

**ANÁLISIS DEL EFECTO DE LAS SALES INORGÁNICAS SOBRE EL
PROCESO FOTOCATALÍTICO DE DESINFECCIÓN DE AGUAS
CONTAMINADAS CON
E. COLI**

**JULIAN ANDRES ESTUPIÑAN SEQUEDA
JORGE ANDRES AYALA LOPEZ**

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE INGENIERÍAS FISCOQUÍMICAS
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA
BUCARAMANGA**

2020

**ANÁLISIS DEL EFECTO DE LAS SALES INORGÁNICAS SOBRE EL
PROCESO FOTOCATALÍTICO DE DESINFECCIÓN DE AGUAS
CONTAMINADAS CON
E. COLI**

JULIAN ANDRES ESTUPIÑAN SEQUEDA

JORGE ANDRES AYALA LOPEZ

Director

Profesor Hernando Guerrero Amaya

Doctor en Electroquímica, Ciencia y Tecnología

Codirectora

Profesora Luz Marina Ballesteros Rueda

Doctora en Electroquímica, Ciencia y Tecnología

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE INGENIERÍAS FISCOQUÍMICAS
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA
BUCARAMANGA**

2020

AGRADECIMIENTOS

Primero a Dios Todo poderoso por permitirnos ser parte de la Universidad Industrial de Santander (UIS), al Centro de Investigación en Catálisis (CICAT), por haber tenido la oportunidad de ser miembros del grupo y de desarrollar nuestro trabajo de grado en sus instalaciones. A nuestro director Hernando Guerrero Amaya y codirectora Luz Marina Ballesteros Rueda, por todo el apoyo que tuvimos durante el desarrollo del proyecto de investigación.

De la misma manera, agradecemos la colaboración recibida de los compañeros Sebastián, Carolina, Alejandra, Silvia y Juliana estudiantes de la escuela de Ingeniería Química de la UIS quienes nos orientaron en las primeras etapas del proyecto. También a Diana encargada del laboratorio del (CICAT) por su valiosa ayuda para tener los materiales, equipo y las instalaciones disponibles para el desarrollo del proyecto, a Diana Osorio y Jorge del Centro de Investigaciones en Enfermedades Tropicales (CINTROP) y finalmente a Mayra Delgado, microbióloga de la Universidad de Santander (UDES) quien nos orientó en la parte final del proyecto.

DEDICATORIA

A Dios por permitirme desarrollar el proyecto con sabiduría, templanza y fortaleza, a mi Madre quien ha sido mi apoyo incondicional, motor de vida y ejemplo de superación, a mi Tía Helena quién siempre ha estado para mí, creyendo en mi trabajo, capacidades y fortalezas, a Diego por enseñarme a seguir trabajando a pesar de las adversidades, a la profesora Luz Marina quien me abrió las puertas de CICAT confiándome el proyecto, a Andrés por elegirme como su compañero de tesis, por creer en mí y extenderme su mano de apoyo, en un camino lleno de aventuras, con altas y bajas me despido de la UIS, con mucho cariño y experiencias que me aportaron ganancias infinitas.

JULIÁN ANDRÉS ESTUPIÑÁN SEQUEDA

DEDICATORIA

Dedico esta tesis a mis padres Jorge Enrique y Luz Marina que han sabido formarme con buenos hábitos y valores, lo cual me ha ayudado a salir adelante en los momentos más difíciles.

A mis hermanos Fredy Leonardo y Manolo quienes siempre han estado junto a mí, brindándome su apoyo.

A mi familia en general, porque me han respaldado en cada momento y por compartir conmigo buenas y malas situaciones.

A mis amigos que, gracias a su apoyo, y conocimientos hicieron de esta experiencia una de las más especiales en mi vida.

A mi compañero de tesis Julián quien gracias por formar un gran equipo y así logramos llegar hasta el final y poder culminar esta etapa de la vida.

A la profe Luz Marina por darme la oportunidad de trabajar en esta tesis y poder aplicar los conocimientos obtenidos durante mi etapa de formación profesional.

JORGE ANDRES AYALA LOPEZ

TABLA DE CONTENIDO

	Página
INTRODUCCIÓN	13
1.OBJETIVOS.....	20
1.1 OBJETIVO GENERAL	20
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	20
2. METODOLOGÍA	21
2.1 ACTIVIDADES PREVIAS.....	21
2.1.1 Inmovilización del catalizador (TiO ₂) en las fibras textiles.....	21
2.1.2 Reactivación de Escherichia coli.....	23
2.1.3 Preparación de Escherichia coli para las pruebas de fotodesinfección con sales inorgánicas.	23
2.2 PRUEBAS DE DESINFECCIÓN DE E. COLI CON ACETATO DE PLOMO Y CLORURO DE NIQUEL.....	25
2.2.1 Fotodesinfección de cada una de las sales en distinta concentración	25
2.2.2 Fotodesinfección de la mezcla de las dos sales en distinta proporción ...	27
3.RESULTADOS.....	28
3.1 FOTODESINFECCIÓN DE CADA UNA DE LA SALES EN DISTINTA CONCENTRACIÓN	31
3.2 FOTODESINFECCION DE LA MEZCLA DE SALES.....	37
4.CONCLUSIONES	40
5. RECOMENDACIONES	41
BIBLIOGRAFIA	42
ANEXOS	45

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Fases metodológicas del proyecto.....	21
Figura 2. Representación de los reactores empleados en las pruebas de desinfección. (a, b) Proceso fotocatalítico de desinfección con la tela inmovilizada de TiO ₂ . (c, d) Proceso de desinfección de luz solar SODIS. (e) Proceso de desinfección con la tela inmovilizada en oscuridad.....	26
Figura 3. Inactivación fotocatalítica de E. coli en Oscuridad, Sodis y con TiO ₂ suspendido a una concentración de fotocatalizador de 0,4 (g/L) y una potencia de radiación de 250 (W/m ²)	29
Figura 4. Toma 24h después de la prueba de inactivación fotocatalítica de E. coli en Oscuridad, Sodis y con TiO ₂ suspendido a una concentración de fotocatalizador de 0,4 (g/L) y una potencia de radiación de 250 (W/m ²)	30
Figura 5. Inactivación fotocatalítica de E. Coli en oscuridad, SODIS y con TiO ₂ suspendido a una concentración de Sal de plomo a 0,01 mg/L.....	31
Figura 6. Inactivación fotocatalítica de E. Coli en oscuridad, SODIS y con TiO ₂ suspendido a una concentración de Sal de plomo a 0,05 mg/L.....	33
Figura 7. Inactivación fotocatalítica de E. Coli en oscuridad, SODIS y con TiO ₂ suspendido a una concentración de Sal de Níquel a 0,02 mg/L.	34
Figura 8. Toma 24h después de la prueba de inactivación fotocatalítica de E. coli en Oscuridad, Sodis y con TiO ₂ a una concentración de Sal de Níquel a 0,02 mg/L	35
Figura 9. Efecto de la mezcla de las sales de Acetato de plomo y Cloruro de Níquel a 0,01 y 0,02 ppm respectivamente sobre el proceso de fotodesinfección de la E. Coli.....	37
Figura 10. Efecto de la mezcla de las sales de Acetato de plomo y Cloruro de Níquel a 0,05 ppm para las dos sobre el proceso de fotodesinfección de la E. Coli	38

Figura 11. Proceso Inmovilización del catalizador (TiO ₂) en las fibras textiles.	47
Figura 12. Proceso Reactivación de Escherichia coli	48
Figura 13. Proceso de Preparación del pre-inoculo e inoculo de Escherichia coli	49
Figura 14. Proceso de Purificación de Escherichia coli	50
Figura 15. Proceso Prueba de desinfección fotocatalítica de Escherichia coli..	51
Figura 16. Diluciones Seriadas	52
Figura 17. Siembra de la Escherichia Coli por la Técnica de Micro gota	52
Figura 18. Proceso Preparación de las Sales Inorgánicas	53
Figura 19. Toma 24h después de la prueba de desinfección fotocatalítica de la E. coli con la Sal de plomo a 0,01 ppm.	54
Figura 20. Toma 24h después de la prueba de desinfección fotocatalítica de la E. coli con la Sal de níquel a 0,02 ppm.	54
Figura 21. Toma 24h después de la prueba de desinfección fotocatalítica de la E. coli con la Sal de plomo a 0,05 ppm.	55
Figura 22. Toma 24h después de la prueba de desinfección fotocatalítica de la E. coli con la Sal de níquel a 0,05 ppm.	55
Figura 23. Toma 24h para la mezcla de las sales de Acetato de plomo y Cloruro de Níquel a 0,01 y 0,02 ppm respectivamente.	56
Figura 24. Toma 24h después de la mezcla de sales de Acetato de plomo y Cloruro de Níquel a 0,05 ppm para las dos.	56

LISTA DE TABLAS

	Página
Tabla 1. Concentraciones usadas en la Etapa 1.....	25
Tabla 2. Concentraciones usadas en la Etapa 2.....	27
Tabla 3. Características Químicas que tienen reconocido efecto adverso en la salud humana.	45
Tabla 4. Análisis de Resultados de la Vereda Santa Rosa del municipio de Lebrija (Santander).....	46

LISTA DE ANEXOS

	Página
Anexo A. Valores máximos aceptables para elementos, compuestos químicos y mezclas permitidos para el agua de consumo humano, según resolución 2115 de 2007 expedida por los Ministerios de La Protección Social y el Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial.	45
Anexo B. Análisis de las muestras de agua provenientes de la Vereda Santa Rosa del municipio de Lebrija (Santander), realizado por el Centro de Estudios e Investigaciones Ambientales (CEIAM) adscrito a la Universidad Industrial de Santander (UIS).	46
Anexo C. Proceso Inmovilización del catalizador (TiO_2) en las fibras textiles. ...	47
Anexo D. Reactivación de Escherichia coli.	48
Anexo E. Preparación del pre-inoculo e inoculo de Escherichia coli.	49
Anexo F. Purificación de Escherichia coli	50
Anexo G. Prueba de desinfección fotocatalítica de Escherichia coli.	51
Anexo H. Técnica Micro gota.	52
Anexo I. Preparación de las Sales Inorgánicas.	53
Anexo J. Pruebas 24 horas de los niveles 1 y 2	54
Anexo K. Pruebas 24 horas de los niveles para las mezclas 1 y 2	56
Anexo L. Ecuaciones	57

INTRODUCCIÓN

El agua potable es el agua apta para el consumo humano; es decir, el agua que puede beberse directamente o usarse para lavar y/o preparar alimentos sin riesgo alguno para la salud. El agua es sumamente abundante en nuestro planeta, y dado que es el solvente universal, a menudo contiene numerosos elementos y sustancias disueltas en ella, que pueden (o no) ser detectadas a simple vista. Estas sustancias modifican su sabor, color y olor, representando así un peligro potencial para el cuerpo humano. En los últimos 50 años, la extracción de agua de los ríos y lagos ha aumentado cuatro veces ¹. Si a ello se le suma, que la población mundial aumenta a una velocidad de 200.000 personas al día, el problema tiende a empeorar ². La salud del ser humano se ve afectada por las condiciones del agua, saneamiento e higiene. La deficiencia en este servicio deja numerosos casos de epidemias o intoxicaciones masivas.

El Ministerio de Salud estimó que, para el departamento de Santander, el 10,2% de la población utilizó agua de bajo o nulo tratamiento y el 0,6% agua cruda o tomada directamente de la fuente ³. En municipios como Lebrija (con una población de 39.398 habitantes) ⁴ existe un alto impacto en las corrientes hídricas, debido a la recepción de aguas residuales domésticas e industriales del Área Metropolitana de Bucaramanga y otros municipios en la cuenca del río Lebrija ⁵. Con este proyecto se busca continuar el estudio de una alternativa de potabilización del agua, el cual se enfoca en eliminar la bacteria *E. coli* (ya que

¹ GIORDAN, André y SOUCHON. (OEI), Organización de Estados Iberoamericanos, de La educación ambiental: guía práctica, Sevilla, 1995.

² UNESCO. Programa de educación sobre problemas ambientales en las ciudades, Departamento de Urbanismo, Vivienda y Medio Ambiente del Gobierno Vasco: Los Libros de la Catarata, 1995.

³ MINISTERIO DE SALUD Y PROTECCIÓN SOCIAL. Informe Nacional de Calidad del Agua para Consumo Humano (INCA). Bogotá, D.C., 2016.

⁴ DANE. Proyecciones de población municipales por área, 2005.

⁵ CORPORACIÓN AUTÓNOMA REGIONAL PARA LA DEFENSA DE LA MESETA DE BUCARAMANGA., «Informe Estado de los Recursos Naturales.» 2018, pp. 6-38.

se encuentra en el agua de consumo y es causante de enfermedades gastrointestinales en las personas) ⁶, mediante la fotocatalisis con el TiO₂ ⁷. En estudios anteriores realizados en el CICAT, se ha demostrado que se elimina la bacteria mediante esta metodología, ahora se va a continuar con este análisis incluyendo sales inorgánicas como carbonato de plomo y cloruro de níquel, ya que iones de plomo y níquel se encuentran en el agua de consumo de la vereda santa rosa del municipio de Lebrija. Con estas sales, se busca determinar si afecta al proceso de desinfección del agua contaminada con el *E. coli* (si actúan como un inhibidor o genera cambios afectando el proceso). Por lo tanto, se quiere aportar en la búsqueda de una alternativa de potabilización que sea efectiva, rápida, fácil de manipular y controlar en sectores rurales que carecen de agua apta para el consumo humano.

El incremento sobreviniente de población conllevará a mayor concentración de coliformes totales y fecales, por ello aumentará el riesgo de desmejorar la calidad de agua que se consumirá en la población si no se toman medidas preventivas y correctivas. Los coliformes fecales son un subgrupo de los coliformes totales, definidos como bacterias presentes en el intestino de animales de sangre caliente y humanos (también conocidos como coliformes termo tolerantes); aproximadamente el 95 % del grupo de los coliformes presentes en heces fecales están formados por *Escherichia coli*.

En Colombia, la calidad del agua potable se rige por la resolución 2115 de 2007, expedida por el Ministerio de La Protección Social y el Ministerio de Ambiente,

⁶ ARDILA BARAJAS, Martha Janeth. Evaluación de la eficiencia de la planta de tratamiento para la potabilización de agua del municipio de Lebrija (Santander). Tesis doctoral. Bucaramanga: Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ciencias. Escuela de Química, 2011. 54 p.

⁷ DUARTE MANTILLA, María Mercedes y FERNÁNDEZ CRISTANCHO, Eyleen Vanessa. Evaluación de la efectividad del TiO₂ con Ag en la Fotodesinfección de agua utilizando un colector parabólico compuesto (CPC), Trabajo de grado Ingeniero Químico. Bucaramanga: Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ingenierías Físicoquímicas. Escuela de Ingeniería Química, 2012.

Vivienda y Desarrollo Territorial ⁸. En el anexo A se especifican los valores máximos aceptables para elementos, compuestos químicos y mezclas permitidos para el agua de consumo humano; los cuales se cotejaron con los análisis de las muestras de agua provenientes de la Vereda de Santa Rosa del municipio de Lebrija-Santander y realizados por el laboratorio de aguas y suelos del centro de estudio e investigación ambientales (CEIAM-UIS) (Ver Anexo B), en donde se puede observar una alta concentración de metales de Plomo y Níquel sobrepasando el límite permitido por la resolución.

En este sentido, el agua potable es aquella que, por cumplir las características físicas, químicas y microbiológicas, en las condiciones señaladas en el decreto 1575 de 2007 y demás normas que la reglamenten, es apta para consumo humano ⁹. A pesar que los métodos convencionales (biológicos, químicos y físicos) para el tratamiento de agua potable son de bajo costo y de fácil aplicación, presentan desventajas y limitaciones en la eficiencia de la remoción de contaminantes ^{10 11}. Se han desarrollado metodologías de descontaminación que tienen en cuenta factores fundamentales como la naturaleza y propiedades fisicoquímicas del sistema, la factibilidad de reutilización, la economía, la eficacia de los procesos y su rango de aplicación. Entre éstas metodologías se encuentran los Procesos Avanzados de Oxidación (PAOs), los cuales han sido

⁸ MINISTERIO DE LA PROTECCIÓN SOCIAL Y MINISTERIO DE AMBIENTE, VIVIENDA Y DESARROLLO TERRITORIAL, de Características Químicas que tienen reconocido efecto adverso en la salud humana, resolución 2115 del 2007.

⁹ DOMÈNECH, Xavier y JARDIM, Wilson y LITTER, Marta. de "Procesos avanzados de oxidación para la eliminación de contaminantes", 2004.

¹⁰ MARIANI, Melisa Lourdes. Degradación de mezclas de contaminantes en agua utilizando el proceso avanzado de oxidación que emplea la combinación de radiación ultravioleta y peróxido de hidrógeno. Tesis Doctora en Tecnología Química. Argentina: Universidad Nacional del Litoral, 2014.

¹¹ FORERO, Jorge Enrique y ORTIZ, Olga Patricia y RIOS, Fabian. Aplicación de procesos de oxidación avanzada como tratamiento de fenol en aguas residuales industriales de refinería. Vol., N° 3 (2005); 99-100 p.

utilizados con éxito en la remoción de numerosos contaminantes ¹² ¹³, debido a sus fuertes características oxidativas que le confieren ventajas como: la transformación química de la fase del contaminante, que puede en ocasiones llegar a la mineralización completa CO_2 , H_2O e iones o ácidos inorgánicos; el tratamiento de compuestos refractarios y el tratamiento de contaminantes en bajas concentraciones, de igual forma, el mejoramiento de las propiedades organolépticas del agua tratada, la eliminación de efectos sobre la salud de desinfectantes como el cloro y su utilidad en procesos de desinfección. Una de las PAOs que ha sido ampliamente estudiada es la fotocatalisis heterogénea, la cual se basa en el proceso de absorción directa o indirecta de energía radiante (visible o UV) por un fotocatalizador heterogéneo (semiconductor de banda ancha). Este proceso ocurre en la región interfacial entre sólido excitado y solución. En estas reacciones intervienen las especies reactivas oxidantes (ROS): radicales hidroxilos (OH^\bullet), radicales superóxidos ($\text{O}_2^{\bullet-}$) y peróxido de hidrógeno (H_2O_2), componentes activos que provocan el efecto bactericida.

