

**DESARROLLO DE UN MODELO CINÉTICO PARA LA DESINFECCIÓN
FOTOCATALÍTICA DE AGUA CONTAMINADA CON *E. COLI***

ANDREA LILIANA MORENO RIOS

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE INGENIERÍAS FÍSICO-QUÍMICAS
ESCUELA DE INGENIRÍA QUÍMICA
CENTRO DE INVESTIGACIONES EN CATÁLISIS
BUCARAMANGA**

2011

**DESARROLLO DE UN MODELO CINÉTICO PARA LA DESINFECCIÓN
FOTOCATALÍTICA DE AGUA CONTAMINADA CON *E. COLI***

ANDREA LILIANA MORENO RIOS

**Trabajo de grado presentado como requisito parcial para obtener el título de
Magíster en Ingeniería: Énfasis en Ingeniería Química**

Directora: Prof. SONIA A. GIRALDO DUARTE

Codirector: Prof. ARISTÓBULO CENTENO HURTADO

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE INGENIERÍAS FÍSICO-QUÍMICAS
ESCUELA DE INGENIRÍA QUÍMICA
CENTRO DE INVESTIGACIONES EN CATÁLISIS
BUCARAMANGA**

2011

Dedicatoria

Doy gracias principalmente a Dios por darme la sabiduría y fortaleza necesaria para la culminación de este trabajo de investigación.

A mis profesores Aristóbulo Centeno y Sonia A. Giraldo, a mis padres Luis Moreno y Rosalba Ríos, a mis hermanos y amigos. Gracias por su apoyo incondicional, por sus consejos, cariño, paciencia, comprensión y por cada detalle que han agregado a mi vida para hacer de mí una mejor persona. Mil gracias.

AGRADECIMIENTOS

A los profesores Sonia A. Giraldo y Aristóbulo Centeno por su guía constante, sus enseñanzas, sus consejos y su apoyo incondicional.

A COLCIENCIAS y a la UIS por las becas recibidas durante mis estudios de maestría y por la financiación del proyecto: “Desarrollo e implementación de procesos heliofotocatalíticos para la potabilización de agua en pequeñas comunidades de Santander” (código 8425), dentro del cual se enmarcó mi trabajo de investigación.

A todos mis compañeros del Centro de Investigaciones en Catálisis de la UIS, por su oportuna colaboración. Especialmente a Camilo A. Castro

Al grupo GIMBA-UIS por permitirme desarrollar gran parte de mi trabajo de investigación en sus instalaciones y por su colaboración.

TABLA DE CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCIÓN	14
1. MATERIALES Y MÉTODOS.....	25
1.1. CRECIMIENTO BACTERIANO.....	25
1.2. PRUEBAS DE DESINFECCIÓN FOTOCATALÍTICA	26
1.3. PRUEBAS PRELIMINARES	27
1.4. INFLUENCIA DE LAS PRINCIPALES VARIABLES DE OPERACIÓN EN LA CINÉTICA DE LA DESINFECCIÓN FOTOCATALÍTICA DE AGUA.....	28
1.4.1. Variación de la concentración de TiO_2 y de la potencia de irradiación	30
1.4.2. Influencia de la presencia de sales inorgánicas en la desinfección fotocatalítica.....	31
1.4.3. Influencia del pH inicial del agua en la desinfección fotocatalítica	31
1.5. CALCULO DE LOS PARÁMETROS CINÉTICOS	31
1.6. DESARROLLO DEL MODELO MATEMÁTICO PARA LOS PARÁMETROS DEL MODELO CINÉTICO	32
1.7. VALIDACIÓN DE LOS MODELOS MATEMÁTICOS PROPUESTOS	34
2. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	35
2.1. PRUEBAS PRELIMINARES	35
2.1.1. Influencia de las condiciones de cultivo de <i>E. coli</i> en la fotodesinfección.	35

2.1.2.	Seguimiento bacteriano durante el proceso de DFA utilizando medios selectivos para verificación de reproducibilidad	39
2.2.	INFLUENCIA DE LA CONCENTRACIÓN DE FOTOCATALIZADOR Y LA POTENCIA DE IRRADIACIÓN EN LA CINÉTICA DE LA DESINFECCIÓN FOTOCATALÍTICA DE AGUA	41
2.3.	EFFECTO DE LA PRESENCIA DE SALES INORGÁNICAS EN LA MATRIZ DE AGUA.....	50
2.3.1.	Influencia del NaCl.....	50
2.3.2.	Influencia del CaCO ₃	52
2.3.3.	Influencia del MgSO ₄	54
2.4.	EFFECTO DEL pH INICIAL DEL AGUA EN LA CINÉTICA DE DFA	56
2.5.	MODELO MATEMÁTICO PARA LOS PARÁMETROS CINÉTICOS	59
2.6.	VALIDACIÓN DEL MODELO MATEMÁTICO DETERMINADO.....	62
3.	CONCLUSIONES	64
4.	PERSPECTIVAS	65
5.	BIBLIOGRAFIA.....	67

