. Gill, *Solar Energy*, 77, 657, (2004).
- [16] C. Wei, W.Y. Lin, Z. Zainal, N.E. Williams, K. Zhu, A.P. Kruzic, R.L. Smith y K. Rajeshwar, *Environ. Sci. Technol.*, 28, 934, (1994).

- [17] A.G. Rincón, P. Pulgarin, N. Adler y P. Peringer, *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.*, **139**, 233, (2001).
- [18] S.S. Block, V.P. Seng y D.W. Goswami, *J. Sol. Energy Eng.*, **119**, 85, (1997).
- [19] R. Dillert, U. Siemon y D. Bahnemann, *Chem. Eng. Technol.*, **21**, 356, (1998).
- [20] J.C. Ireland, P. Klostermann, E.W. Rice y R.M. Clark, *Appl. Environ. Microbiol.*, **59**, 1668, (1993).
- [21] A.G. Rincón y C. Pulgarin, *Catalysis Today*, en prensa.
- [22] L. Miao, S. Tanemura, Y. Kondo, M. Iwata, S. Toh y K. Kaneko, *Appl. Surface Sci.*, **238**, 125, (2004).
- [23] P. Amezcaga-Madrid, G.V. Nevarez-Moorillon, E. Orrantia-Borunda y M. Miki-Yoshida, *FEMS Microbiol. Lett.*, **211**, 183, (2002).
- [24] E.F. Duffy, F. Al Touati, S.C. Kehoe, O.A. McLoughlin, L.W. Gill, W. Gernjak, I. Oller, M.I. Maldonado, S. Malato y J. Cassidy, *Solar Energy*, **77**, 649, (2004).
- [25] T. Saito, T. Iwase, J. Horie y T. Morioka, *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.*, **14**, 369, (1992).
- [26] K. Sunada, Y. Kikuchi, K. Hashimoto y A. Fujishima, *Environ. Sci. Technol.*, **32**, 726, (1998).
- [27] K. Sunada, T. Watanabe y K. Hashimoto, *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.*, **156**, 227, (2003).
- [28] P.C. Maness, S. Smolinski, D.M. Blake, Z.H.E.J. Wolfrum y W.A. Jacoby, *Appl. Environ. Microbiol.*, **65**, 4094, (1999).
- [29] Z. Huang, P. Maness, D.M. Blake y E.J. Wolfrum, *J. Photochem. Photobiol. A.*, **130**, 163, (2000).
- [30] P. Amezcaga-Madrid, R. Silveyra-Morales, L. Cordoba-Fierro, G.V. Nevarez-Moorillon, M. Miki-Yoshida, E. Orrantia-Borunda y F.J. Solis, *J. Photochem. Photobiol. B: Biology*, **70**, 45, (2003).
- [31] V.A. Nadtochenko, A.G. Rincon, S.E. Stanca y J. Kiwi, *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.*, **169**, 131, (2005).
- [32] T. Matsunaga, R. Tomoda, T. Nakajima y H. Wake, *FEMS Microbiol. Lett.*, **29**, 211, (1985).
- [33] T. Matsunaga, T. Tomoda, T. Nakajima, N. Nakamura y T. Komine, *Appl. Environ. Microbiol.*, **54**, 1330, (1988).
- [34] R. Dunford, A. Salinaro, L.Z. Cai, N. Serpone, S. Horikoshi, H. Hidaka y J. Knowland, *Febs. Lett.*, **418**, 87, (1997).
- [35] H. Hidaka, S. Horikoshi, N. Serpone y J. Knowland, *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.*, **111**, 205, (1997).
- [36] W.A. Jacoby, P.C. Maness, E.J. Wolfrum, D.M. Blake y J.A. Fennell, *Environ. Sci. Technol.*, **32**, 2650, (1998).
- [37] Y. Kikuchi, K. Sunada, T. Iyoda, K. Hashimoto y A. Fujishima, *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.*, **106**, 51, (1997).
- [38] F.M. Salih, *J. Appl. Microbiol.*, **92**, 920, (2002).
- [39] M. Cho, H. Chung, W. Choi y J. Yoon, *Wat. Res.*, **38**, 1069, (2004).
- [40] American Public Health Association, Standard Methods for examination of water and wastewater, 16ed, ed. American Public Health Association, American Water Works Association, and Water Pollution Control Federation, Vol. **1**, Washington, DC.: APHA, AWWA, WPCF, 1268, (2000).
- [41] A.G. Rincón y C. Pulgarin, *Appl. Catal. B: Environ.*, **49**, 99, (2004).
- [42] A.G. Rincón y C. Pulgarin, *Appl. Catal. B: Environ.*, **44**, 263, (2003).
- [43] R. Sommer, T. Haider, A. Cabaj, W. Pribil y M. Lhotsky, *Wat. Sci. Tech.*, **38**, 145, (1998).
- [44] H. Krysova, J. Krysa, K. Kratochvilova y J. Jirkovsky, *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, **72**, 169, (1998).
- [45] S. Lee, K. Nishida, M. Otaki y S. Ohgaki, *Wat. Sci. Technol.*, **35**, 101, (1997).
- [46] J. Gimenez, A. Curco y M.A. Queral, *Catalysis today.*, **54**, 229, (1999).
- [47] D.M. Blake, Bibliography of work on the heterogeneous photocatalytic removal of hazardous compounds from water and air, Update number 3 to January 1999, NREL/TP-570-26797. 1999: Springfield, VA 22161. p. **1** (1999).
- [48] O. Legrini, E. Oliveros y M.A. Braun, *Chem. Rev.*, **93**, 671, (1993).
- [49] H.Y. Chen, O. Zahraa y M. Bouchy, *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.*, **108**, 37, (1997).
- [50] C. Hu, J.C. Yu, Z. Hao y P.K. Wong, *Appl. Catal. B: Environ.*, **46**, 35, (2003).
- [51] A.-G. Rincón y C. Pulgarin, *Appl. Catal. B: Environ.*, **51**, 283, (2004).
- [52] N. Laszlo y B. Csonka, *Microbiol. Rev.*, **53**, 121, (1989).
- [53] Y. Koizumi y M. Taya, *Biotechnol. Lett.*, **24**, 459, (2002).
- [54] D. Gumy, C. Morais, P. Bowen, C. Pulgarin, S.A. Giraldo, H. R. y J. Kiwi, *J. Phys. Chem. B*, enviada.
- [55] N. Huang, Z. Xiao, D. Huang y C. Yuan, *Supramolecular Science*, **5**, 559, (1998).
- [56] G.D. Harris, V.A. Dean, L.S. Darwin y M.S. Curtis, *Wat. Res.*, **21**, 687, (1987).
- [57] L.W. Sinton, R.J. Davies-Colley y R.G. Bell, *Appl. Microbiol.*, **60**, 2040, (1994).
- [58] R.J. Davies-Colley, R.G. Bell y A.M. Donnison, *Appl. Environ. Microbiol.*, **60**, 2049, (1994).
- [59] R.J. Davies-Colley, A.M. Donnison y D.J. Speed, *Wat. Sci. Technol.*, **35**, 219, (1997).
- [60] J. Ingraham, Effect of Temperature, pH, water acidity, and Pressure on growth, en *Escherichia coli* and *Salmonella Typhimurium*. Cellular and molecular biology, C.F. Neidhardt, Editor, American Society for Microbiology: Washington, D.C., 1543, (1999).