Existen diversos materiales económicamente asequibles con propiedades idóneas para actuar como fotocatalizadores, entre estos, ZnO , CdS , óxidos de hierro, WO_3 , ZnS y TiO_2 ; este último es uno de los más estudiados hasta el momento debido a que presenta una elevada estabilidad química que lo hace apto para trabajar en un amplio rango de pH al mismo tiempo que es capaz de producir transiciones electrónicas por absorción de luz en el ultravioleta cercano (UV-A) ¹⁴. En la última década, el CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN CATÁLISIS (CICAT), de la Universidad Industrial de Santander (UIS), ha estudiado la eficiencia del proceso de fotocatalisis heterogénea en la desinfección de agua

¹² AUTIN, Olivier y HART, Julie y MACADAM, Jitka. Comparison of UV/H₂O₂ and UV/TiO₂ for the degradation of metaldehyde: Kinetics and the impact of background organics. En: Water Research, Vol., N° 46 (2012); 5655-5662 p.

¹³ RUAN, Xin-Chao y AI, Rui y JIN, Xiao y ZENG, Qing-Fu. Water, Air, & Soil Pollution. En: Photodegradation of Tri (2-chloroethyl) Phosphate in Aqueous Solution by UV/H₂O₂, Vol., N° (2013); 224 p.

¹⁴ ZHANG, Beibei; FENG, Jianfang y GONG, Tingting. Evaluation of DBPs formation from SMPs exposed to chlorine, chloramine and ozone. En: Journal of Water and Health, Vol., N° 15 (2017); 185-195 p.

con carga orgánica simulada en un reactor CPC, utilizando como contaminante la cepa *E. Coli* ATCC 11229 y como catalizador, TiO₂ P-25 Degussa inmovilizado en fibras textiles. Los resultados obtenidos por el CICAT en el año 2017 indicaron que la inmovilización del TiO₂ en las fibras textiles permite la descontaminación de mayores volúmenes de agua con una cantidad mínima de catalizador, esto debido a la posibilidad de reusar los textiles en diferentes reacciones de desinfección, así mismo, se evidenció una mayor disminución de la concentración bacteriana en pruebas para el TiO₂ inmovilizado respecto al TiO₂ suspendido en los primeros minutos de reacción ¹⁵. Estos resultados son coherentes con los obtenidos por Rincón, et al., ¹⁶ en el año 2014, debido a que en este estudio se confirma que la presencia de TiO₂ acelera el efecto de acción de la luz y la inactivación bacteriana (*E. Coli*) sin recuperación durante 24 h posteriores a la interrupción de la exposición a la radiación solar.

Los resultados obtenidos hasta el momento por el CICAT muestran que se tiene una matriz de agua pura, contaminada únicamente con la bacteria *E. coli*, sin embargo, la realidad es diferente hay otras sustancias presentes en el agua, como impurezas, metales solubles, partículas, materia orgánica y otros microorganismos.

Es por esto que en el presente proyecto de investigación se plantea el análisis de los efectos de sales inorgánicas, que para el caso particular de este trabajo se enfocó en que sobrepasan la norma en el agua para consumo del sector rural del municipio de Lebrija, Santander, ya que es importante determinar la influencia de estas sales para continuar con el estudio detallado de los efectos que tienen los diferentes agentes contaminantes sobre el proceso de fotocátalisis

¹⁵ CAMARGO HOLGUIN, Andrea Stephanie y OROSTEGUI CALDERON, Daniel Fernando. Fotodesinfección de agua contaminada mediante TiO₂ inmovilizado sobre fibras textiles en un reactor Cpc. Bucaramanga, 2017, Tesis Doctoral. Universidad industrial de Santander. Facultad de Ingenierías Físicoquímicas. Escuela De Ing. Química

¹⁶ RINCÓN, Angela Guiovana y PULGARIN, Cesar. Field solar *E. coli* inactivation in the absence and presence of TiO₂: is UV solar dose an appropriate parameter for standardization of water solar disinfection. En: Journals & Books sciencedirect, Vol., N° 77 (635-648, 2004); 635-648 p

heterogénea para su aplicación real a futuro en el tratamiento de agua en sectores con poca o ninguna infraestructura de potabilización.

Buena parte de la fracción inorgánica está en forma soluble, aunque también es significativa la parte insoluble que se presenta en forma de partículas en suspensión. Por su impacto ambiental son más relevantes las especies solubles dado que en esta forma las sustancias son más móviles y su alcance tóxico es mayor ¹⁷. Cuando se desea cuantificar el número de bacterias presentes en múltiples muestras, los procedimientos de rutina suelen consumir mucho tiempo. En ese periodo las muestras podrían sufrir modificaciones en su población. En el presente trabajo se evalúa una alternativa para cuantificar bacterias cultivables de forma masiva y rápida. Las bacterias se incuban el tiempo necesario, se cuentan el número de colonias presentes en la dilución y se calcula el número de Unidades Formadoras de Colonia por mililitro (UFC/mL) para cada muestra. La metodología se denomina "Goteo por Sellado en Placa Masivo" (GSPM) o "Recuento de bacterias por Microgota", y ha sido aplicada para cuantificar exitosamente microorganismos provenientes de diferentes muestras de laboratorio, por ejemplo, de cultivos líquidos, muestras clínicas (como exudados y secreciones) y bacterias presentes en la rizosfera de plantas de maíz. Sin embargo, la metodología se aplica para contabilizar masivamente a bacterias de cualquier otra procedencia ¹⁸. Teniendo en cuenta los trabajos desarrollados anteriormente en el tema se determinó que la fase de crecimiento de *E. Coli* más resistente al estrés oxidativo es la fase estacionaria ¹⁹, dato que

¹⁷ CORRAL LUGO, Andrés; MORALES GARCÍA, Yolanda Elizabeth; PAZOS ROJAS, Laura Abisai y RAMÍREZ VALVERDE, Araceli. Cuantificación de bacterias cultivables mediante el método de "Goteo en Placa por Sellado (o estampado) Masivo. En: Revista Colombiana de Biotecnología, Vol., N° 14 (2012); 147-156 p.

¹⁸ QUISTIÁN GARCÍA, Hylary. La Microbiología, es el estudio de los organismos microscópicos, deriva de 3 palabras griegas: mikros (pequeño), bios (vida) y logos (ciencia) que conjuntamente significan el estudio de la vida microscópica, 2014.

¹⁹ ACOSTA, Sebastian y BAREÑO, Leidy Carolina. Estudio de estrategias para el aumento de la vida útil de textiles fotobactericidas TiO₂/algodón utilizados en la desinfección de aguas contaminadas con *E. coli*. Bucaramanga, 2020, Trabajo de grado. Universidad industrial de Santander. Facultad de Ingenierías Físicoquímicas. Escuela De Ing. Química

se tomó debido a que los objetivos del proyecto se enfocan a estudiar el efecto de desinfección de *E.coli* en su fase estacionaria.

Las sales utilizadas fueron Acetato de plomo (II) y Cloruro de Níquel (II). La sal de plomo es un compuesto químico cristalino de color blanco. Se obtiene tratando litargirio (óxido de plomo (II) o PbO) con ácido acético. Al igual que otros compuestos plúmbeos, es una sustancia muy tóxica además es soluble en agua y glicerina. Con agua, forma el trihidrato, $Pb(CH_3COO)_2 \cdot 3H_2O$, que es una sustancia cristalina monoclinica eflorescente de color blanco o incoloro. La sustancia se usa como reactivo para generar otros compuestos de plomo y como fijador para algunos tintes. En bajas concentraciones, es el principal ingrediente activo en una variada gama de tintes de pelo. También se utiliza como mordiente en impresión y tinte textil y como desecante en pinturas y barnices.

La sal de níquel anhidra es amarilla, pero el hidrato más conocido, $NiCl_2 \cdot 6H_2O$, es verde. Muy raras veces se lo encuentra en la naturaleza. Se utiliza como colorante de la cerámica, para la fabricación de catalizadores de níquel y para el niquelado galvánico. En general es la fuente más importante de níquel para la síntesis química, finalmente las sales de níquel son carcinogénicas.

Estas sales están presentes en el agua del río de Lebrija debido a los altos índices de contaminación que recaen en la mala asistencia técnica de los operarios de las plantas de tratamiento de agua y el deterioro en la infraestructura de las mismas ²⁰.

Por lo cual con el presente trabajo se busca evidenciar, ¿si las sales de (Acetato de plomo (II) y Cloruro de Níquel (II)) inhiben o favorecen el proceso fotocatalítico de desinfección de aguas (sintéticas) contaminadas con *E. coli* utilizando el TiO_2 inmovilizado sobre fibras textiles?

²⁰ ALVARADO RÍOS, Valesca. En 80% de los municipios de Santander se consume agua contaminada, 2017.

1. OBJETIVOS

1.1 OBJETIVO GENERAL

Analizar el efecto de sales inorgánicas (Acetato de plomo (II) y Cloruro de Níquel (II)) en el proceso fotocatalítico de desinfección de aguas (sintéticas) contaminadas con *E. coli*, en su fase estacionaria, utilizando TiO_2 como catalizador.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

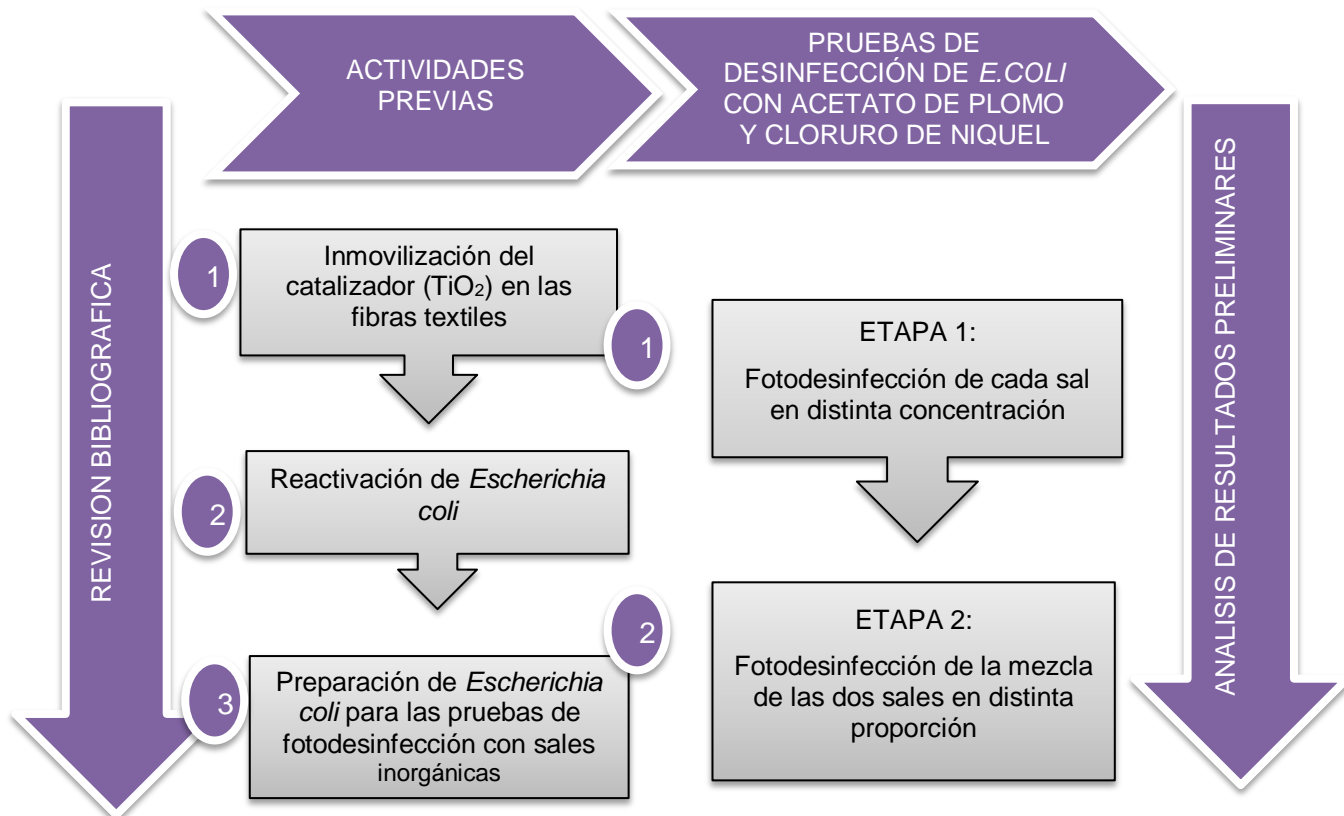
Determinar la influencia de la concentración de cada sal inorgánica sobre la eficiencia del proceso fotocatalítico de desinfección de *E. coli*.

Determinar la influencia de la mezcla de dos sales inorgánicas en distinta proporción, sobre la eficiencia del proceso fotocatalítico de desinfección de *E. coli*.

2. METODOLOGÍA

El proyecto consta de dos etapas fundamentales para dar respuesta a los 2 objetivos específicos propuestos mostradas en la Figura 1. La primera etapa consistió en la fotodesinfección de agua contaminada con *E. coli*, utilizando la sal de manera individual para la modificación de la matriz de agua y en la segunda etapa se usó la mezcla de las dos sales para modificar la matriz de agua que se empleó en el proceso fotocatalítico de desinfección.

Figura 1 Fases metodológicas del proyecto



2.1 ACTIVIDADES PREVIAS

2.1.1 Inmovilización del catalizador (TiO_2) en las fibras textiles. Inicialmente se cortaron las telas (3x3cm) y se filetearon para evitar pérdidas de fibras al momento de la inmovilización del TiO_2 , el textil usado fue tela 100% algodón súper 7, esta tela está compuesta por celulosa en un 91% y el porcentaje restante

se compone de materiales nitrogenados, cera, minerales y agua ²¹. Los textiles se pesaron por triplicado en la balanza (Pioneer, OHAUS CORP, legibilidad de 0.0001g), y se lavaron en una solución 0,2 molar de NaOH ²² 100% (Merck) para remover partículas suspendidas en la tela, como polvo, se usó 1 agitador magnético a 6000 rpm en la agitadora magnética (Age Velp Scientifica) posterior a esto se lavaron con agua destilada para remover el NaOH de las telas ²³, luego se llevaron al horno (Precisión, Thermo Scientific, Paffor 40X) en donde se secaron a 100°C por 1 hora, para ser pesadas nuevamente por triplicado.

En simultáneo se preparó una solución 0,4 g de TiO₂ comercial Degussa P-25 por litro de agua destilada ²⁴ esta se llevó al Ultra Turrax (IKA T25 Digital) a 4000 rpm por 35 minutos, con el fin de homogenizar la solución y evitar aglomeraciones de las partículas del catalizador, y se reguló el pH a 2,8 con el medidor de pH (Hanna HI 5522) añadiendo gotas de 1 mL de HCl fumante 37% (Merck) paulatinamente, seguidamente se realizó el proceso de inmersión de las telas en la solución del catalizador en una pecera (21x21x15 cm) con un agitador magnético a 6000 rpm por 1 hora y fotoactivada con una lámpara de luz negra a 20W, con el fin de mejorar la capacidad de adherencia del catalizador en las telas ²⁵, posterior a este procedimiento se llevaron los textiles a un proceso de secado por 1 hora en el horno a 100°C. Para garantizar el tiempo de secado se subió rápidamente la temperatura a 120°C, sacando las telas por unos segundos y

²¹ RIELLO, Giorgio y PARTTHASARATHI, Prasannan. The spinning world: a global history of cotton textiles. Oxford: Oxford University, 2001. 261-190 p.

²² CABALLERO ESPARZA, Mónica Patricia y MARTINEZ RUGELES, Deisy Milena. Incremento de la vida útil de fibras textiles modificadas con TiO₂ en la desinfección de aguas contaminadas con e. coli en un reactor captador parabólico compuesto. Bucaramanga: Universidad industrial de Santander, 2017. 32 p.

²³ VELASCO ROZO, Edwing Alexander. Estudio de la inmovilización de tio₂ en poliéster funcionalizado para el desarrollo de textiles fotobactericidas. Bucaramanga, 2014, Trabajo de maestría. Universidad industrial de Santander. Facultad de Ingenierías Físicoquímicas. Escuela De Ing. Química. 36-43 p.

²⁴ CUERVO ARIAS, Laura Juliana y NIÑO PARRA, Silvia Juliana. Análisis de la fotodesinfección de agua contaminada con coliformes mediante TiO₂ inmovilizado sobre un textil a escala laboratorio. Bucaramanga, 2019, Trabajo de grado. Universidad industrial de Santander. Facultad de Ingenierías Físicoquímicas. Escuela De Ing. Química, 27-39 p.

²⁵ *Ibíd.*

llevándolas nuevamente al horno para generar un choque térmico (curado). Este procedimiento mejora la adherencia de las partículas de TiO₂ en los textiles ²⁶, para finalizar se llevan las telas al baño de ultrasonido (Ultrasonic Cleaner Elma E120H) durante 15 minutos con agua destilada para remover partículas de TiO₂ débilmente adheridas a las telas, luego de dejarlas secar se pesan por triplicado para evaluar la cantidad de catalizador inmovilizado por diferencias de pesos (Ver Anexo C).

2.1.2 Reactivación de *Escherichia coli*. Se tomó la cepa E. Coli ATCC 11229 preservada a -70°C en el ultra congelador freezer (Thermo Scientific 88000 Series) ubicado en el centro de investigación de enfermedades tropicales, CINTROP, del cual se procedió a la reactivación de la bacteria en el medio agar Plate Count (Oxoid) previamente servido en cajas de Petri (vidrio) a 20 ml cada uno y esterilizado en el autoclave (All American 75X) a 121°C y 15 Psi durante 15 minutos, se siembra el microorganismo por agotamiento y se lleva al horno (Precisión, Thermo Scientific, Paffor 40X) a 37°C por 24h (Ver Anexo D).

2.1.3 Preparación de *Escherichia coli* para las pruebas de fotodesinfección con sales inorgánicas. Se preparó el pre-inóculo en tubos de centrifuga de polipropileno previamente llenados con 13 ml de solución salina esterilizada y con el Asa bacteriológica se tomaron unidades formadoras de colonia reactivabas y se diluyó en la solución, ésta se agitó en el vórtex (V1 plus BOECO), y se determinó la densidad óptica con el espectrofotómetro de ultravioleta visible (Hewlett-Packard modelo 8453) a una longitud de onda de 600nm. La solución debe alcanzar un valor de absorbancia de 0,13; correspondiente a la escala 0,5 de Mc Farland equivalente a una concentración inicial de 10⁸ Unidades Formadoras de Colonia/ mililitro (UFC/ml) ²⁷. En

²⁶ CAMARGO HOLGUIN, Andrea Stephanie y OROSTEGUI CALDERON, Daniel Fernando. Fotodesinfección de agua contaminada mediante TiO₂ inmovilizado sobre fibras textiles en un reactor Cpc. Bucaramanga, 2017, Tesis Doctoral. Universidad industrial de Santander. Facultad de Ingenierías Físicoquímicas. Escuela De Ing. Química, 24 p.