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Fig. 1. Curva característica del proceso de DFA.....	18
Fig. 2. Curvas de crecimiento de <i>E. coli</i> ATCC 11229. (○) Medida en Agar Recuento y (○) medida en Agar MacConkey. Las barras corresponden al error estándar calculado para cuatro conteos bacterianos independientes.	36
Fig. 3. Curvas de DFA con <i>E. coli</i> ATCC 11229 tomada a diferentes tiempos en la fase estacionaria del crecimiento, sin TiO ₂ y 400 W/m ² de irradiación.	37
Fig. 4. DFA a 400 w/m ² y 0,25 g/L de TiO ₂ con poblaciones de <i>E. coli</i> ATCC 11229: (a) no lesionadas (·○·) y (b) lesionadas (·○·). Predicciones del modelo (—). Concentración de bacterias totales (×).	39
Fig. 5. Influencia de la concentración de TiO ₂ en la DFA con poblaciones de <i>E. coli</i> ATCC 11229 a 250 W/m ² de irradiación: (símbolos) datos experimentales, (—) predicción del modelo. Barras de error estándar calculadas para cuatro conteos independientes.	42
Fig. 6. Influencia de la concentración de TiO ₂ en la DFA con poblaciones de <i>E. coli</i> ATCC 11229 a 550 W/m ² de irradiación: (símbolos) datos experimentales, (—) predicción del modelo. Barras de error estándar calculadas para cuatro conteos independientes.	44
Fig. 7. Influencia de la potencia de irradiación sobre la DFA: datos experimentales (símbolos), predicción con el modelo cinético (—).	45
Fig. 8. Influencia de la concentración de TiO ₂ sobre la velocidad de inactivación (<i>k</i>) de la DFA con <i>E. coli</i> ATCC 11229 de 5 diferentes potencias de irradiación.....	47
Fig. 9. Influencia de la concentración de TiO ₂ sobre el coeficiente adimensional de interacción bacteria-fotocatalizador (<i>K*</i>) de la DFA con <i>E. coli</i> ATCC 11229 de 5 diferentes potencias de irradiación.....	48
Fig. 10. Influencia de la concentración de TiO ₂ sobre el coeficiente de inhibición (<i>n</i>) de la cinética de DFA con <i>E. coli</i> ATCC 11229 de 5 diferentes potencias de irradiación.....	49
Fig. 11. Influencia de la presencia de NaCl sobre la DFA con <i>E.coli</i> a 250 W/m ² . Con 0,25 g/L de TiO ₂ (Símbolos llenos) y sin TiO ₂ (Símbolo vacios). Las barras de error corresponden al error estándar de dos experimentos independientes.....	50

Fig. 12. Influencia de la presencia de NaCl sobre los parámetros k y K^* de la cinética de DFA con <i>E.coli</i> a 250 W/m ² . Velocidad de inactivación (a) y coeficiente de interacción adimensional bacteria-TiO ₂ (b).....	51
Fig. 13. Influencia de la presencia de CaCO ₃ sobre la DFA con <i>E.coli</i> a 250 W/m ² . Con 0,25 g/L de TiO ₂ (Símbolos llenos) y sin TiO ₂ (Símbolo vacios). Las barras de error corresponden al error estándar de dos experimentos independientes.....	52
Fig. 14. Influencia de la presencia de CaCO ₃ durante la DFA con <i>E.coli</i> a 250 W/m ² , sobre los parámetros k y K^* de la cinética. Velocidad de inactivación (a) y coeficiente de interacción adimensional bacteria-TiO ₂ (b).	53
Fig. 15. Influencia de la presencia de MgSO ₄ sobre la DFA con <i>E.coli</i> a 250 W/m ² . Con 0,25 g/L de TiO ₂ (Símbolos llenos) y sin TiO ₂ (Símbolo vacios). Las barras de error corresponden al error estándar de dos experimentos independientes.....	55
Fig. 16. Influencia de la presencia de MgSO ₄ durante la DFA con <i>E.coli</i> a 250 W/m ² , sobre los parámetros k y K^* de la cinética. Velocidad de inactivación (a) y coeficiente de interacción adimensional bacteria-TiO ₂ (b).	55
Fig. 17. Efecto del pH inicial del agua contaminada con <i>E. coli</i> en la velocidad de inactivación (k).	57
Fig. 18. Efecto del pH inicial del agua contaminada con <i>E. coli</i> sobre el parámetro de interacción bacteria-fotocatalizador adimensional (K^*).....	57
Fig. 19. Efecto del pH inicial del agua contaminada con <i>E.coli</i> sobre el coeficiente de inhibición (n) de la cinética de DFA.	58
Fig. 20. Relación entre la C_T experimental y la C_T calculados para diferentes concentraciones a 400 W/m ²	63

LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 2. Modelos de regresión lineal múltiple.....	33
Tabla 4. Valores de k^* , K^* y n , calculados para la DFA con <i>E. coli</i> ATCC11229 en ausencia de TiO ₂ y con cuatro diferentes potencias.	46
Tabla 4. Análisis estadísticos de los modelos lineales utilizados.....	59
Tabla 5. Comparación de correlación estadística de los modelos lineales aplicados para la velocidad de desactivación.....	60
Tabla 6. Comparación de correlación estadística de los modelos lineales aplicados a los datos de coeficiente de interacción bacteria-TiO ₂	60
Tabla 7. Constantes y coeficientes de correlación para las ecuaciones (30-32) respectivamente.	62

RESUMEN

TÍTULO: DESARROLLO DE UN MODELO CINÉTICO PARA LA DESINFECCIÓN FOTOCATALÍTICA DE AGUA CONTAMINADA CON *E. coli* *

AUTOR: ANDREA LILIANA MORENO RIOS**

PALABRAS CLAVES: Desinfección fotocatalítica, TiO_2 , Potencia de irradiación, Sales inorgánicas, pH inicial, correlación.

DESCRIPCIÓN

En este trabajo se estudió la influencia de las variables del proceso: concentración de fotocatalizador, potencia de irradiación, composición de sales inorgánicas en el agua: NaCl , CaCO_3 , MgSO_4 , y el pH inicial del agua, sobre la cinética de la desinfección fotocatalítica de agua con TiO_2 . Se utilizó un modelo tipo Langmuir-Hinshelwood compuesto por tres parámetros: La constante cinética de inactivación (k), el coeficiente adimensional de interacción bacteria-especies oxidantes (K^*) y el coeficiente de inhibición (n).

Se encontró que la velocidad de desactivación aumenta con la cantidad de fotocatalizador y la potencia de irradiación, al mismo tiempo que el coeficiente de interacción disminuye. Por otra parte, se observó que la presencia de las sales inorgánicas ocasiona inhibición en la velocidad de desinfección, lo cual se ve reflejado en las constantes cinéticas. Adicionalmente, se encontró que al aumentar el pH inicial, la velocidad de inactivación disminuye, mientras que el coeficiente de interacción aumenta. En último lugar, se encontró que a pesar de que n en la mayoría de los casos presentó cambios muy pequeños, tiene gran influencia en el ajuste matemático de la cinética de inactivación.

Finalmente, después de estudiar la sensibilidad de cada parámetro ante las diferentes variables estudiadas, se pudo hallar una correlación matemática independiente para los parámetros cinéticos k , K^* y n en función de la concentración de fotocatalizador y la potencia de irradiación. Lo anterior, permite la predicción de la concentración de bacterias lastimadas y no lastimadas durante el proceso de desinfección.

*Trabajo de grado.

**Facultad de Ingenierías Físicoquímicas. Escuela de Ingeniería Química. Posgrado en Ingeniería Química. Directora: Prof. Sonia A. Giraldo Duarte, Codirector: Prof. Aristóbulo Centeno Hurtado.

ABSTRACT

TITLE: DEVELOPMENT OF A KINETIC MODEL FOR THE PHOTOCATALYTIC DISINFECTION OF CONTAMINATED WATER WITH *E. coli*.*

AUTHOR: ANDREA LILIANA MORENO RIOS**

KEYWORDS: Photocatalytic disinfection, TiO₂, irradiation power, inorganic salts, initial pH, correlation.

DESCRIPTION

In this research the effect of variable processes, such as, photocatalyst concentration, irradiation power, initial pH and the presence of inorganic salts, such as, NaCl, CaCO₃, MgSO₄, on the photocatalytic water disinfection kinetics using TiO₂ was studied. For this purpose, a Langmuir-Hinshelwood model composed by three parameters: the kinetic constant (k), the adimensional coefficient of bacteria-oxidative species interaction (K*) and the inhibition coefficient (n).

Results showed that inactivation rate is increased when increasing the photocatalyst concentration and irradiance power, nevertheless, the opposite effect was observed for the interaction coefficient. On the other side, with the presence of organic salts a change was observed on the kinetic constant. In addition, it was evidenced that the increase in the initial pH decreases the inactivation rate, as well as increases the interaction coefficient. Moreover, despite the constant tendency of the inhibition coefficient it was observed that minimum changes in its values have a strong influence in the kinetic model adjustment to the experimental values.