²⁷ MEDICINA & LABORATORIO. Programa de Educación Médica Continúa Certificada. En: Edimeco, Apéndice 2, Medios, reactivos y control de calidad. Vol., 15, N° (11-12, 2009); 549-588 p.

simultáneo se preparó 50ml de caldo de cultivo compuesto por 10g/L triptona (Oxoid), 10g/L NaCl (Merck) y 5g/L extracto de levadura (Oxoid), con agua destilada, y posteriormente esterilizada, del cual se vertió 4,5 ml en un matraz de Erlenmeyer y 0,5 ml del pre- inóculo, esta se dejó en la incubadora (Shaker Unimax 1010) por 18h a 37°C y a 150 rpm.

Para obtener el inóculo, se vertieron 45 ml de caldo de cultivo al matraz de Erlenmeyer del pre- inóculo y se dejó en la incubadora a las mismas condiciones del mismo por un tiempo de 24h; tiempo necesario para que *E. coli*, alcance la fase de crecimiento más resistente para llevar a cabo las pruebas de desinfección²⁸ (Ver Anexo E) .Transcurridas las 24h de crecimiento microbiano, se retiró el matraz de la incubadora y se empezó a purificar la bacteria a fin de tener el microorganismo más limpio para las pruebas de inactivación; luego se tomó 1 ml de bacteria por tubo de centrifuga de polipropileno de 15 ml, a éstos se le agregó 1 ml de solución salina y se llevó a la centrifugadora (Scientific LC-04R) por 15 minutos a 1500 rpm. La bacteria se aglomeró en el fondo del tubo, fenómeno conocido como pellet, y se descartó el sobrenadante, a la sustancia adherida en el fondo se le agregó 1 ml de solución salina se agito en el vórtex (V1 plus BOECO), y se llevó nuevamente a la centrifugadora por 15 minutos a 1500 rpm, se descartó el sobrenadante. A esta se le agregó 1 ml de solución salina, agitándola nuevamente en el vórtex. Una vez finalizado todo el proceso anterior queda lista la bacteria para ser llevada a las pruebas de desinfección fotocatalítico en los reactores de borosilicato (Ver Anexo F).

²⁸ CUERVO ARIAS, Laura Juliana y NIÑO PARRA, Silvia Juliana. Análisis de la fotodesinfección de agua contaminada con coliformes mediante TiO₂ inmovilizado sobre un textil a escala laboratorio. Bucaramanga, 2019, Trabajo de grado. Universidad industrial de Santander. Facultad de Ingenierías Físicoquímicas. Escuela De Ing. Química, 39 p.

2.2 PRUEBAS DE DESINFECCIÓN DE E. COLI CON ACETATO DE PLOMO Y CLORURO DE NIQUEL

2.2.1 Fotodesinfección de cada una de las sales en distinta concentración

Para determinar la influencia de la concentración de cada sal inorgánica sobre la eficiencia del proceso fotocatalítico se hizo necesario utilizar niveles de concentraciones distintos, para ello se tomaron las concentraciones máximas permitidas de la Resolución 2115 de 2007 para elementos o compuestos químicos ²⁹ teniendo como referencia el informe de agua de consumo del municipio de Lebrija-Santander (Ver anexo B). En la Tabla 1 se presentan los dos niveles de concentración correspondientes a la Etapa 1.

Tabla 1. Concentraciones usadas en la Etapa 1

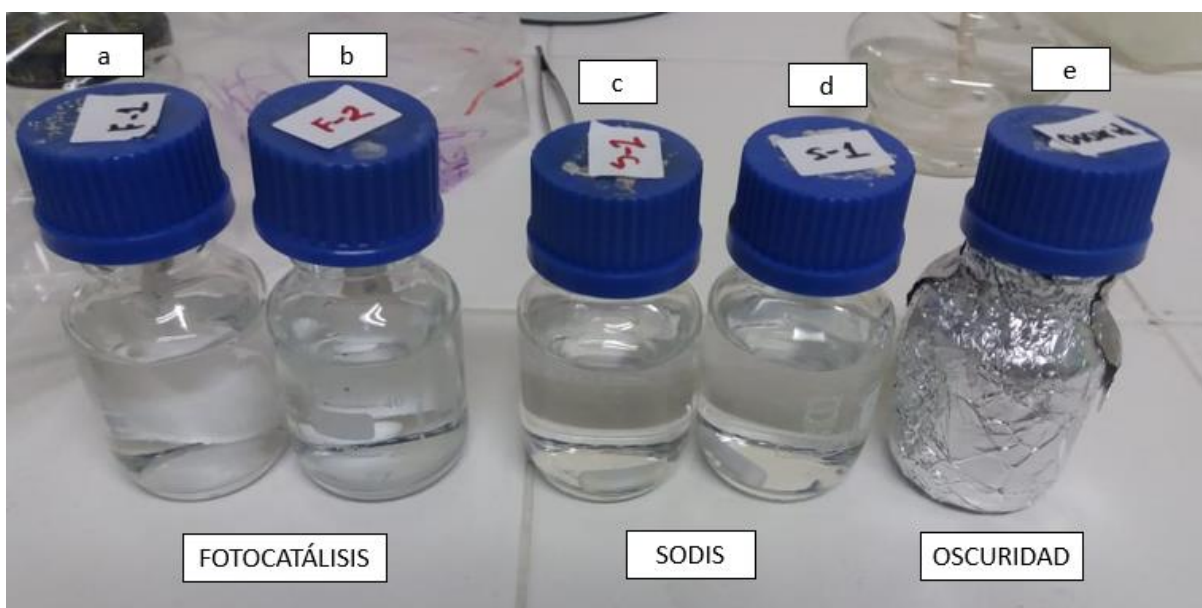
<i>ESCENARIO</i>	<i>Nivel 1 (mg/L)</i>	<i>Nivel 2 (mg/L)</i>
<i>A. ACETATO DE PLOMO</i>	<i>0,01</i>	<i>0,05</i>
<i>B. CLORURO DE NIQUEL</i>	<i>0,02</i>	<i>0,05</i>

Se preparó la sal correspondiente a cada nivel con agua tipo 1 estéril, y se vertieron 49 ml en 5 frascos de borosilicato previamente esterilizado, los frascos de borosilicato que actúan como reactores Batch o por lotes. Posteriormente se agregó 1 ml de bacteria a cada frasco. Dos de los frascos fueron usados para la prueba SODIS, la cual contiene la sal y la bacteria. Los otros dos frascos fueron utilizados para la prueba de FOTOCATÁLISIS. En esta prueba se adicionó una

²⁹ MINISTERIO DE LA PROTECCIÓN SOCIAL, MINISTERIO DE AMBIENTE, VIVIENDA Y DESARROLLO TERRITORIAL Op. Cit. 2017.

tela con el catalizador TiO_2 inmovilizado. En el último frasco se hizo la prueba en OSCURIDAD, la cual incluye la tela con el catalizador TiO_2 inmovilizado y este frasco se envolvió en papel aluminio, como se muestra en la figura 2. Todos los frascos se llevaron al simulador de radiación solar SUNTEST (CPC + ATLAS) ubicado en el laboratorio de fotocatalisis del Centro de Investigaciones en Catálisis CICAT del Parque Tecnológico UIS Guatiguara, en donde se realizó la prueba de desinfección de *E. coli* con las sales inorgánicas.

Figura 2. Representación de los reactores empleados en las pruebas de desinfección. (a, b) Proceso fotocatalítico de desinfección con la tela inmovilizada de TiO_2 . (c, d) Proceso de desinfección de luz solar SODIS. (e) Proceso de desinfección con la tela inmovilizada en oscuridad.



Las pruebas se sometieron a desinfección en el suntest por 3 horas de las cuales en la primera hora se tomaron muestras cada 10 minutos, seguidamente cada media hora hasta completar las 2 horas y la última se tomó a las 3 horas. Posterior a esto se procedió a hacer las diluciones en tubos de microcentrífuga de propileno (Eppendorf™ 0030108051 LoBind) de 1.5ml estéril previamente preparadas con 0.9ml de solución salina esterilizada, y se sembró la bacteria por triplicado según la técnica de microgota, mediante el uso de una micropipeta de 10 microlitros (Brand Germany Transferpette's), en cajas de Petri previamente servidas con agar a 20ml estéril a 37°C (Ver Anexo G).

Después de sembrar el microorganismo se dejó secar las gotas por 1 hora, luego se colocaron las cajas petri en el horno a 37°C boca abajo por 18-24 horas, tiempo en el que son retiradas y se procede a contar las unidades formadoras de colonia, según metodología microgota (Ver anexo H, L).

Finalizada la prueba de desinfección fotocatalítica, se dejaron los reactores en agitación magnética y se ajustó la temperatura de la plancha (Age Velp Scientifica) a 37°C por 24 horas, a fin de determinar si hubo desinfección total o solo parcial de *E. coli*, mediante la toma de 24 horas. Transcurrido ese tiempo, se realizaron las diluciones correspondientes y la siembra del microorganismo tal cual se hizo en cada toma durante la prueba de desinfección, y se dejó el Petri boca abajo en el horno por 16 horas para su respectiva cuantificación.

2.2.2 Fotodesinfección de la mezcla de las dos sales en distinta proporción

Para determinar la influencia de la mezcla de las dos sales en distinta proporción sobre la eficiencia del proceso fotocatalítico se recurre a la misma metodología del apartado anterior, en este caso se utilizaron las mismas sales y el nivel de concentración se presenta en la tabla 2.

Tabla 2. Concentraciones usadas en la Etapa 2

<i>ESCENARIO</i>	<i>Nivel 1 (mg/L)</i>	<i>Nivel 2 (mg/L)</i>
<i>A. ACETATO DE PLOMO +</i>	<i>A. 0,01 +</i>	<i>A. 0,05 +</i>
<i>B. CLORURO DE NIQUEL</i>	<i>B. 0,02</i>	<i>B. 0,05</i>

Las pruebas de desinfección fotocatalítica se llevó acabo siguiendo la metodología del apartado anterior, en el anexo I y el Anexo L se presenta el procedimiento de preparación de las sales para llegar a las concentraciones, contempladas en las tablas 1 y 2.

3.RESULTADOS

Los resultados obtenidos durante las pruebas de desinfección o inactivación de *Escherichia coli*. se representan en forma de gráficas, las cuales en el eje (Y), indica las Unidades Formadoras de Colonia por mililitro (UFC/mL) estandarizadas a la forma C/Co, es decir, el valor de concentración en UFC/mL de cada muestra en el tiempo, dividido en el valor de concentración inicial en UFC/mL. (El cual pertenece a la toma cero correspondiente a 10^8 UFC/mL, según la escala de Mc Farland del patrón de turbidez)³⁰. El eje (X), representa el tiempo de reacción en horas (h), la cual para los 5 reactores (Ver Figura 2) de cada prueba fue de 3 horas.

Por otro lado, en las siguientes figuras se observará la desviación de los datos en cada uno de los puntos de cada curva, lo cual indica que aquellos puntos sin barras de error representan lecturas iguales del número de colonias observadas en las gotas de una dilución. Adicional a esto, en algunas curvas se podrá observar una significativa desviación que puede atribuirse a la técnica de conteo empleada, puesto que, para mayores concentraciones de Microorganismo (MO), no se puede realizar el adecuado conteo del número colonias totales en las diluciones sembradas; esta situación se presentó en los estudios realizados por Camargo y Oróstegui³¹, en donde se afirma que a mayor cantidad de número de colonias existe una mayor desviación en los resultados.

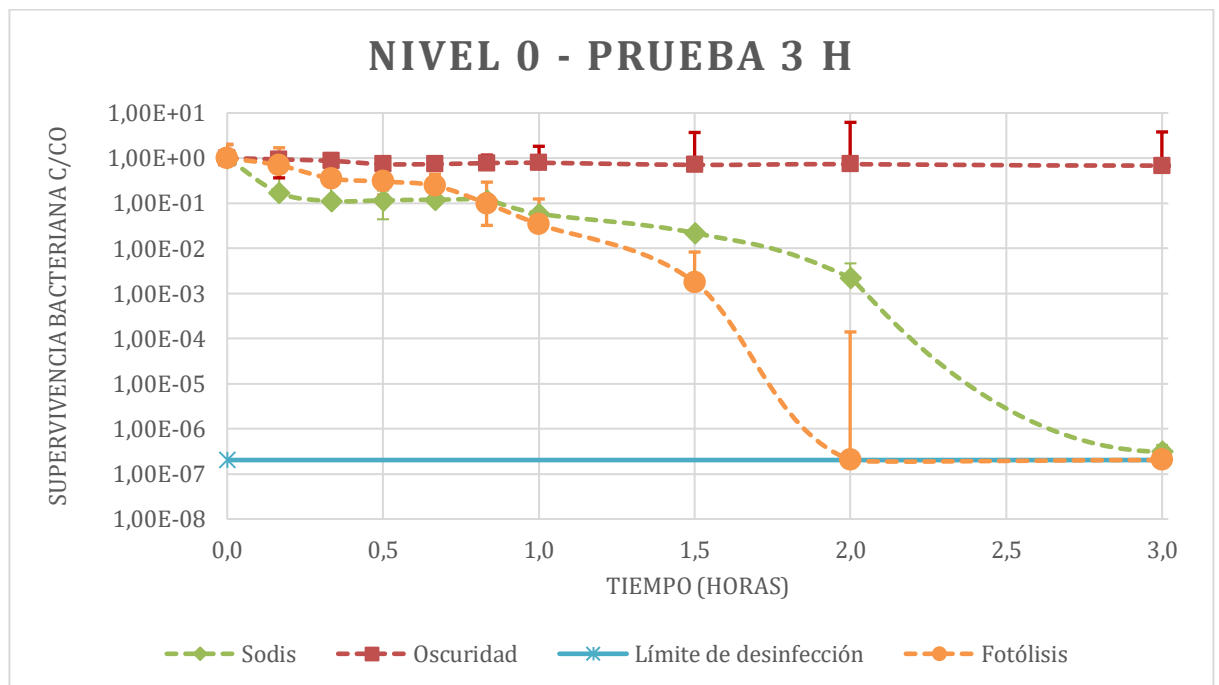
Todos estos datos fueron obtenidos por la técnica de microgota realizando la dilución de cada muestra y obteniendo el promedio de unidades formadas de colonia para posteriormente ser compilados en las hojas de cálculo y poder realizar las curvas para el Sodis, Fotólisis y Oscuridad, cada una con su

³⁰ MEDICINA & LABORATORIO. Programa de Educación Médica Continúa Certificada. En: Edimeco, Apéndice 2, Medios, reactivos y control de calidad. Vol., 15, N° (11-12, 2009);

³¹ CAMARGO HOLGUÍN, Andrea Stephanie y ORÓSTEGUI CALDERÓN, Daniel Fernando. Fotodesinfección de agua contaminada mediante TiO₂ inmovilizado sobre fibras textiles en un reactor CPC. Trabajo de grado Ingeniero Químico.

respectiva replicar para poder garantizar la veracidad de los resultados obtenidos y así disminuir el error presente en este tipo de pruebas.

Figura 3. Inactivación fotocatalítica de *E. coli* en Oscuridad, Sodis y con TiO₂ suspendido a una concentración de fotocatalizador de 0,4 (g/L) y una potencia de radiación de 250 (W/m²)

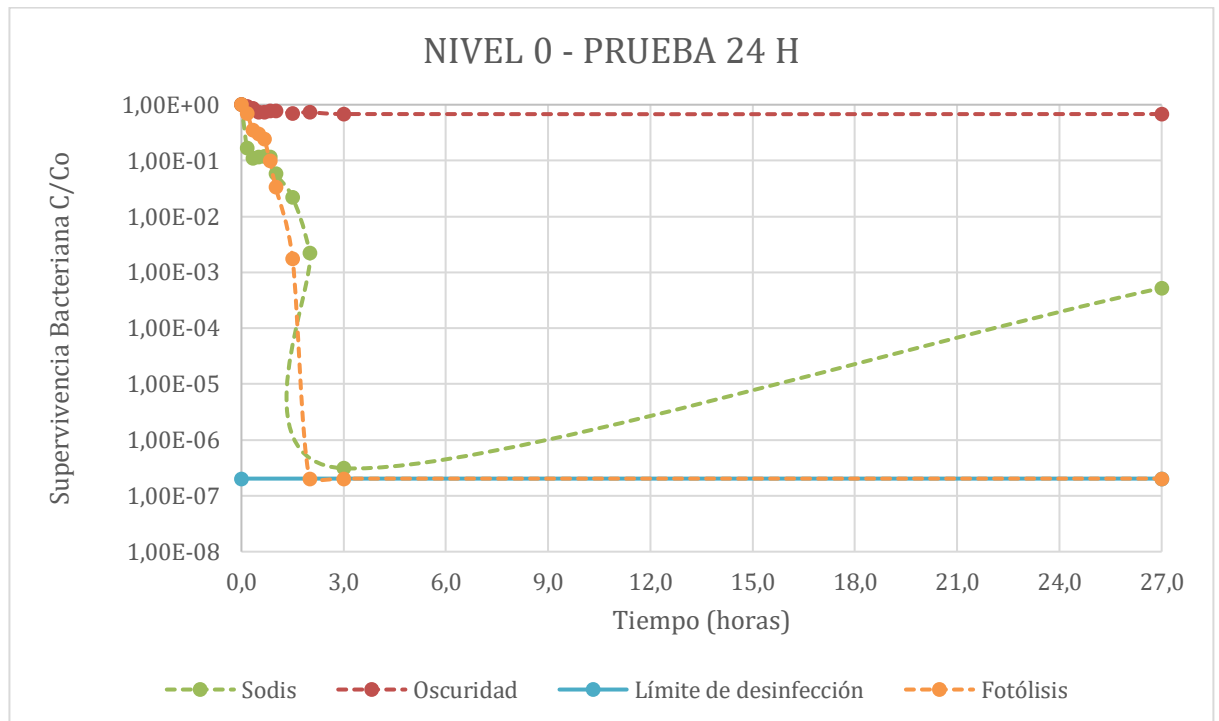


En la figura 3 se observa que Sodis tiende a alcanzar el límite desinfección a las 3 horas; mientras tanto que Fotólisis, utilizando la tela, alcanzó el límite de desinfección a las 2 horas, mostrando una eficiencia del 100%. De igual forma se evidenció que utilizando la tela impregnada con el catalizador mejora la rapidez para lograr la desinfección. Además, se puede ver que oscuridad no realiza la fotodesinfección durante el tiempo de la prueba identificando un comportamiento lineal a lo largo de las 3 horas ya que el aluminio que está alrededor del reactor impide la radiación y al no llegar la radiación al fotocatalizador tampoco se activa y no se puede realizar el proceso logrando con ello que la bacteria se adapte al nuevo medio y no muera, manteniéndose alrededor de la concentración inicial.