Finally, after determining the parameters sensitivity to the studied variables, it was possible to find an independent correlation for these as a function of the photocatalyst concentration and the irradiance power. This allows the prediction of the harmed and unharmed bacteria concentration during the photocatalytic disinfection process.

* Engineering Thesis.

** Physical Chemistry Engineering Faculty. Chemical Engineering School. Advisor: Prof. Sonia A. Giraldo, Coadvisor: Prof. Aristóbulo Centeno Hurtado.

INTRODUCCIÓN

La contaminación microbiológica del agua es un problema que ha tomado gran importancia en los últimos años puesto que el consumo de agua sin el debido tratamiento puede ocasionar efectos nocivos en el ser humano [1]. Entre las tecnologías que se han usado para el tratamiento del agua están la ozonización [2], la cloración y el tratamiento con luz ultra violeta [3]. Sin embargo, en el proceso de cloración se generan subproductos, como los trihalometanos (THM) y ácidos haloacéticos (HAAs), perjudiciales para la salud ya que son cancerígenos, y causan mutaciones y disfunción hormonal [4]. Por tal motivo, se ha recurrido a otros métodos alternativos como la descontaminación con luz solar (SODIS) [5], o en presencia de catalizadores homogéneos como el peróxido de hidrogeno [6] y catalizadores heterogéneos con propiedades semiconductoras como el dióxido de titanio (TiO_2). Siendo esta última una alternativa ambientalmente amigable y relativamente fácil de implementar, teniendo en cuenta que este fotocatalizador además de presentar alto poder desinfectante, es altamente estable térmica y químicamente, no tóxico y de bajo costo [7, 8]. Así mismo, la importancia de los semiconductores radica en que estos, al absorber la luz solar incidente a apropiadas longitudes de onda, generan un par electrón-hueco y en consecuencia especies oxidantes por reacción con el medio, útiles en la degradación de compuestos orgánicos e inactivación de bacterias, virus, algas entre otros [9-12]. La adsorción de fotones y la formación de los radicales oxidantes se representan mediante las ecuaciones 1-8. [10, 13].

En la fotocatálisis heterogénea las reacciones transcurren en la superficie del catalizador en la interfase líquido-sólido. La etapa inicial del proceso consiste en la generación de pares electrón-hueco en las partículas de semiconductor. Cuando un fotón con una energía $h\nu$ que iguala o supera la energía del salto de banda del

semiconductor, E_g , se promueve un electrón, e_{bc}^- , de la banda de valencia (BV) hacia la banda de conducción (BC), generándose un hueco, h_{bv}^+ , en la BV.[14]. (Ec.1). Es así como los electrones llegan a la banda de conducción y pueden desplazarse dentro de la red del semiconductor. Un comportamiento similar se ha propuesto para los huecos, sin embargo, en este caso el movimiento es debido a un cambio de lugar espacial. Entonces, los electrones y los huecos fotogenerados pueden seguir diferentes caminos. Por un lado, ambas especies pueden migrar a la superficie del semiconductor e involucrarse en una transferencia electrónica con especies adsorbidas en la superficie de la partícula, ya sean especies orgánicas, inorgánicas o el mismo disolvente. En medio acuoso el hueco puede oxidar el agua y el electrón reducir el oxígeno disuelto para formar las especies reactivas oxidantes. Los electrones reducen un aceptor de electrones (Ecs.2-5), adsorbido en la superficie del semiconductor (normalmente oxígeno) [13]. Al mismo tiempo, los huecos pueden aceptar un electrón de una especie dadora de electrones (Ecs.6-8), de manera que esta especie se oxida. Los iones radicales generados son muy reactivos y pueden reaccionar entre ellos o con otros adsorbatos, e incluso pueden difundirse desde la superficie del semiconductor hacia el interior de la solución y participar en una reacción química en el seno de la fase acuosa. Los huecos y electrones generados son rápidamente capturados en la superficie del semiconductor (en un tiempo de 100 ps en el caso de los electrones y en 10 ns en el caso de los huecos).[15]





Las especies reactivas del oxígeno o especies oxidantes son especies altamente reactivas procedentes de la reducción parcial de la molécula de O₂. Las principales especies oxidantes son el radical anión superóxido (O₂^{•-}), el peróxido (HO₂[•]) y el radical hidroxilo ([•]OH). Los efectos dañinos que pueden provocar en las células son numerosos y pueden afectar a todo tipo de biomoléculas. Entre ellos destacan la peroxidación lipídica, la inactivación enzimática y la formación de aductos del ADN. Frente al daño oxidativo originado por las especies oxidantes, los microorganismos han desarrollado una serie de mecanismos de defensa antioxidante dentro de los cuales se destaca, en primer lugar, la formación de superóxido dismutasa, que contribuye a la eliminación del O₂^{•-}. Además pertenecen a este grupo, la catalasa y la glutatión peroxidasa, que participan en la eliminación del peróxido.[16, 17]