Esta figura 3 se tomará como base para compararla con los posteriores 6 niveles en donde se utiliza la sal de acetato de plomo (II) y cloruro de níquel (II) a diferentes concentraciones y finalmente la mezcla de estas sales para comparar

el efecto de la concentración en el proceso de fotodesinfección utilizando dióxido de titanio (TiO_2) como catalizador.

Figura 4. Toma 24h después de la prueba de inactivación fotocatalítica de E. coli en Oscuridad, Sodis y con TiO_2 suspendido a una concentración de fotocatalizador de 0,4 (g/L) y una potencia de radiación de 250 (W/m^2)



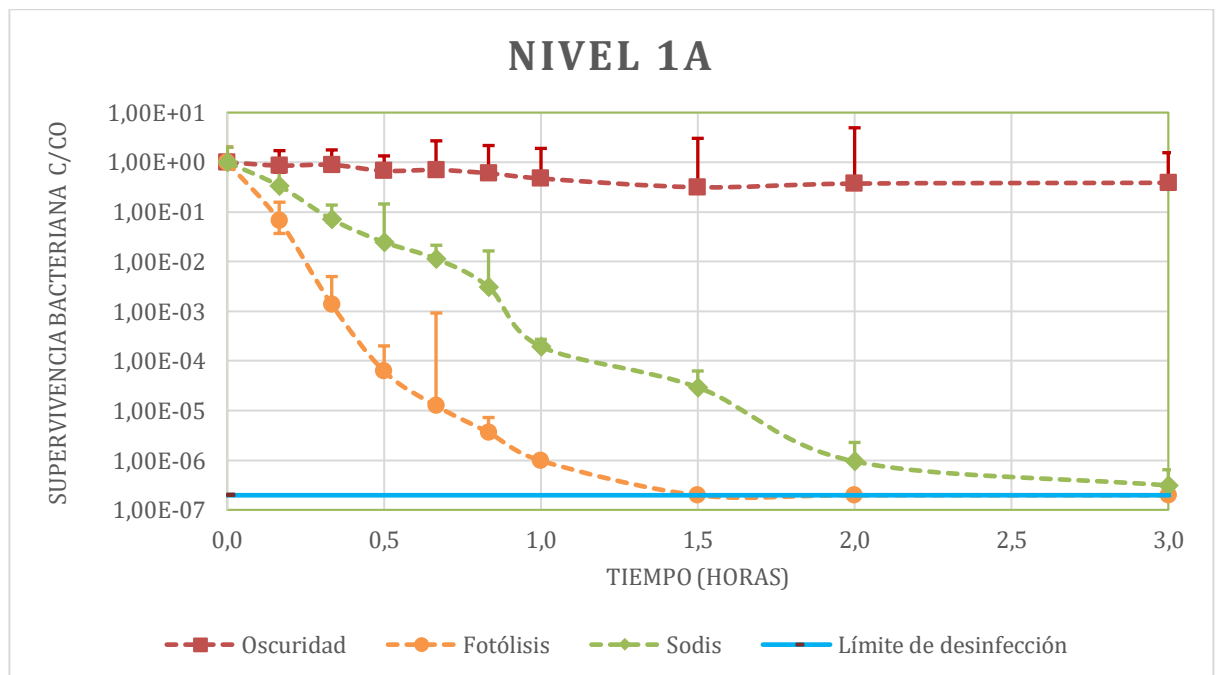
Finalmente, en la figura 4 se observa que sucede 24 horas luego del proceso de fotodesinfección el cual tarda 3 horas, se puede apreciar que Sodis que no alcanza el límite de desinfección a las 3 horas entra en una fase estacionaria, es decir la bacteria se logra adaptar al medio por lo que este crece e indica su estabilidad en la concentración final de la desinfección, debido a que ya no está bajo el efecto de la irradiación lumínica.

Fotólisis no presenta crecimiento de la bacteria señalando la alta eficiencia de la desinfección con el fotocatalizador, mientras tanto oscuridad se mantiene constante señalando que sin el efecto de este proceso la bacteria no se muere durante las 27 horas que se realizaron las pruebas.

Asimismo, la figura 4 se utilizó para compararla con cada nivel y con ello estudiar que efecto tenía estas sales 24 horas después de la prueba de inactivación fotocatalítica de *E. coli* en Oscuridad, SODIS y con TiO_2 .

3.1 FOTODESINFECCIÓN DE CADA UNA DE LA SALES EN DISTINTA CONCENTRACIÓN

Figura 5. Inactivación fotocatalítica de *E. Coli* en oscuridad, SODIS y con TiO_2 suspendido a una concentración de Sal de plomo a 0,01 mg/L

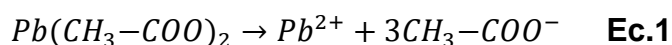


En la figura 5 se puede observar que la curva de fotodesinfección para el Nivel 1A, la cual corresponde a una baja concentración de la sal de plomo, presenta para fotólisis una disminución drástica del microorganismo en la primera media hora de reacción y un porcentaje de desinfección cercano al 50%. Esta disminución exponencial de la concentración bacteriana en los primeros minutos de reacción, se le atribuye al proceso fotocatalítico ocurrido en la superficie del catalizador, generando la liberación de especies oxidantes altamente perjudiciales para el microorganismo como consecuencia de las reacciones de

óxido reducción ³². A esto se le suma que en los primeros minutos de reacción la bacteria entra en una fase de adaptación al nuevo medio ³³, ayudando a la inactivación del microorganismo en este lapso de tiempo.

Es de resaltar la desinfección completa a las 1,5h de reacción para el proceso de fotólisis, lo que indica es que, la sal de plomo a baja concentración favorece la inactivación fotocatalítica de la *E. coli*, aumentando la eficiencia del proceso. Este resultado coincide con el observado por Moreno, Ballesteros y castro ³⁴.

En resumen, la presencia de sales inorgánicas aumenta la tasa de inactivación, probablemente a las interacciones de sus especies disociadas con TiO₂, lo que produce nuevas ROS (especies reactivas oxidantes) con los medios acuosos. Con tales ROS, pueden degradarse contaminantes e inactivar virus, bacterias y hongos ³⁵. El Acetato de Plomo (Pb (C₂H₃O₂)), se disocian en medio acuoso en:



Al disociarse el Acetato de Plomo forma iones Pb²⁺, estos permiten, acelerar el proceso fotocatalítico de desinfección a esa concentración, caso contrario a lo observado en la Figura 6 en donde no se logró la desinfección total, sino parcial durante la prueba. Esto debido al aumento de la concentración de la sal, señalando que este aumento desfavorece la desinfección, comportamiento que se pudo evidenciar en los resultados obtenidos por (Peng et al., 2007).

³² RIZZO, Luigi. Inactivation and injury of total coliform bacteria after primary disinfection of drinking water by TiO₂ photocatalysis. En: Journal of Hazard Materials. Vol., 165, N° (1 - 3, 2009) 48-51 p.

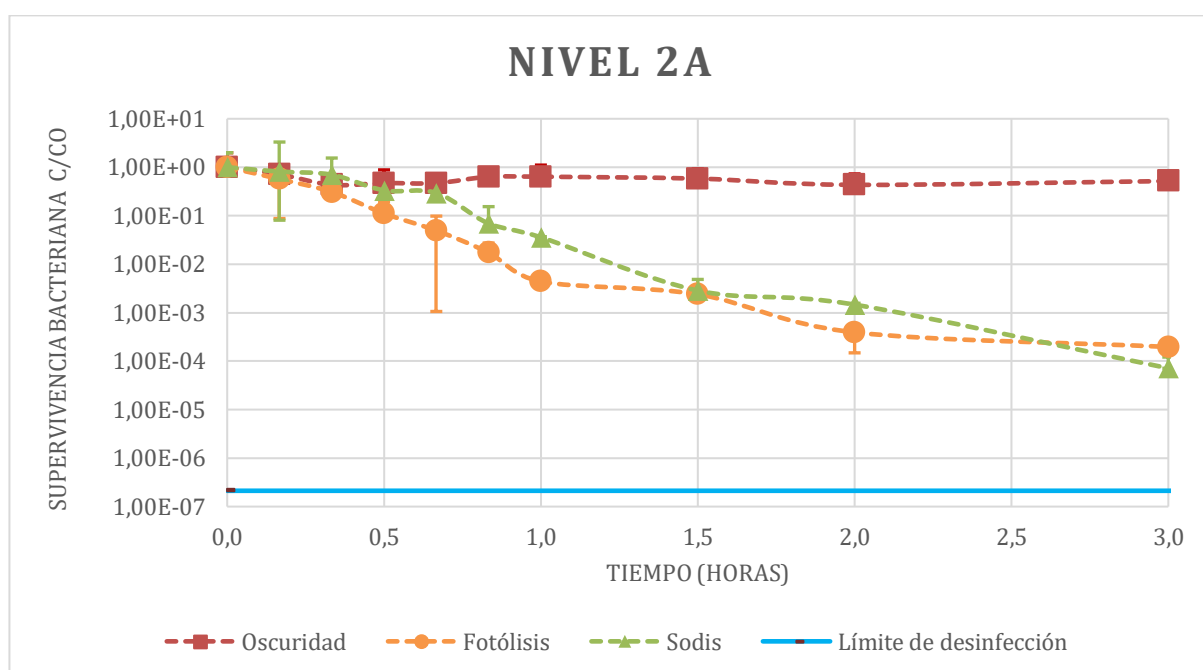
³³ ACOSTA, Sebastian y BAREÑO, Leidy Carolina. Estudio de estrategias para el aumento de la vida útil de textiles fotobactericidas TiO₂/algodón utilizados en la desinfección de aguas contaminadas con *E. coli*. Bucaramanga, 2020, Trabajo de grado. Universidad industrial de Santander. Facultad de Ingenierías Fisicoquímicas. Escuela De Ing. Química

³⁴ MORENO RIOS, Andrea y BALLESTEROS RUEDA, Luz Marina y CASTRO LOPEZ, Camilo. Influence of process variables on the kinetic parameters of a Langmuir-Hinshelwood expression for *E. coli* inactivation during the photocatalytic disinfection of water. En: Separation Science and Technology, 2019.

³⁵ ZHU, Zhiwei y CAI, Huanhuan y SUN, Da-Wen. Titanium Dioxide (TiO₂) hotocatalysis Technology for Nonthermal Inactivation of Microorganisms in Foods. En: Trends in Food Science & Technology. Vol., 75, N° (23-35, 2018)

Además, el crecimiento de *E. coli* puede inhibirse en presencia de Pb^{2+} , teniendo mayor impacto con una cantidad superior de Pb^{2+} , por lo otro lado, se determinó que el ion Pb^{2+} ha participado en el metabolismo de las células de *E. coli*³⁶, por lo que el ion de Pb^{2+} se convierte, en un sustrato para el microorganismo, ya que este último tiende a modificarse internamente para adaptarse al nuevo medio³⁷, y así lograr sobrevivir con lo que le rodea, en este caso con la sal de plomo, la cual la acompaña.

Figura 6. Inactivación fotocatalítica de *E. Coli* en oscuridad, SODIS y con TiO_2 suspendido a una concentración de Sal de plomo a 0,05 mg/L



Para el caso del Nivel 2A (Ver Figura 6) se observa una similitud en las curvas de desinfección tanto para SODIS como Fotólisis durante las 3 horas de reacción, este comportamiento está relacionado con la formación de aglomeraciones del catalizador en el textil, posiblemente a la inmovilización no

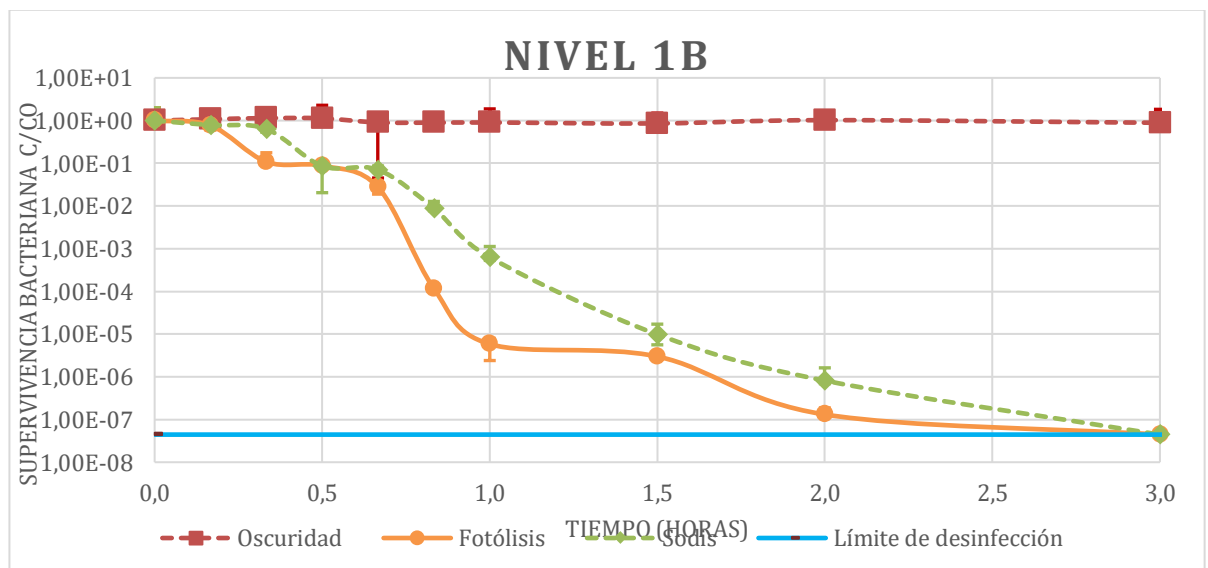
³⁶ PENG, Liu; LIFANG, Ruan; HONGYU, Xiao; XI, Li; CHAOCAN, Zhang. Estudio sobre el efecto tóxico del ion plomo (II) en *Escherichia coli*. Investigación de elementos traza biológicos, (2007). 115 (2), 195-202.

³⁷ FALCÓN GONZÁLEZ, Karina y LOBOS GILABERT, Olga. Efecto antimicrobiano de cepas de *Escherichia coli* productoras de bacteriocinas sobre cepas bacterianas resistentes. Talca, 2019. Tesis Doctoral. Universidad de Talca. Escuela de Tecnología Médica

homogénea, del TiO_2 sobre la superficie ³⁸. Comportamiento observado por Duarte, Fernández ³⁹.

Lo anterior implica que una parte del TiO_2 inmovilizado, no se active (efecto de apantallamiento), atribuido a que los iones de Pb^{+2} bloqueen los sitios activos del catalizador, afectando negativamente la concentración de pares electrón-hueco foto-generados en la superficie del TiO_2 ⁴⁰, en virtud de lo anterior, no se utilizó el total de dióxido de titanio en la reacción, usando una pequeña porción del catalizador inmovilizado, esto finalmente puede explicar el comportamiento similar que presenta Fotólisis y Sodis para este nivel.

Figura 7. Inactivación fotocatalítica de *E. Coli* en oscuridad, SODIS y con TiO_2 suspendido a una concentración de Sal de Níquel a 0,02 mg/L.



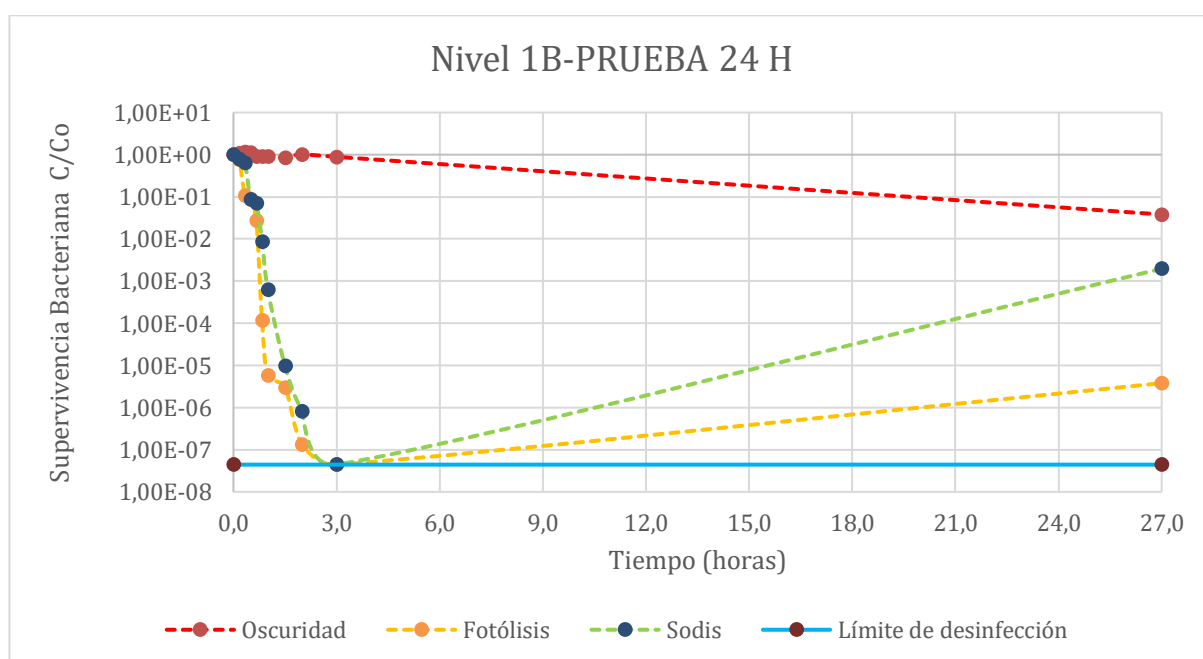
³⁸ DUARTE MANTILLA, María Mercedes y FERNÁNDEZ CRISTANCHO, Eyleen Vanessa. Evaluación de la efectividad del TiO_2 con Ag en la Fotodesinfección de agua utilizando un colector parabólico compuesto (CPC), Trabajo de grado Ingeniero Químico. Bucaramanga: Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ingenierías Físicoquímicas. Escuela de Ingeniería Química, 2012.

³⁹ Ibid

⁴⁰ CUERVO ARIAS, Laura Juliana y NIÑO PARRA, Silvia Juliana. Análisis de la fotodesinfección de agua contaminada con coliformes mediante TiO_2 inmovilizado sobre un textil a escala laboratorio. Bucaramanga, 2019, Trabajo de grado. Universidad industrial de Santander. Facultad de Ingenierías Físicoquímicas. Escuela De Ing. Química

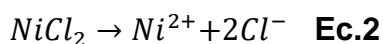
En el Nivel 1B (Ver Figura 7) se observa desinfección paulatina de la concentración bacteriana hasta llegar a las 3h, tanto para Sodis como Fotólisis, en donde logran la desinfección parcial de *E. coli*, sin embargo, en la (ver Figura 8) que muestra que ocurre 24 horas después del proceso de desinfección, señala un incremento de la concentración bacteriana. Por lo cual, la sal de Níquel inhibe en el proceso fotocatalítico de desinfección.

Figura 8. Toma 24h después de la prueba de inactivación fotocatalítica de *E. coli* en Oscuridad, Sodis y con TiO₂ a una concentración de Sal de Níquel a 0,02 mg/L



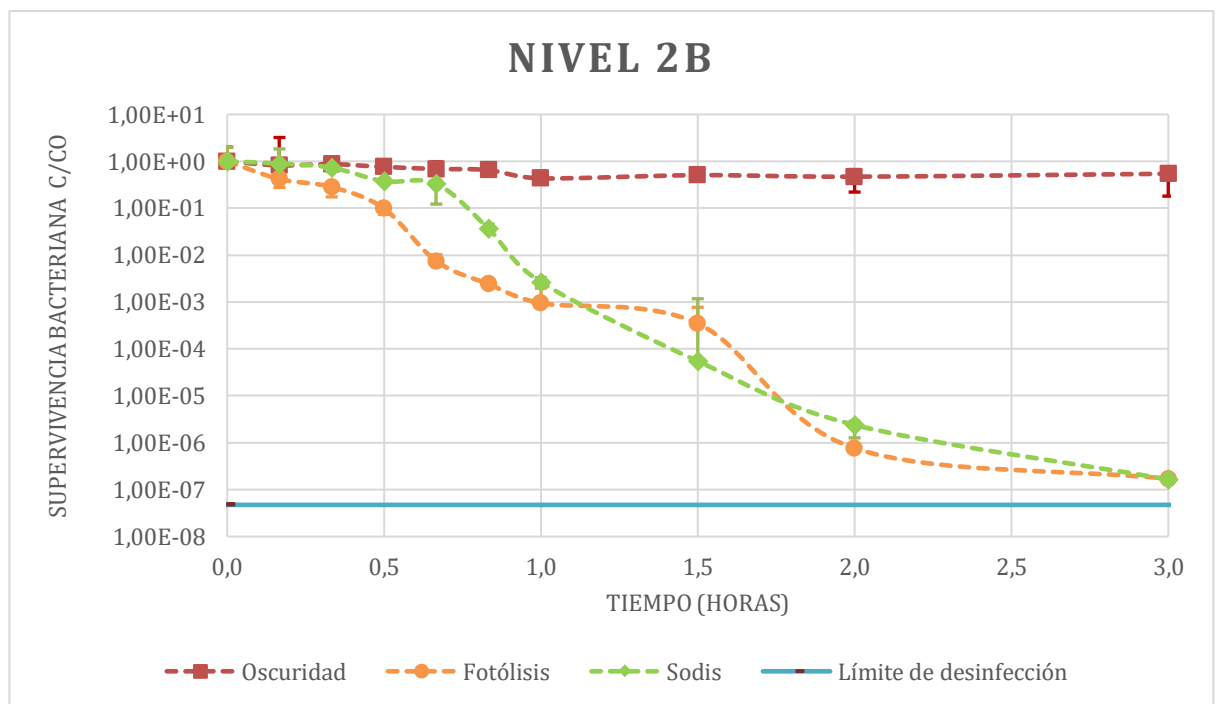
Por otro lado, oscuridad presenta un comportamiento similar al obtenido en la figura 3, ya que mantiene la concentración de la bacteria a lo largo del tiempo de la prueba y posteriormente, 24 horas luego de la desinfección como se observa en la figura 8, demostrando que la bacteria se adapta al medio y no muere en todo el proceso.

Este comportamiento inhibitorio se debe a que el cloruro de Níquel se disocia en el agua generando aniones de cloro (Cl^-) como se puede ver en la ecuación 2:



Los aniones de cloro inhiben el proceso fotocatalítico de desinfección bacteriana, resultado observado por Moreno, Ballesteros y castro ⁴¹, los aniones podrían bloquear los sitios fotoactivos de la superficie del TiO₂ que inhiben la adsorción de los iones de agua al catalizador, previniendo la foto-generación de H⁺, reduciendo así la producción de especies oxidantes.

Figura 9. Inactivación fotocatalítica de *E. Coli* en oscuridad, SODIS y con TiO₂ suspendido a una concentración de Sal de Níquel a 0,05 mg/L



En la figura 9 se puede corroborar que la presencia de $NiCl_2$, reduzca la formación de las especies reactivas oxidantes (ROS) debido al impedimento en la generación de ROS. Para la concentración de 0,05 ppm de Níquel, señala una disminución de la *E. coli* sin llegar al límite de desinfección, debido al aumento en la concentración del Cloruro de Níquel, lo que genera la formación de aniones cloro, por ende, ocasiona bloqueo en los sitios activos del catalizador.

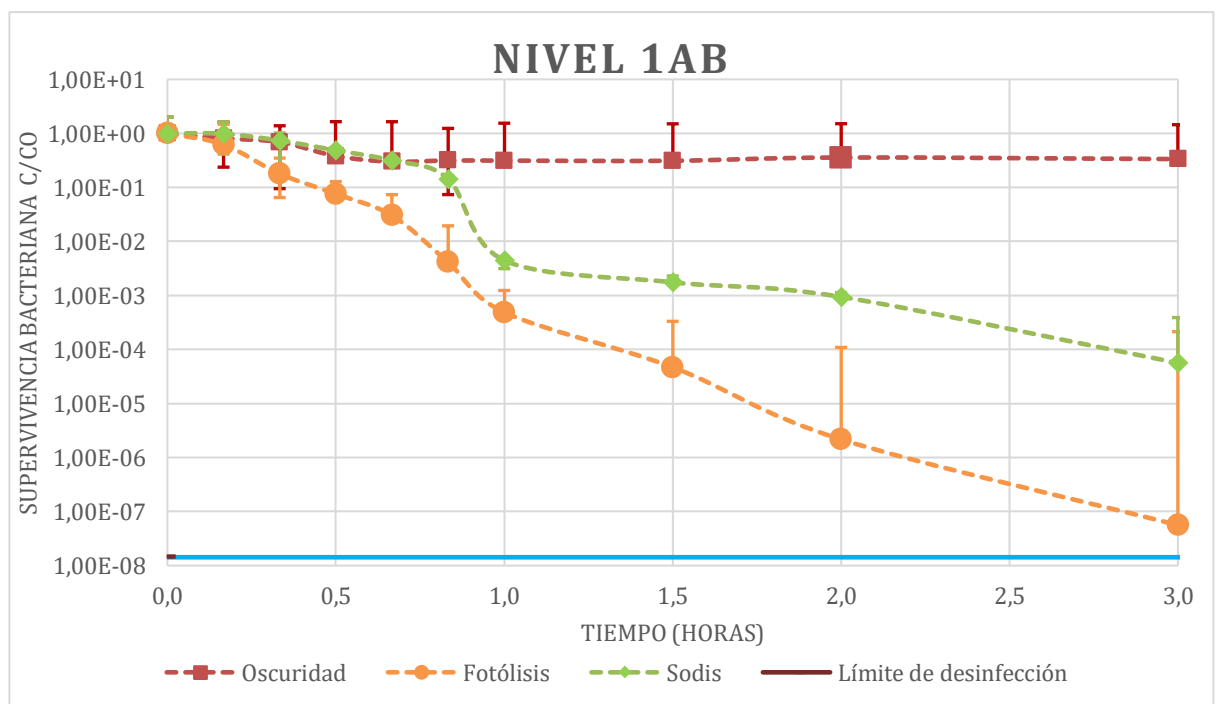
⁴¹ MORENO, Andrea; BALLESTEROS, Luz Marina y CASTRO LÓPEZ, Camilo. Influence of process variables on the kinetic parameters of a Langmuir-Hinshelwood expression for *E. coli* inactivation during the photocatalytic disinfection of water. En: Separation Science and Technology. Oct 2019.

3.2 FOTODESINFECCION DE LA MEZCLA DE SALES

En la figura 9 y 23 se muestra un comportamiento para oscuridad de forma lineal indicando que las sales por sí solas a las concentraciones trabajadas no tienen efecto de desinfección sobre el microorganismo como se había señalado en los anteriores niveles sin embargo para fotólisis tiende a alcanzar el límite de desinfección cercano las 3 horas tardando más respecto a la figura 3 que es el parámetro de referencia y con la cual comparamos los resultados.

En conclusión, la mezcla de las sales muestra que hace tardar el proceso de fotodesinfección y no alcanza el límite de desinfección dejando la bacteria viva y lista para adaptarse al medio como se puede ver en la prueba de las 24 horas donde crece señalando que la sal no tiene efecto negativo sobre la bacteria y esta se adapta al medio permitiéndole mantenerse ya que no se encuentra bajo el estrés oxidativo.

Figura 9. Efecto de la mezcla de las sales de Acetato de plomo y Cloruro de Níquel a 0,01 y 0,02 ppm respectivamente sobre el proceso de fotodesinfección de la E. Coli



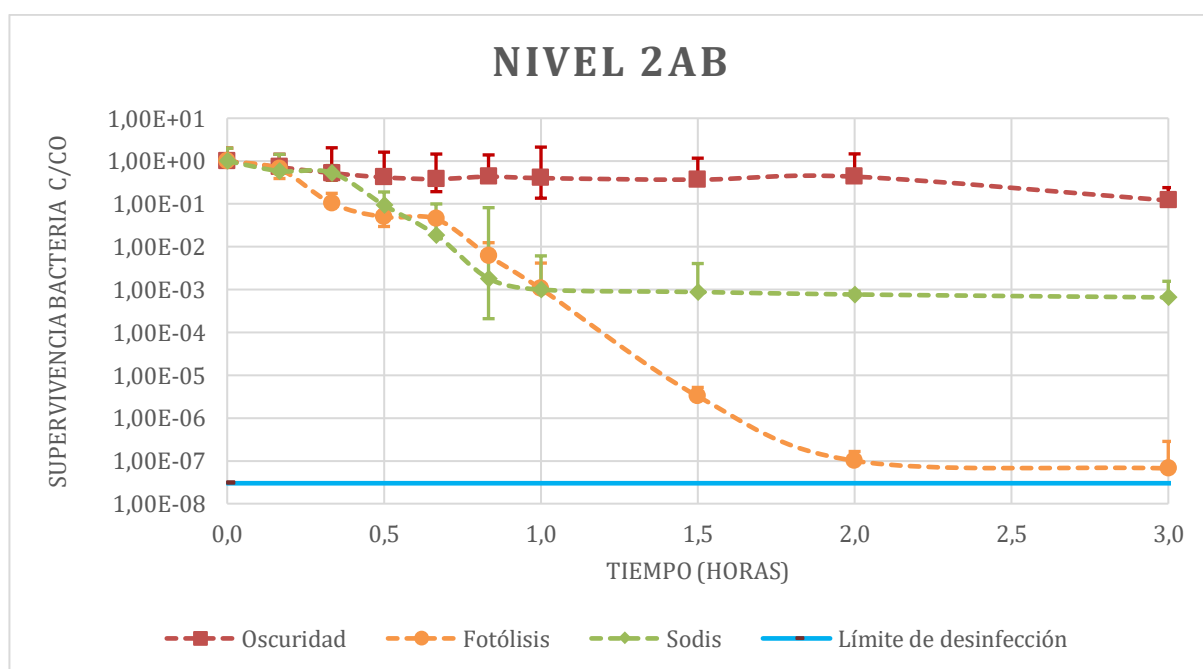
Por otro lado, Sodis no logra alcanzar el límite de desinfección lo que refuerza la teoría de que la mezcla de las sales interrumpe el proceso de fotocátalisis lo que a su vez proporciona un ambiente donde la bacteria se mantiene en una fase estacionaria.

Además, al momento de disociarse las sales en la solución acuosa generan múltiples iones que se ubican en los sitios activos del catalizador disminuyendo el efecto fotocatalítico sobre cada espacio y conlleva a tardar más tiempo para la foto desinfección.

Así mismo cuando el catalizador se desactiva es decir no se le permite el ingreso de un haz de luz a la bacteria entra en una fase de adaptación.

Finalmente, oscuridad como en las anteriores figuras presentando un comportamiento lineal demostrando de que sin la tela impregnada con TiO_2 y estar bajo el efecto de la luz no hay desinfección del agua durante las 27 horas que re realizo las prueba.

Figura 10. Efecto de la mezcla de las sales de Acetato de plomo y Cloruro de Níquel a 0,05 ppm para las dos sobre el proceso de fotodesinfección de la E. Coli



Para la figura 10 analizando el comportamiento de la curva con una mezcla de las sales de carbonato de plomo (II) y cloruro de níquel (II) con concentraciones

0,05 ppm, para las dos, podemos observar que al aumentar la concentración de las sales no logra alcanzar el límite de desinfección y si disminuye el tiempo en aproximarse a este valor, sin embargo tiene una alta eficiencia logrando un 90% de desinfección a las 2 horas, en este punto la bacteria se adapta al medio y ya que no alcanza la fotodesinfección completa la bacteria se mantiene en su fase estacionaria (ver figura 24).

Cabe resaltar que la sal de Níquel tiene un mayor impacto de inhibición sobre el proceso, ya que en la figura 10 se ve un menor efecto debido a que las concentraciones son iguales en las dos sales, sin embargo, cuando se aumenta la de níquel decae la desinfección o inactivación del microorganismo.

Finalmente, una hipótesis obtenida a lo largo del desarrollo del proyecto es que, si la sal de plomo estuviese en mayor cantidad, podría verse favorecido el proceso.

4.CONCLUSIONES

Se analizó el efecto de sales inorgánicas en distinta proporción sobre el proceso fotocatalítico de desinfección de la *Escherichia Coli*; donde se encontró que:

La sal de plomo ($Pb(C_2H_3O_2)_2$) favorece la inactivación del microorganismo a bajas concentraciones, específicamente a la concentración hallada en la Resolución 2115 de Ministerio de Salud Social y Vivienda, por lo que el plomo en pequeñas concentraciones no se involucra en la reacción y por ende se llega a la inactivación de *E. coli*, además al aumentar la concentración de plomo a 0,05 ppm el proceso de fotodesinfección se retarda

Al aumentar la concentración de la sal de plomo a 0,05 ppm, se desfavorece la inactivación fotocatalítica, debido a que iones Pb^{2+} se involucran en el metabolismo de la bacteria lo que provee alimento a ésta y por ende su crecimiento terminada la prueba de desinfección

La presencia de la sal de níquel ($NiCl_2$) disminuye la eficiencia del proceso fotocatalítico de desinfección de la *Escherichia Coli*; debido a los aniones cloro que afectan los sitios activos del catalizador, impidiendo su desarrollo y por ende no logra inactivar el microorganismo

A baja concentración logra llegar al límite de desinfección, pero éste no se mantiene, al aumentar la concentración la desinfección no llega al límite porque se aumentan los aniones cloro lo que reduce la actividad fotocatalítico durante las pruebas de desinfección

En la mezcla de las sales se puede evidenciar que

Que las sales no llegan al límite de desinfección, además hace tardar el proceso de fotodesinfección en mayor medida a bajas concentraciones

Las muestras de 24 horas después de las pruebas, se evidencia que la bacteria entra en un ambiente donde se mantiene en una fase estacionaria.

5. RECOMENDACIONES

Efectuar otro set de experimentos en donde la sal de plomo este a mayor concentración que la sal de níquel, ya que una promueve y la otra inhibe logrando mayor compresión del efecto de estas sales en el proceso de desinfección.

BIBLIOGRAFIA

ACOSTA, Sebastian y BAREÑO, Leidy Carolina. Estudio de estrategias para el aumento de la vida útil de textiles fotobactericidas TiO₂/algodón utilizados en la desinfección de aguas contaminadas con E. coli. Bucaramanga, 2020, Trabajo de grado. Universidad industrial de Santander. Facultad de Ingenierías Fisicoquímicas. Escuela De Ing. Química

ALVARADO RÍOS, Valesca. En 80% de los municipios de Santander se consume agua contaminada, 2017.

ARDILA BARAJAS, Martha Janeth. Evaluación de la eficiencia de la planta de tratamiento para la potabilización de agua del municipio de Lebrija (Santander). Tesis doctoral. Bucaramanga: Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ciencias. Escuela de Química, 2011. 54 p.

AUTIN, Olivier y HART, Julie y MACADAM, Jitka. Comparison of UV/H₂O₂ and UV/TiO₂ for the degradation of metaldehyde: Kinetics and the impact of background organics. En: Water Research, Vol., N° 46 (2012); 5655-5662 p.

CABALLERO ESPARZA, Mónica Patricia y MARTINEZ RUGELES, Deisy Milena. Incremento de la vida útil de fibras textiles modificadas con TiO₂ en la desinfección de aguas contaminadas con e. coli en un reactor captador parabólico compuesto. Bucaramanga: Universidad industrial de Santander, 2017. 32 p.

CAMARGO HOLGUIN, Andrea Stephanie y OROSTEGUI CALDERON, Daniel Fernando. Fotodesinfección de agua contaminada mediante TiO₂ inmovilizado sobre fibras textiles en un reactor Cpc. Bucaramanga, 2017, Tesis Doctoral. Universidad industrial de Santander. Facultad de Ingenierías Fisicoquímicas. Escuela De Ing. Química

CAMARGO HOLGUIN, Andrea Stephanie y OROSTEGUI CALDERON, Daniel Fernando. Fotodesinfección de agua contaminada mediante TiO₂ inmovilizado sobre fibras textiles en un reactor Cpc. Bucaramanga, 2017, Tesis Doctoral. Universidad industrial de Santander. Facultad de Ingenierías Fisicoquímicas. Escuela De Ing. Química, 24 p.

Corporación Autónoma Regional para la Defensa de la Meseta de Bucaramanga. Informe Estado de los Recursos Naturales, 2018. 6-38 p.

CORRAL LUGO, Andrés y MORALES GARCÍA, Yolanda Elizabeth y PAZOS ROJAS, Laura Abisai y RAMÍREZ VALVERDE, Araceli. Cuantificación de bacterias cultivables mediante el método de "Goteo en Placa por Sellado (o estampado) Masivo. En: Revista Colombiana de Biotecnología, Vol., N° 14 (2012); 147-156 p.