Se ha encontrado que el radical que tiene mayor incidencia en la desinfección fotocatalítica de agua (DFA) contaminada con poblaciones bacterianas es el [•]OH [13], el cual actúa como iniciador de una serie de reacciones en cadena que dan origen a la degradación lipídica de los componentes de la membrana celular de los microorganismos, ocasionando la descomposición de los ácidos grasos poliinsaturados (AGP) y ruptura de las cadenas proteicas, que le dan fluidez e integridad estructural a las células [18]. Esta desestabilización da lugar al desmoronamiento de la estructura de la membrana celular que conduce a una pérdida de permeabilidad, resistencia mecánica, movilidad y fluidez de la membrana y posteriormente lisis y muerte [19]. Cho *et al* [20] encontraron una correlación lineal entre la cantidad de radicales hidroxilos producidos y la inactivación de *E. coli* en estudios de desinfección de agua. Así mismo algunos autores han encontrado que las especies oxidantes también pueden ocasionar cambios en la replicación del ADN, haciendo que los microorganismos cada vez sean más sensibles o vulnerables al tratamiento y no presenten recuperación

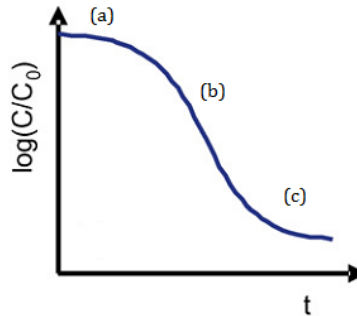
después de la desinfección [21-23]. No obstante, Shang *et al* [21], después de someter poblaciones fotodesinfectadas con luz UV-C a un periodo de oscuridad pos-irradiación encontraron que los microorganismos pueden recuperarse o reactivarse, mientras que Ibáñez *et al* [22] probó que la acción del TiO₂ bajo luz UV-A induce en los microorganismos un mayor nivel de destrucción celular y muerte bacteriana e inhibe su recuperación.

Debido a la difícil cuantificación y/o enumeración de todos los microorganismos presentes en el agua, el microorganismo más empleado para estudios de desinfección fotocatalítica bacteriana es la *Escherichia coli* por ser indicador de la contaminación fecal y presentar facilidad en su aislamiento y manejo. *E. coli* es un microorganismo *Gram* negativo (los componentes de la membrana son predominantemente negativos) y tiene una pared celular químicamente compleja. La pared celular tiene una capa de peptidoglicano (2-6 nm de espesor) que representa sólo el 10% de la pared celular y la membrana externa (6-18 nm) se compone de 50% de lipo-polisacáridos, fosfolípidos 35% y 15% de lipoproteínas. Tanto la membrana, el peptidoglicano y el exterior le proporcionan protección mecánica para mantener la morfología de las células intacta [24]. De esta manera, se evidencia la dificultad que existe ante la predicción de los daños causados a las bacterias debido al gran número de componentes celulares.

Al realizar el seguimiento de la concentración bacteriana se obtienen curvas de desinfección características, graficando la concentración de bacterias viables totales, o el logaritmo de la relación de la concentración en cualquier instante sobre la concentración inicial (C/C_0) de bacterias, en función del tiempo de desinfección. En un gran número de investigaciones se ha observado que dichas curvas presentan tres zonas importantes. La primera es la zona de inhibición bacteriana comúnmente llamada hombro (Fig. 1a) ya que en el tiempo inicial de la reacción se presenta cierta resistencia bacteriana al ataque de las especies oxidantes. En la segunda zona se da un decrecimiento exponencial (Fig. 1b) en el que las bacterias inician su muerte rápida después de haber alcanzado un nivel

límite de daño necesario, y finalmente una zona de inhibición debida a los subproductos de la reacción, comúnmente llamada cola (Fig. 1c) [25-27].

Fig. 1. Curva característica del proceso de DFA.



Fuente: el autor.