CUERVO ARIAS, Laura Juliana y NIÑO PARRA, Silvia Juliana. Análisis de la fotodesinfección de agua contaminada con coliformes mediante TiO₂ inmovilizado sobre un textil a escala laboratorio. Bucaramanga, 2019, Trabajo de grado. Universidad industrial de Santander. Facultad de Ingenierías Físicoquímicas. Escuela De Ing. Química, 27-39 p.

DANE. Proyecciones de población municipales por área, 2005.

DOMÈNECH, Xavier y JARDIM, Wilson y LITTER, Marta. de "Procesos avanzados de oxidación para la eliminación de contaminantes", 2004.

DUARTE MANTILLA, María Mercedes y FERNÁNDEZ CRISTANCHO, Eyleen Vanessa. Evaluación de la efectividad del TiO₂ con Ag en la Fotodesinfección de agua utilizando un colector parabólico compuesto (CPC), Trabajo de grado Ingeniero Químico. Bucaramanga: Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ingenierías Físicoquímicas. Escuela de Ingeniería Química, 2012.

FALCÓN GONZÁLEZ, Karina y LOBOS GILABERT, Olga. Efecto antimicrobiano de cepas de Escherichia coli productoras de bacteriocinas sobre cepas bacterianas resistentes. Talca, 2019. Tesis Doctoral. Universidad de Talca. Escuela de Tecnología Médica

FORERO, Jorge Enrique y ORTIZ, Olga Patricia y RIOS, Fabian. Aplicación de procesos de oxidación avanzada como tratamiento de fenol en aguas residuales industriales de refinería. Vol., N° 3 (2005); 99-100 p.

GIORDAN, André y SOUCHON, (OEI). Organización de Estados Iberoamericanos, de La educación ambiental: guía práctica, Sevilla, 1995.

MARIANI, Melisa Lourdes. Degradación de mezclas de contaminantes en agua utilizando el proceso avanzado de oxidación que emplea la combinación de radiación ultravioleta y peróxido de hidrógeno. Tesis Doctora en Tecnología Química. Argentina: Universidad Nacional del Litoral, 2014.

MEDICINA & LABORATORIO. Programa de Educación Médica Continúa Certificada. En: Edimeco, Apéndice 2, Medios, reactivos y control de calidad. Vol., 15, N° (11-12, 2009); 549-588 p.

Ministerio de la Protección Social y Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial, de Características Químicas que tienen reconocido efecto adverso en la salud humana, resolución 2115 del 2007.

MINISTERIO DE SALUD Y PROTECCIÓN SOCIAL. Informe Nacional de Calidad del Agua para Consumo Humano (INCA). Bogotá, D.C., 2016.

MORENO RIOS, Andrea y BALLESTEROS RUEDA, Luz Marina y CASTRO LOPEZ, Camilo. Influence of process variables on the kinetic parameters of a Langmuir-Hinshelwood expression for E. coli inactivation during the photocatalytic disinfection of water. En: Separation Science and Technology, 2019.

PENG, Liu; LIFANG, Ruan; HONGYU, Xiao; XI, Li; CHAOCAN, Zhang. Estudio sobre el efecto tóxico del ion plomo (II) en *Escherichia coli*. Investigación de elementos traza biológicos, (2007). 115 (2), 195-202.

QUISTIÁN GARCÍA, Hylary. La Microbiología, es el estudio de los organismos microscópicos, deriva de 3 palabras griegas: mikros (pequeño), bios (vida) y logos (ciencia) que conjuntamente significan el estudio de la vida microscópica, 2014.

RIELLO, Giorgio y PARTTHASARATHI, Prasannan. The spinning world: a global history of cotton textiles. Oxford: Oxford University, 2001. 261-190 p.

RINCÓN, Angela Guiovana y PULGARIN, Cesar. Field solar *E. coli* inactivation in the absence and presence of TiO₂: is UV solar dose an appropriate parameter for standardization of water solar disinfection. En: Journals & Books sciencedirect, Vol., N° 77 (635-648, 2004); 635-648 p.

RIZZO, Luigi. Inactivation and injury of total coliform bacteria after primary disinfection of drinking water by TiO₂ photocatalysis. En: Journal of Hazard Materials. Vol., 165, N° (1 - 3, 2009) 48-51 p.

RUAN, Xin-Chao y AI, Rui y JIN, Xiao y ZENG, Qing-Fu. Water, Air, & Soil Pollution. En: Photodegradation of Tri (2-chloroethyl) Phosphate in Aqueous Solution by UV/H₂O₂, Vol., N° (2013); 224 p.

UNESCO. Programa de educación sobre problemas ambientales en las ciudades, Departamento de Urbanismo, Vivienda y Medio Ambiente del Gobierno Vasco: Los Libros de la Catarata, 1995.

VELASCO ROZO, Edwing Alexander. Estudio de la inmovilización de tio₂ en poliéster funcionalizado para el desarrollo de textiles fotobactericidas. Bucaramanga, 2014, Trabajo de maestría. Universidad industrial de Santander. Facultad de Ingenierías Físicoquímicas. Escuela De Ing. Química. 36-43 p.

ZHANG, Beibei y FENG, Jianfang y GONG, Tingting. Evaluation of DBPs formation from SMPs exposed to chlorine, chloramine and ozone. En: Journal of Water and Health, Vol., N° 15 (2017); 185-195 p.

ZHU, Zhiwei y CAI, Huanhuan y SUN, Da-Wen. Titanium Dioxide (TiO₂) photocatalysis Technology for Nonthermal Inactivation of Microorganisms in Foods. En: Trends in Food Science & Technology. Vol., 75, N° (23-35, 2018)

ANEXOS

Anexo A. Valores máximos aceptables para elementos, compuestos químicos y mezclas permitidos para el agua de consumo humano, según resolución 2115 de 2007 expedida por los Ministerios de La Protección Social y el Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial.

Elementos, compuestos químicos y mezclas de compuestos químicos diferentes a los plaguicidas y otras sustancias	Expresados como	Valor máximo aceptable (mg/L)
Antimonio	Sb	0,02
Arsénico	As	0,01
Bario	Ba	0,7
Cadmio	Cd	0,003
Cianuro libre y disociable	CN ⁻	0,05
Cobre	Cu	1,0
Cromo total	Cr	0,05
Mercurio	Hg	0,001
Níquel	Ni	0,02
Plomo	Pb	0,01
Selenio	Se	0,01
Trihalometanos Totales	THMs	0,2
Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (HAP)	HAP	0,01

Tabla 3. Características Químicas que tienen reconocido efecto adverso en la salud humana.

Anexo B. Análisis de las muestras de agua provenientes de la Vereda Santa Rosa del municipio de Lebrija (Santander), realizado por el Centro de Estudios e Investigaciones Ambientales (CEIAM) adscrito a la Universidad Industrial de Santander (UIS).

ANÁLISIS DE RESULTADOS				
Vereda santa Rosa (Punto captación)				
CODIGO LAB.	PARÀMETRO	METODO	UNIDADES	RESULTADO
18-0215	Carbono orgánico total	Standard Methods 5310 B	mg C/L	10
18-0215	**Cromo total	Absorción Atómica - Standard Methods 3030 E y 3111 B	mg Cr/L	<0,05
18-0215	**Mercurio total	Standard Methods 3112 B	mg Hg/L	<0,0005
18-0215	**Plomo Total	Absorción atomica Standard Methods 3030 E y 3111 B	mg/L Pb	<0,05
18-0215	**Arsénico total	Standard Methods 3114 C	mg As /L	<0,005
18-0215	**Cadmio Total	Standard Methods 3030 E, 3111 B	mg Cd /L	<0,005
18-0215	**Níquel Total	Absorción atomica Standard Methods 3030 E y 3111 B	mg Ni/L	<0,05
18-0215	**Selenio total	Standard Methods 3114 B	mg Se/L	<0,003
18-0215	**Cianuro total	Standard Methods 4500- CN F	mg/L CN	<0,010
18-0215	** Coliformes totales	Filtracion membrana	UFC/100 mL	140
18-0215	** E. Coli	Filtracion membrana	UFC/100 mL	0

Tabla 4. Análisis de Resultados de la Vereda Santa Rosa del municipio de Lebrija (Santander)

Anexo C. Proceso Inmovilización del catalizador (TiO_2) en las fibras textiles.

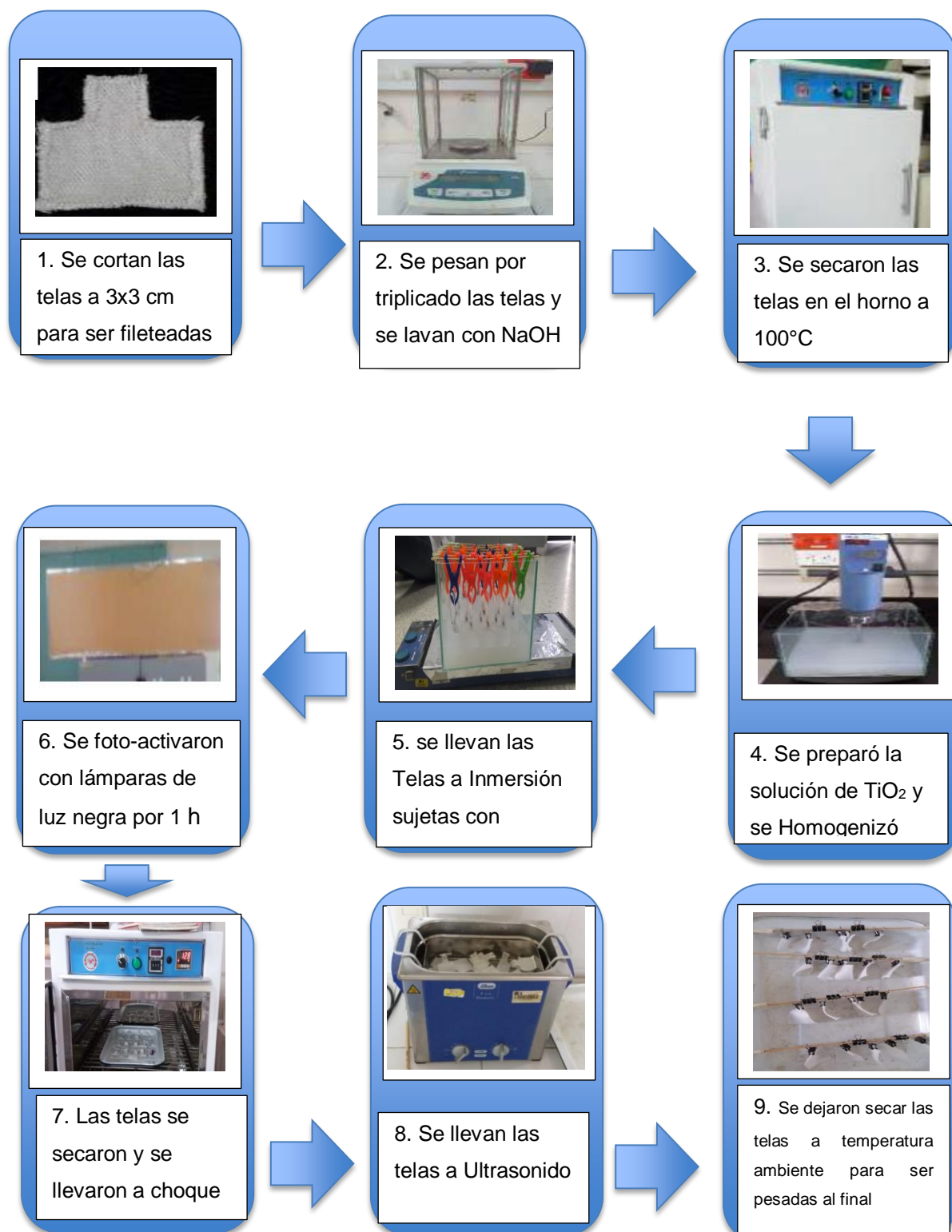


Figura 11. Proceso Inmovilización del catalizador (TiO_2) en las fibras textiles.

Anexo D. Reactivación de *Escherichia coli*.

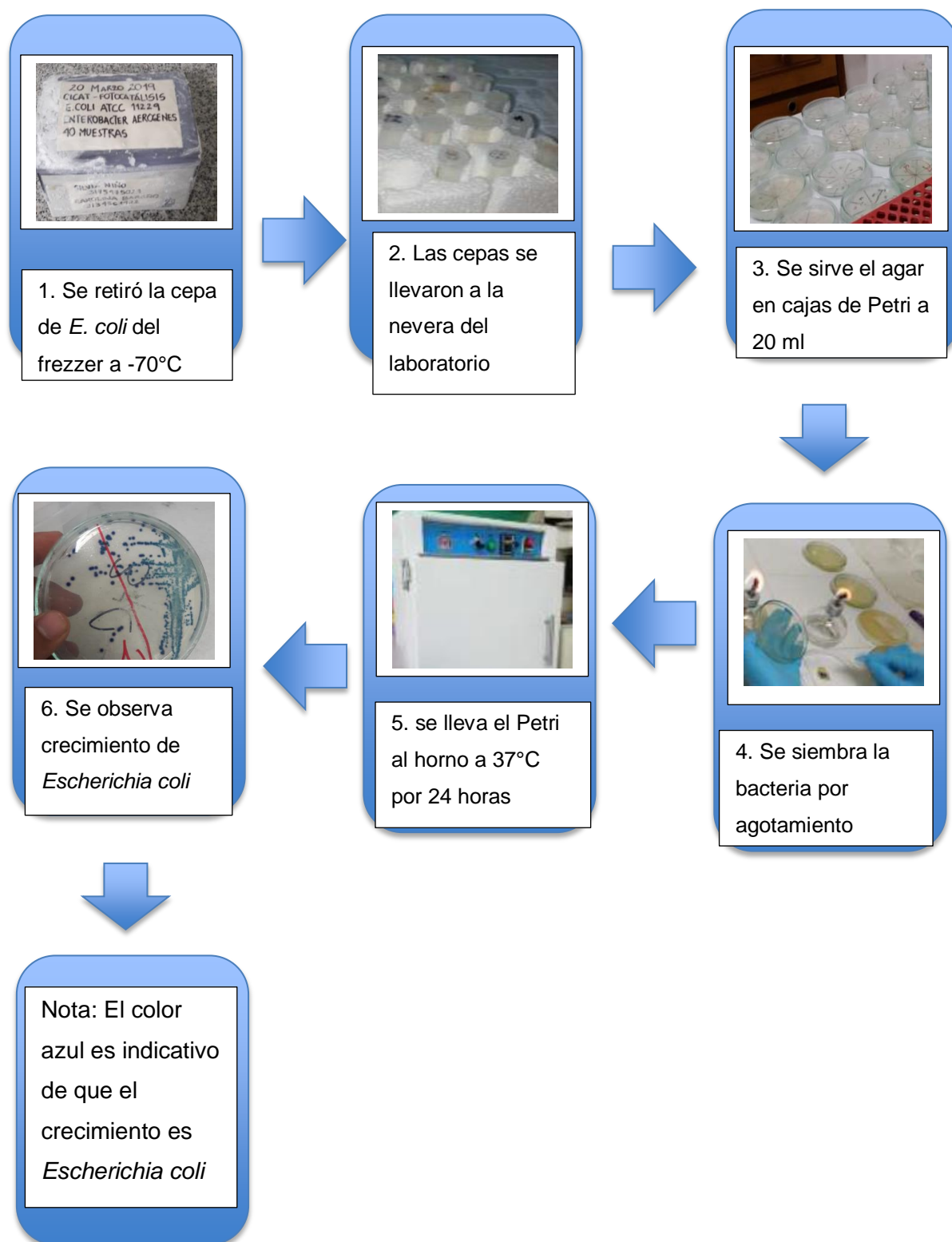


Figura 12. Proceso Reactivación de *Escherichia coli*

Anexo E. Preparación del pre-inoculo e inoculo de *Escherichia coli*

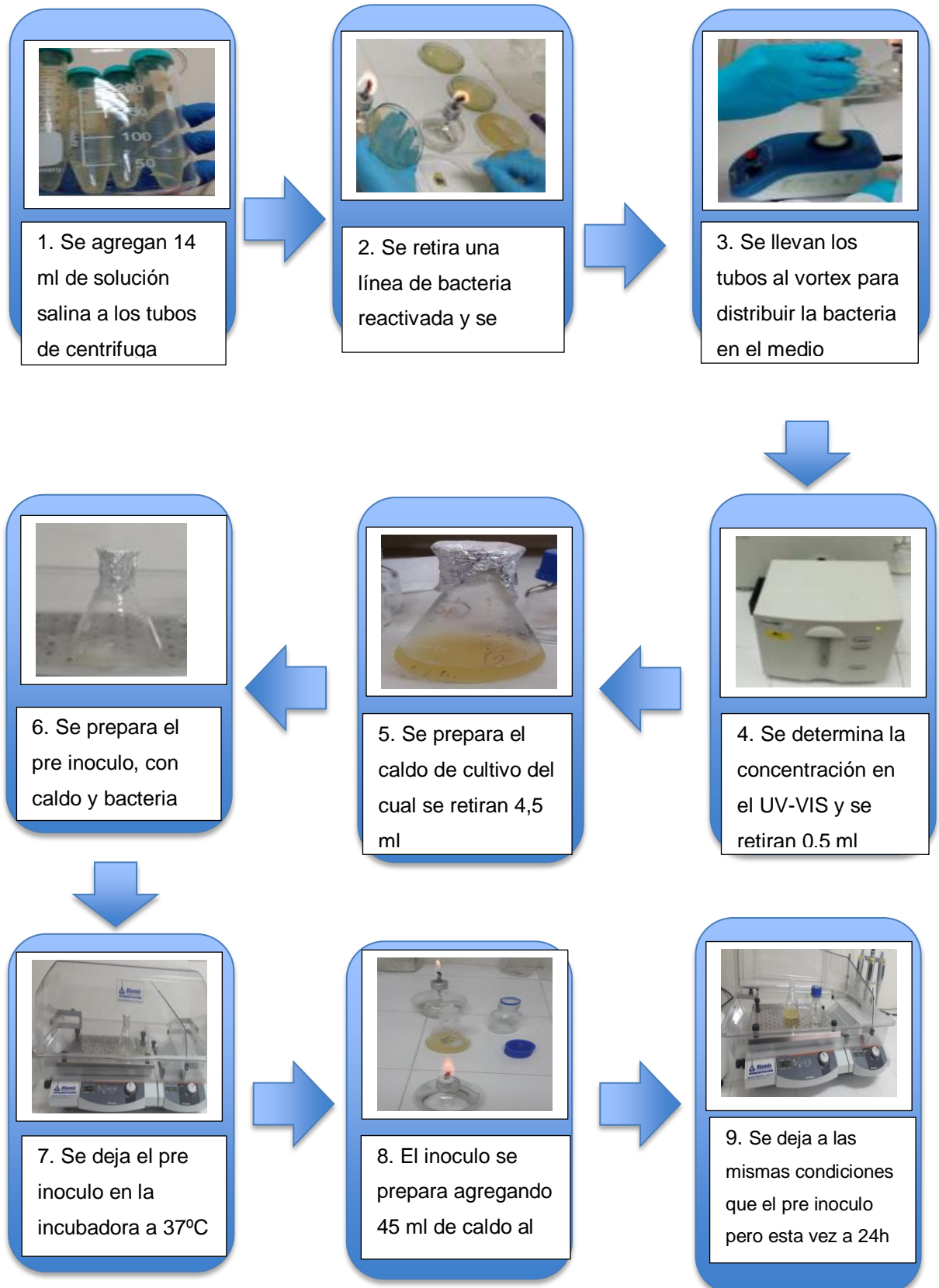


Figura 13. Proceso de Preparación del pre-inoculo e inoculo de *Escherichia coli*

Anexo F. Purificación de *Escherichia coli*

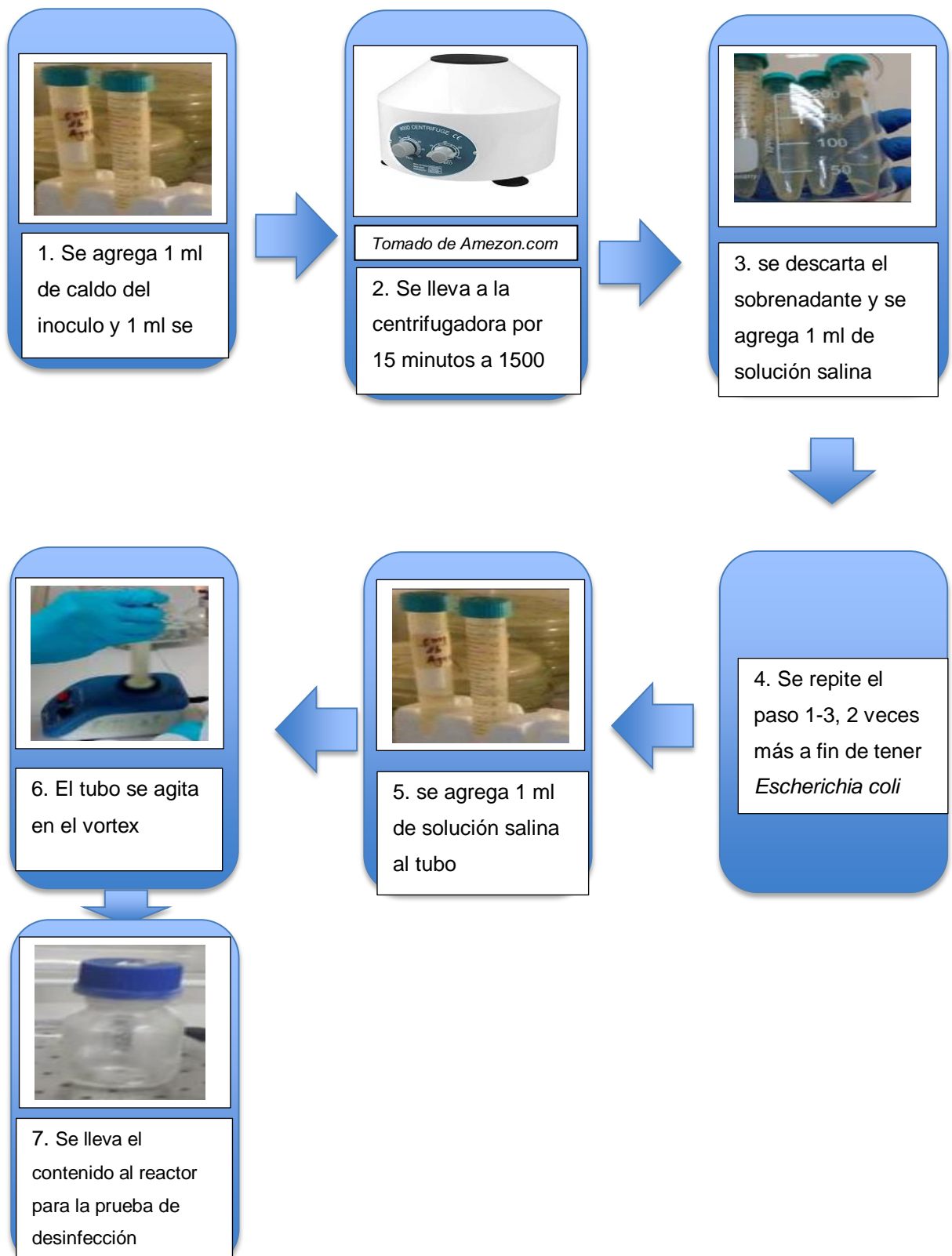


Figura 14. Proceso de Purificación de *Escherichia coli*

Anexo G. Prueba de desinfección fotocatalítica de *Escherichia coli*

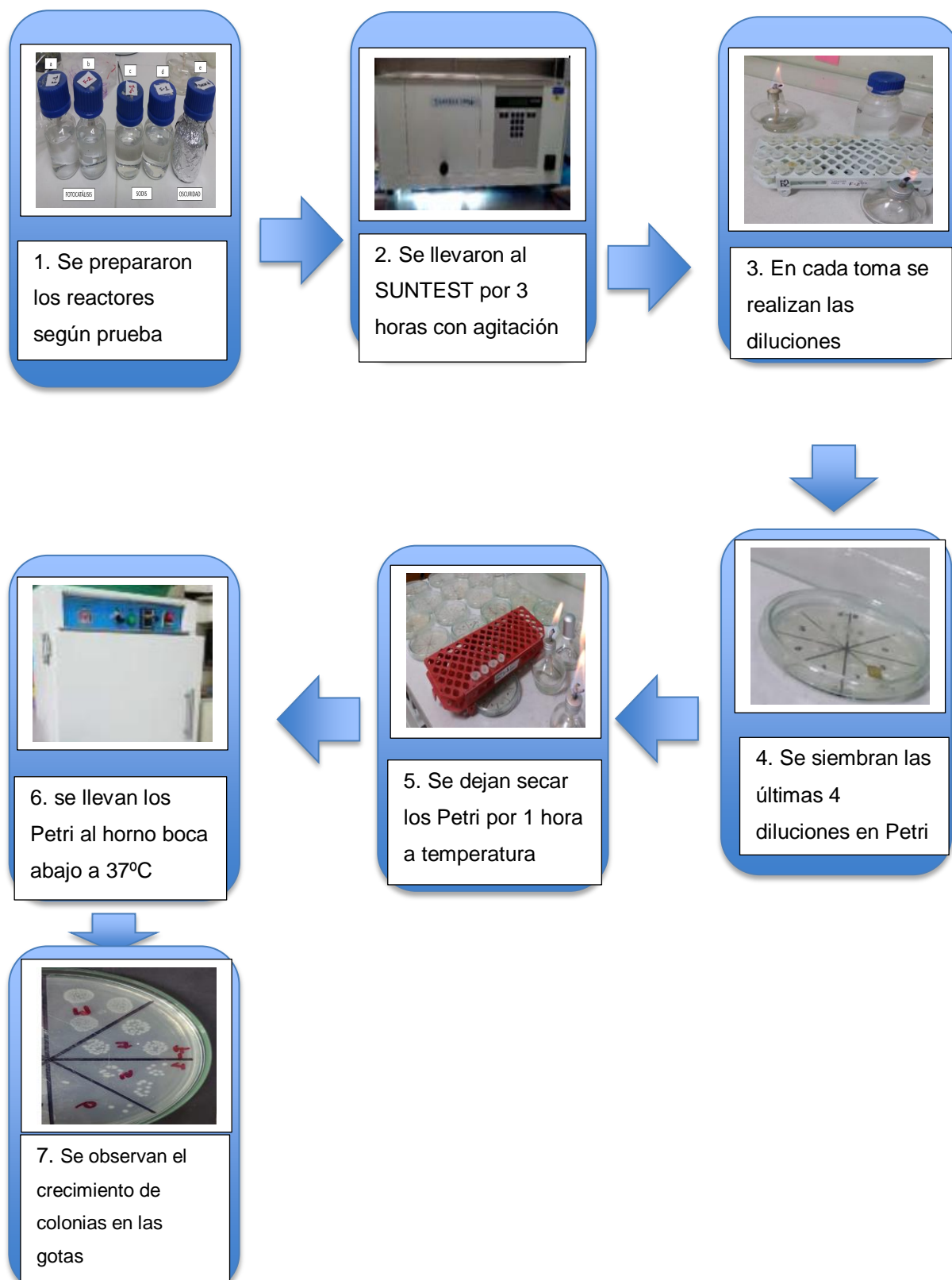


Figura 15. Proceso Prueba de desinfección fotocatalítica de *Escherichia coli*

Anexo H. Técnica Micro gota

La técnica Micro gota consiste en llenar cierta cantidad de tubos Eppendorf con 0.9 mL de solución salina estéril cada uno. Inicialmente, se toma una muestra de 0.1 mL de la solución a analizar y se añade al primer tubo (dilución 10^{-1}), luego de este tubo se toma nuevamente la muestra de 0.1 mL y se añade al segundo tubo (dilución 10^{-2}). Este paso se repite hasta alcanzar la dilución deseada. Finalmente, de cada dilución se siembran 3 gotas de $10\mu\text{L}$ en agar previamente servido, esta técnica se conoce como micro gota y se usa para disminuir el volumen de las muestras.

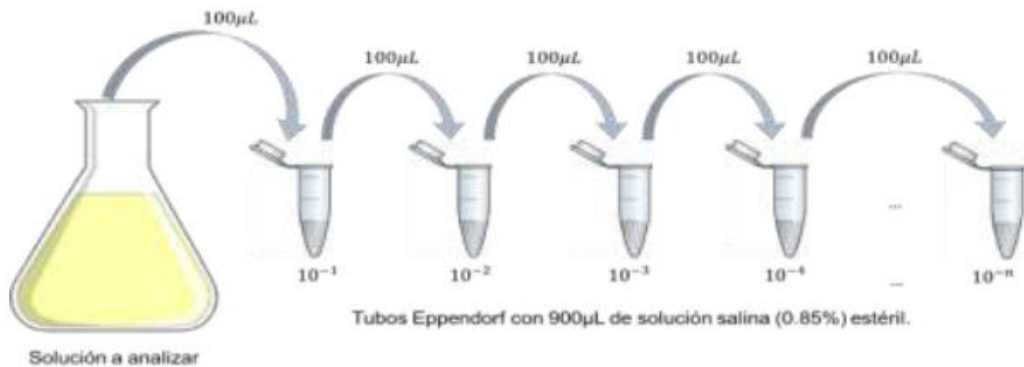


Figura 16. Diluciones Seriadas

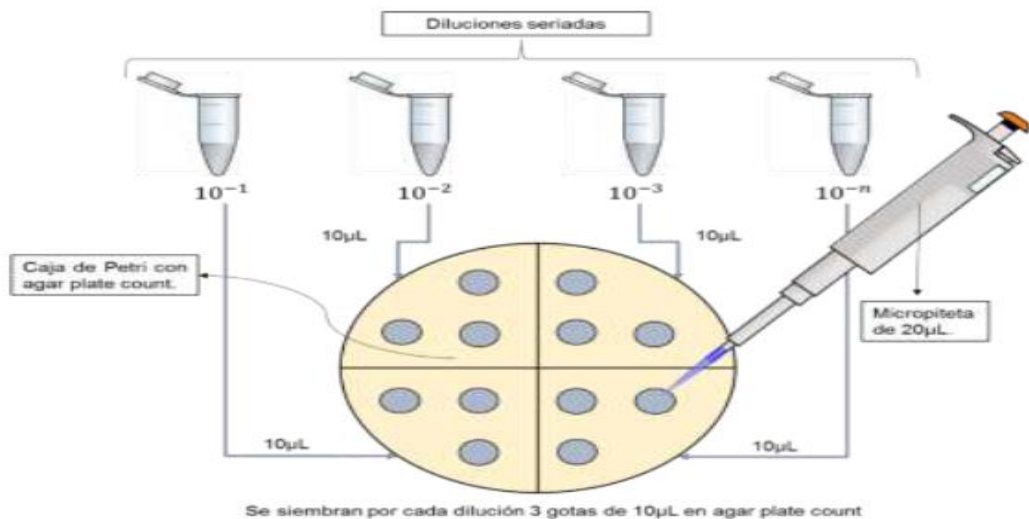


Figura 17. Siembra de la Escherichia Coli por la Técnica de Micro gota

Después de realizar el conteo del número de colonias de cada gota en cada dilución sembrada por muestra, se realiza la conversión de estos valores a concentración de UFC/mL. Este procedimiento se realiza para aquellas gotas en las que el número de colonias se encuentre entre 10 y 100.

1. Calcular el promedio del número de colonias por cada gota (por cada 10 μ L).
2. Convertir la cantidad de colonias UFC/10 μ L a UFC/mL.
3. Multiplicar el valor en UFC/mL por el inverso de la dilución correspondiente.
4. Reportar el valor anterior como la concentración en unidades formadoras de Colonia de bacteria por mililitro de solución (UFC/mL) de la respectiva muestra en el tiempo.

Anexo I. Preparación de las Sales Inorgánicas

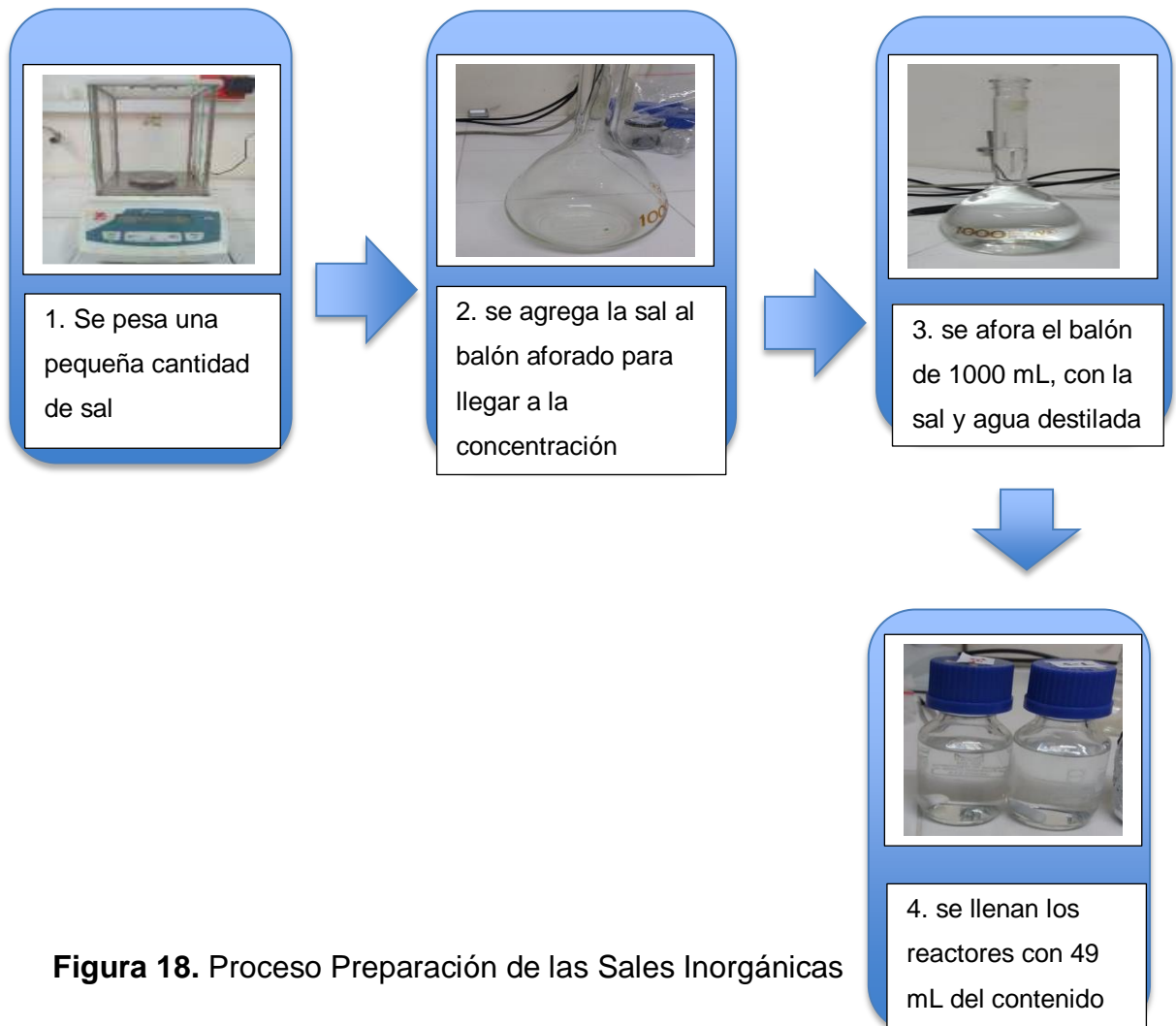


Figura 18. Proceso Preparación de las Sales Inorgánicas

Anexo J. Pruebas 24 horas de los niveles 1 y 2

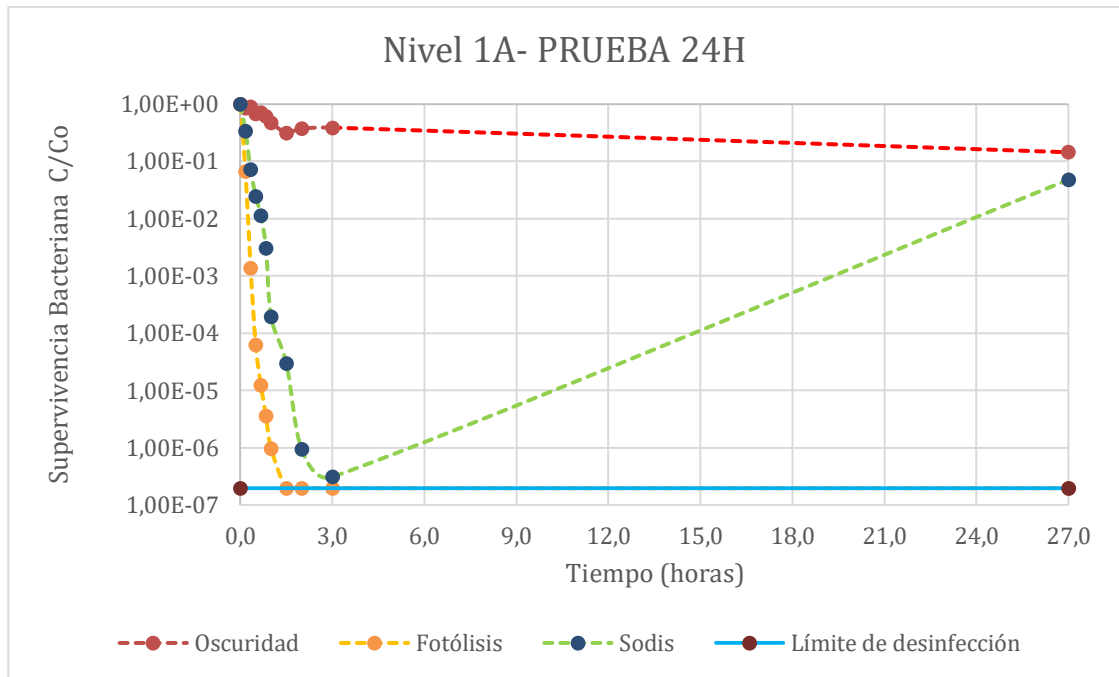


Figura 19. Toma 24h después de la prueba de desinfección fotocatalítica de la *E. coli* con la Sal de plomo a 0,01 ppm.