La continuidad de cada zona en el tiempo es modificada por las variables del proceso de DFA, como lo son la cantidad y continuidad de la radiación absorbida por el fotocatalizador [11, 12, 28], la composición química de la matriz de agua [29], la concentración [28] y/o tipo de fotocatalizador usado, la temperatura, aireación, agitación, geometría del reactor, pH y el tipo de microorganismo que interviene en el proceso entre otras. [5, 23, 28-34]. De aquí la importancia de un modelo cinético que se ajuste y que tenga en cuenta las variables de la DFA [26, 35]. Rincón y Pulgarín [28] estudiaron el efecto de algunas de estas variables y encontraron que la inactivación bacteriana es favorecida por el aumento de la intensidad de la luz de 400 a 1000 W/m² y el incremento de la cantidad de catalizador para concentraciones menores a 1 g/L, después de la cual no se incrementa la velocidad de inactivación para sistemas con reactores tipo *batch* e irradiación simulada. Así mismo hallaron que ante la irradiación discontinua o existencia de periodos de oscuridad las bacterias presentan autoreparación y en consecuencia se requiere mayor tiempo para su inactivación.

Otro aspecto es la atracción electrostática entre la bacteria y el TiO₂ debida a la diferencia de cargas negativa y positiva respectivamente. Esta atracción facilita la

acción de las especies oxidantes sobre la bacteria, teniendo en cuenta que el tiempo de vida media de los radicales es muy corto, de modo que si la atracción aumenta o disminuye debido a cambios en el pH del medio se verá afectada la velocidad con que ocurre la inactivación [7, 23, 29, 36].

Es así, como en los últimos años ha crecido el interés por desarrollar un modelo cinético que permita predecir el comportamiento de la desinfección fotocatalítica y que tenga en cuenta la mayor parte de variables en este proceso, encontrándose así en su gran mayoría modelos empíricos debido a la gran cantidad de reacciones que ocurren durante la inactivación bacteriana que conllevan a un mecanismo de reacción complejo. Además, se debe tener en cuenta que un buen modelo matemático también debe permitir el ajuste de las tres zonas características de las curvas de desinfección. Los modelos matemáticos permiten la predicción de la eficiencia del proceso de DFA y pueden ayudar a dar una idea de la viabilidad de determinadas condiciones de operación del proceso. Esta necesidad ha motivado la investigación de los modelos cinéticos existentes con miras a su modificación con base en la relación entre las distintas variables que intervienen en el proceso.

Los intentos en desarrollar modelos matemáticos que describan este proceso han sido, de relativa aplicación práctica, especialmente cuando se pretende generalizar resultados y promover su aplicación en sistemas de tratamiento de agua reales. Entre los modelos más importantes que han sido estudiados, se encuentran modelos cinéticos intrínsecos que permiten el ajuste de los datos experimentales obtenidos durante el proceso de DFA, sin embargo, no se ha logrado un modelo que permita la predicción eficiente del proceso. En aras de esto y para comparación de diferentes experimentos fotocatalíticos, el modelo más comúnmente utilizado ha sido el modelo clásico de desinfección de Chick-Watson, (1908). Ec. 9 [37]. No obstante a pesar de que este modelo logra un buen ajuste de los datos obtenidos con el modelo, respecto a los medidos experimentalmente,

solo permite la descripción de la zona log-lineal o decaimiento exponencial (Fig. 1b) de la curva de desinfección.

$$\log\left(\frac{c}{c_0}\right) = -kc^n t \quad (9)$$

Donde: C/C_0 representa la disminución en la concentración bacteriana con respecto a la concentración inicial C_0 , k es la constante cinética de desinfección, c es la concentración de fotocatalizador a un tiempo t y un orden de reacción o de dilución n . Este modelo es la base de las aproximaciones mecanísticas y define la inactivación de las bacterias como una transformación molecular de pseudo primer orden. Adicionalmente, pese a que muchos autores han realizado diversas modificaciones a este modelo, incluyendo términos relacionados con un retardo inicial [38] o que involucran efectos como la dosis de irradiación entre otros, no se ha logrado un ajuste totalmente adecuado a las curvas de desinfección reales, por lo cual se usa sólo para efectos comparativos, más no predictivos [20, 39]. Por su parte, Rincón *et al* [39] demostraron que el modelo puede en algunos casos fijar los datos observados para la inactivación fotocatalítica a pesar de que físicamente no refleje los mecanismos de reacción. La ventaja de este modelo es su simplicidad.

A partir del uso de mecanismos de reacción para la inactivación bacteriana con luz UV, también se han desarrollado modelos ampliamente utilizados. Labas *et al* [40], desarrollaron un modelo que considera que la muerte de los microorganismos se da mediante la acumulación de diferentes eventos que les causan daño hasta llevarlos a la muerte de acuerdo al modelo propuesto inicialmente por Severín *et al* [41]. Así, la velocidad con que un microorganismo pasa de un evento al siguiente es formulada en términos de un modelo cinético que es independiente del nivel o evento ocupado por el microorganismo. De esta manera, se plantea la existencia de un umbral límite de daños. Las bacterias que sobrepasan dicho nivel son

inactivadas y las que no, podrán sobrevivir mediante sus mecanismos de autoreparación.