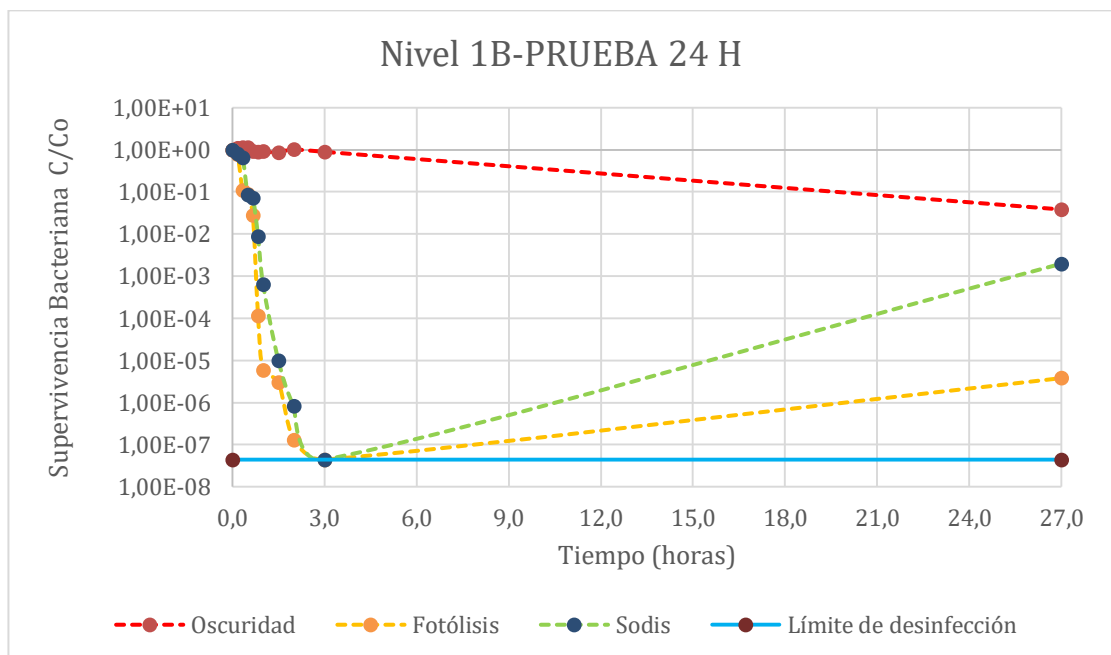


Figura 20. Toma 24h después de la prueba de desinfección fotocatalítica de la *E. coli* con la Sal de níquel a 0,02 ppm.

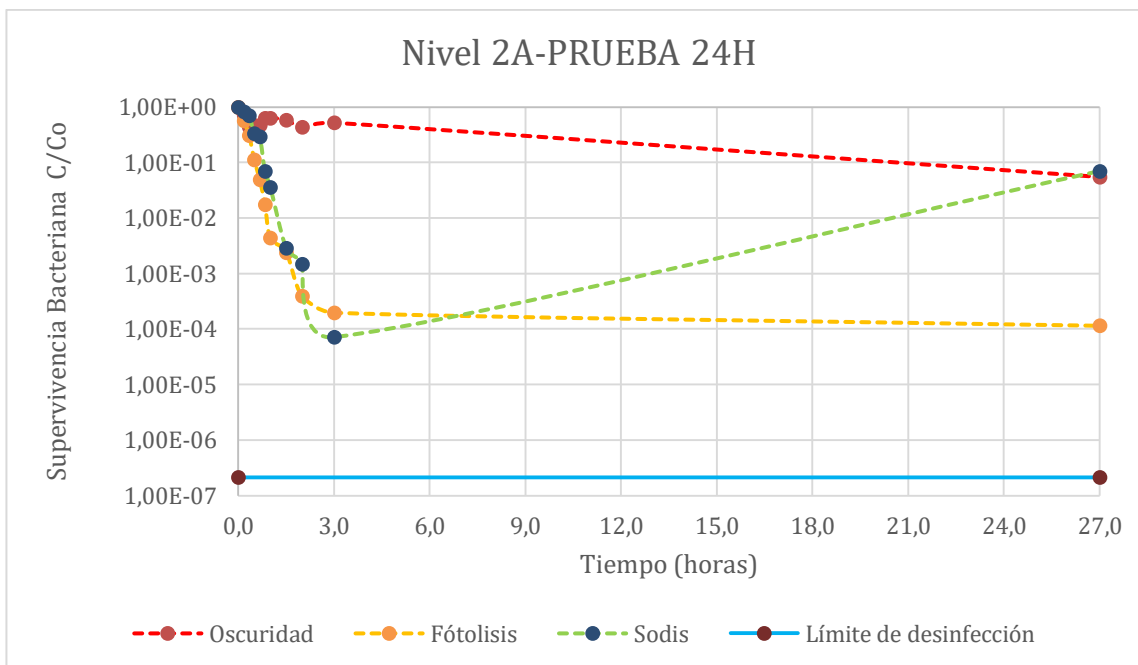


Figura 21. Toma 24h después de la prueba de desinfección fotocatalítica de la *E. coli* con la Sal de plomo a 0,05 ppm

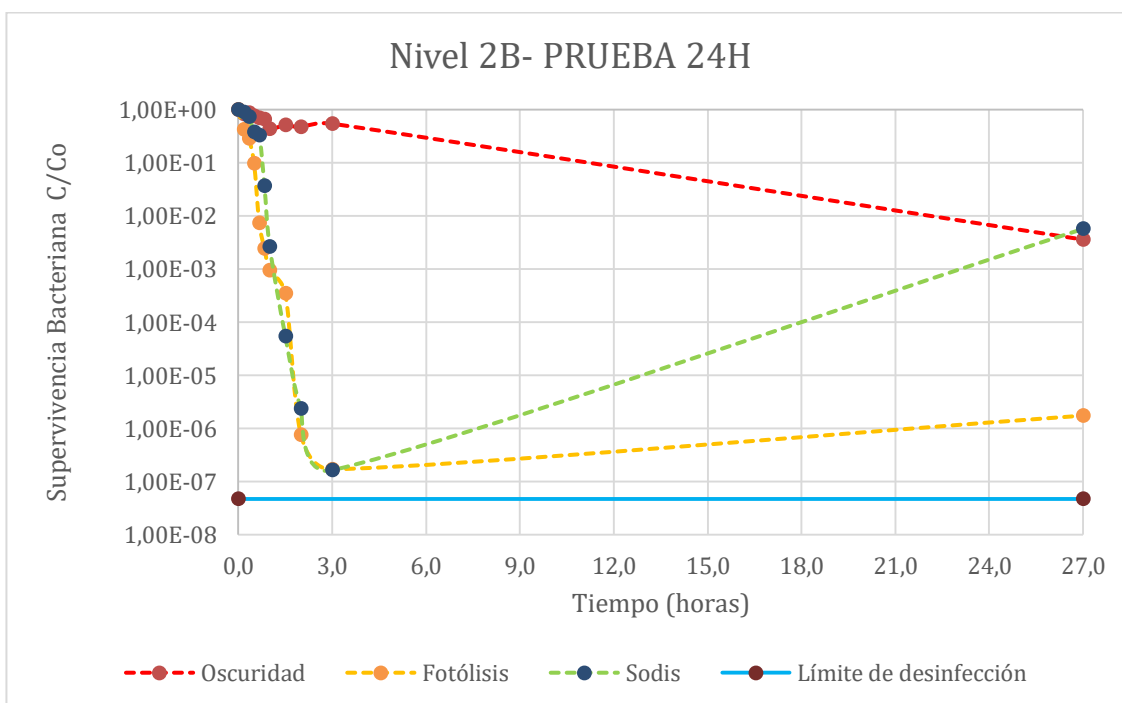


Figura 22. Toma 24h después de la prueba de desinfección fotocatalítica de la *E. coli* con la Sal de níquel a 0,05 ppm.

Anexo K. Pruebas 24 horas de los niveles para las mezclas 1 y 2

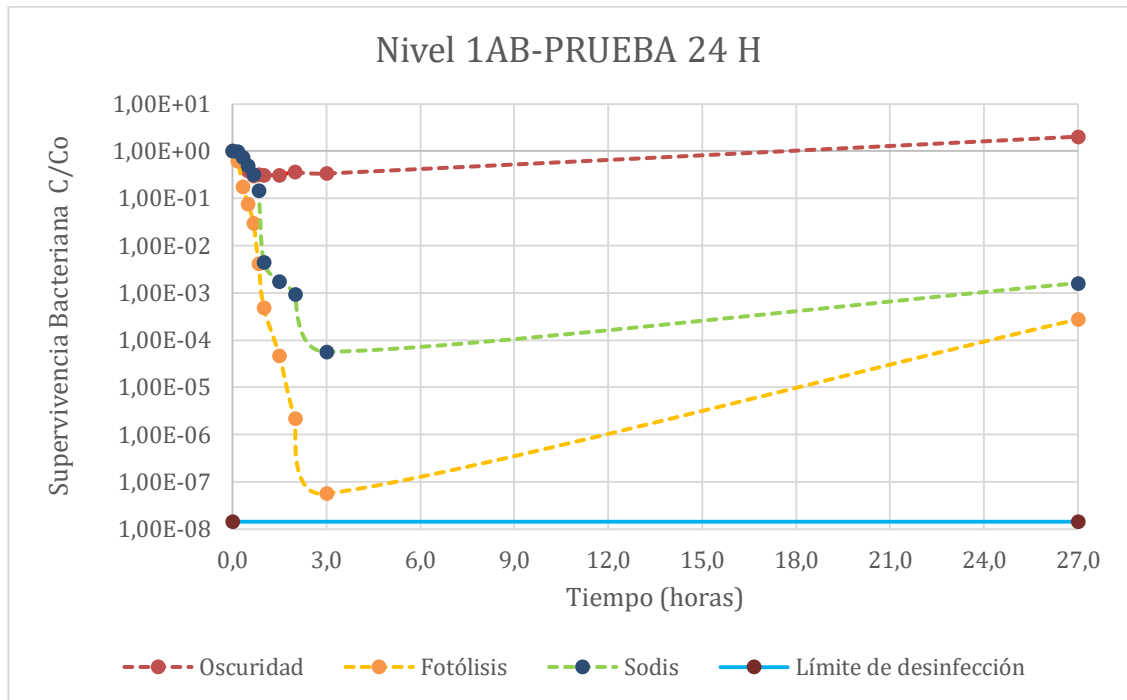


Figura 23. Toma 24h para la mezcla de las sales de Acetato de plomo y Cloruro de Níquel a 0,01 y 0,02 ppm respectivamente.

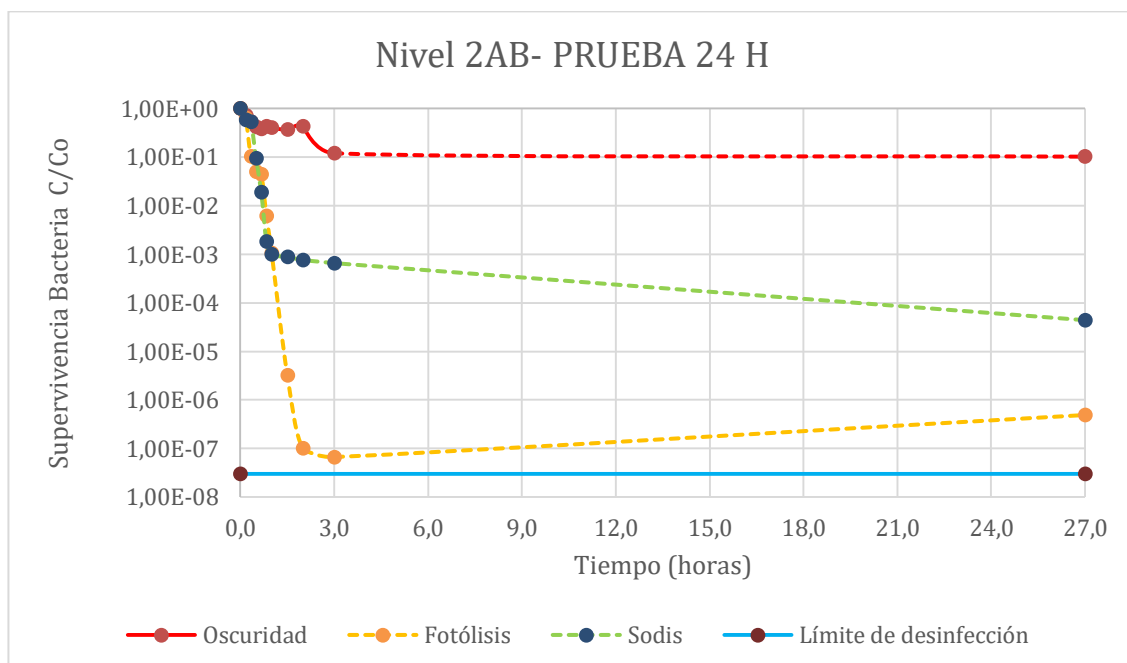


Figura 24. Toma 24h después de la mezcla de sales de Acetato de plomo y Cloruro de Níquel a 0,05 ppm para las dos.

Anexo L. Ecuaciones

Para el desarrollo del proyecto se realizaron varios cálculos para poder compilar todo en las gráficas anexadas anteriormente y se utilizó el programa de Excel para poder reunir todos los datos y así tener el soporte de todos los cálculos.

Inicialmente se calculó la concentración de la bacteria en UFC/mL para ello se procedió a contar cada gota de cada dilución por muestra de 10 µL luego se pasó esa cantidad de colonias UFC/10µL a UFC/mL, posteriormente multiplicar este valor por el inverso de la dilución correspondiente, finalmente tenemos este valor en unidades formadoras de colonia de bacteria por mililitro de solución (UFC/mL) para cada muestra en cada uno de sus respectivos niveles.

A continuación, un ejemplo de la metodología descrita anteriormente para una muestra del nivel 1A para la toma 3 en la dilución 10^{-5} se obtuvieron los siguientes datos 13, 13 y 21.

$$\frac{13+13+21}{3} = 1,57 \times 10^1 \frac{UFC}{10 \mu L} \quad \text{Ec. 3}$$

$$1,57 \times 10^1 \frac{UFC}{10 \mu L} * \frac{100 \mu L}{1 mL} = \frac{1,57 \times 10^3 UFC}{mL} \quad \text{Ec. 4}$$

$$\frac{1,57 \times 10^3 UFC}{mL} \times \frac{1}{10^{-5}} = \frac{1,57 \times 10^8 UFC}{mL} \quad \text{Ec.5}$$

Finalmente obtenemos que para el nivel 1A, en la toma 3 de la dilución 10^{-5} se tiene una concentración de 1.57×10^8 UFC/mL dato que se reúne con todos los demás de cada dilución para posteriormente realizar las gráficas.

Para la preparación de los materiales que utilizamos durante las pruebas como lo es el agar, solución salina, el caldo de cultivo realizamos los siguientes cálculos.

Para preparar el agar se planeaba con anticipación cuantos petris se iban a utilizar por ejemplo para el nivel 1A se prepararon 32 petris para lo cual se le agrega 20 ml a cada uno y luego con las especificaciones del agar plate count se tiene como referencia que para preparar 1000ml de agar se le agrega 23,5 g, se anexa el cálculo a continuación.

$$32 \text{ petris} \times 20\text{ml} = 640 \text{ ml} \quad \text{Ec.6}$$

$$640 \text{ ml} * \frac{23,5 \text{ g de agar plate count}}{1000\text{ml}} = 15,04 \text{ g de agar plate count} \quad \text{Ec.7}$$

Entonces se procede a pesar los 15,04 g de agar plate count y se diluye en 640 ml de agua destilada para posteriormente ser agitada, sellada, auto clavada y servido en los respectivos 32 petris que se habían programado anteriormente, todos estos cálculos se realizaron a lo largo de la ejecución del proyecto.

Adicionalmente para obtener la concentración de cada nivel correspondiente se recurrió a la siguiente fórmula

$$C_1V_1 = C_2V_2 \quad \text{Ec. 8}$$

La ecuación tiene cuatro componentes:

C_1 = concentración inicial de solución

V_1 = Volumen inicial de solución

C_2 = concentración final de solución

V_2 = Volumen final de solución

Entonces se realizó el proceso descrito en la metodología con los balones aforados.

Por Ejemplo:

Para el nivel 2B en donde se requiere obtener una concentración de $0,05 \frac{mg}{L}$ Es decir $0,00005 \frac{g}{L}$ para ello se utilizó un balón aforado de 250 ml en la primera parte, de modo que se calculó la concentración requerida a 0,25L y la masa de sal a pesar.

$$\frac{M}{V} = 0,05 \frac{mg}{L} \quad \text{Ec.9}$$

$$M = 0,05 \frac{mg}{L} \times 0,25 L = 0,0125g \text{ NiCl}_2 \quad \text{Ec.10}$$

Esta cantidad fue añadida al balón aforado de 250 mL y se agregó agua tipo I hasta llegar al límite señalado del aforo

Luego se utilizó un balón aforado de 1000 ml y se calculó el volumen de sal a agregar según la Ecuación 8.

$$V1 = \frac{0,00005 \frac{g}{L} \times 1L}{0,05 \frac{g}{L}} = 0,001L \quad \text{Ec.11}$$

Se retiró 0,001L lo que equivale a 1 ml de la solución preparada en el balón aforado de 250 ml y se agregó al balón aforado de 1 L, este se llenó con agua tipo I hasta el aforo y así se llegó a la concentración del nivel 2B.