El mecanismo de serie de eventos sucesivos ha sido el más utilizado en los últimos años. En este se considera que la inactivación bacteriana ocurre solo después de suficientes daños en el ADN.

En las Ecs.10 y 11, k es la constante cinética correspondiente a la velocidad con que se llega de un determinado nivel de daño $C_{E,i}$ al siguiente para un número de eventos $i + 1$. Además, el número de eventos necesarios para sobrepasar el nivel limite de daños es n y cada $C_{E,i}$ se puede considerar como una especie diferente. Para la solución de este modelo también se propusieron algunas restricciones no mostradas aquí, que son función de las constantes cinéticas y de la velocidad volumétrica de absorción de fotones, es decir la cantidad de energía radiante, por unidad de tiempo, que las partículas de catalizador y el fluido absorben del flux total de energía incidente [42]. Este modelo suele ser algo complicado debido a que implica una experimentación más compleja y a su vez no se alcanza la reproducción y ajuste necesario para describir las curvas de DFA.



$$i = 0,1,2,\dots,i,\dots,n \quad y \quad k_1 = k_2 = \dots = k_n = k \quad (11)$$

Finalmente, se encuentra un modelo cinético basado en el modelo clásico Langmuir-Hinshelwood, usado para procesos en los que ocurre adsorción de los compuestos sobre el catalizador. En el caso de la fotocatalisis los términos referentes a adsorción son relacionados a la interacción entre el catalizador y la bacteria.

Marugán *et al* [26] realizaron el ajuste del modelo Langmuir-Hinshelwood al proceso de desinfección. Este, al igual que el de Labas *et al* [42] también parte del esquema de la serie de eventos sucesivos de Severín *et al* [41]. Sin embargo los

autores modificaron este mecanismo (Ec.10) llevándolo al representado en la Ec. (12), en donde C es la concentración de bacterias ya sean no lesionadas (C_{NL}), lesionadas (C_L), inactivadas (C_I) o la concentración de productos (C_P) finales provenientes de las reacciones de peroxidación o componentes intracelulares.



Debido a la complejidad y gran número de reacciones que ocurren durante la inactivación bacteriana y la dificultad relacionada a la cuantificación e identificación es impráctica la medición de las concentraciones C_L y C_P . Así mismo, consideraron que la interacción entre bacterias lesionadas o no y el TiO_2 es la misma durante la DFA y de esta manera, la ecuación final es la siguiente:

$$\frac{dC_{NL}^*}{dt} = -k^* \frac{K^* (C_{NL}^*)^n}{1 + K^* (C_{NL}^*)^n + K^* (C_L^*)^n} \quad (13)$$

$$\frac{dC_L^*}{dt} = k^* \frac{K^* (C_{NL}^*)^n - K^* (C_L^*)^n}{1 + K^* (C_{NL}^*)^n + K^* (C_L^*)^n} \quad (14)$$

$$C^* = \frac{C}{C_0}; \quad C = C_L + C_{NL}; \quad k^* = \frac{k}{C_0}; \quad K^* = K \times C_0^n \quad (15)$$

Donde: C_L es la concentración de bacterias lesionadas o con algún grado de daño y C_{NL} es la de no lesionadas, k es la constante de velocidad de desactivación, K la constante de interacción bacteria-especies oxidantes, y n es el coeficiente de inhibición bacteriano, u orden de reacción con respecto a la concentración de bacterias. También se puede decir que K^* es la constante adimensional de interacción bacteria-especies oxidantes. La interacción entre el TiO_2 y la bacteria es debida al efecto de los radicales oxidantes generados en la DFA, lo que ocasiona diversos daños sobre la pared celular hasta causar muerte del microorganismo (eventos sucesivos), debido a la descomposición de los componentes de la membrana celular[19]. Se considera que dicha interacción es la

misma durante la DFA, tanto para las bacterias no lesionadas como para las lesionadas [26].

Los tres parámetros anteriores, permiten reproducir las tres zonas características (Fig. 1) de las curvas de desinfección. Adicionalmente, una ventaja importante es que se tiene en cuenta, implícitamente, las variables del proceso de tal forma que al presentar cambios en una de ellas, los valores de los parámetros cambian. Generalmente este modelo se ha utilizado en sistemas en continuo y en reactores de especial configuración como los colectores cilindro-parabólico compuestos, en los cuales también se observó buen ajuste del modelo cinético a los resultados experimentales utilizando luz solar [43].

En último lugar, la limitación fundamental que presentan los modelos cinéticos descritos anteriormente es que los parámetros cinéticos son obtenidos a través del ajuste de datos experimentales y métodos de regresión no lineal acoplados a la solución de las ecuaciones. Lo anterior implica, que aunque los modelos pueden ser aplicables a diferentes tipos de sistema de reacción con diferentes geometrías y/o escalas, los valores numéricos de sus parámetros cinéticos deben ser recalculados y ajustados con datos experimentales de cada geometría, condiciones de operación, y características del medio de reacción. Por tanto, la correlación de dichos parámetros mediante un modelo matemático que sea función de las variables que más repercuten en la desinfección, permitirá la predicción de las curvas de desinfección independientemente de las condiciones de operación utilizadas.

De esta manera, se seleccionó el modelo cinético basado en el de Langmuir-Hinshelwood [26], teniendo en cuenta que permite una buena reproducción de las zonas características de las curvas de desinfección reales y está basado en un mecanismo de inactivación. Lo anterior permite un estudio más profundo respecto a los daños que sufren las bacterias durante la inactivación y admite observar cómo las variables del proceso influyen en cada uno de los parámetros cinéticos.

De esta manera, en este trabajo se realizó un análisis del efecto de las variables del proceso de DFA con *E. coli* ATCC 11229 sobre los parámetros del modelo cinético tipo Langmuir-Hinshelwood ajustado al proceso de desinfección por Marugán *et al* [26]. Las variables estudiadas fueron: La concentración de fotocatalizador, la potencia de irradiación, la composición de sales inorgánicas en la matriz de agua y el pH inicial del agua. Se desarrollaron correlaciones matemáticas para k^* , K^* y n con base en estas variables para permitir la predicción de la concentración de bacterias lesionadas y no lesionadas durante el tiempo a las condiciones establecidas. Las ecuaciones obtenidas fueron validadas con datos experimentales no incluidos en el diseño inicial de los experimentos.

1. MATERIALES Y MÉTODOS

Con el propósito de encontrar un modelo matemático para los parámetros de la cinética de inactivación bacteriana propuesta por Marugán *et al* [26, 44], se estudió la influencia de las variables que se consideraron más representativas en el proceso de desinfección: la concentración de fotocatalizador, potencia de irradiación, composición química y el pH inicial del agua.

Para los resultados obtenidos se determinaron los parámetros cinéticos, los cuales se analizaron con técnicas numéricas para determinar un modelo matemático.

Por último los modelos matemáticos encontrados fueron validados, comparando los resultados obtenidos de las correlaciones y los resultados experimentales para la desinfección de agua contaminada con *E.coli* a condiciones de potencia de irradiación y concentración de fotocatalizador no incluidas dentro del diseño de experimentos inicial.

1.1. CRECIMIENTO BACTERIANO

Se utilizó la cepa *E. coli* ATCC 11229. Se realizó un crecimiento previo de *E. coli* en Agar Recuento (ARC, Merck) utilizando el método de siembra por estría para obtener colonias aisladas, de las cuales se tomaron dos con un asa previamente esterilizada y se inocularon en 5 mL de medio nutritivo Luria Bertani (LB; triptona: Oxoid, al 1% p/v; extracto de levadura: Oxoid, al 0,5% p/v y NaCl: Carlo Erba, al 1% p/v). El inóculo se mantuvo por 8 h en agitación constante a 120 rpm, $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ y condiciones aerobias para obtener *E. coli* con características fisiológicas similares a la encontrada en el agua de fuentes naturales. Seguidamente el inóculo resultante se adicionó a 25 mL de LB y se mantuvo a las mismas condiciones de temperatura y agitación por 15h hasta alcanzar la fase estacionaria

del crecimiento. El crecimiento bacteriano fue monitoreado tomando muestras cada 30 min, las cuales se diluyeron en solución salina (0,85% p/v de NaCl) y se sembraron en el medio de cultivo enriquecido ARC y en el medio selectivo Agar MacConkey (AMC; Oxoid) con el fin de observar las fases del crecimiento y analizar el comportamiento de la *E.coli* en ambos medios. Para estudiar el efecto del tiempo de cultivo, se realizaron cultivos independientes los cuales no se dejaron en incubación por 15h, sino por 4, 10, 12, 24 y 30h respectivamente.

Finalmente, para obtener la suspensión bacteriana utilizada en la fotodesinfección, se tomó una alícuota de 1 ml del cultivo obtenido y se centrifugó a 3000 rpm durante 15 minutos. El pellet de biomasa recuperado, se lavó dos veces con 1 ml de solución salina (0.85% p/v) previamente esterilizada y se volvió a suspender en 1 ml de agua esterilizada para ser agregado al sistema de reacción y así obtener una concentración final de alrededor de 10^7 unidades formadoras de colonias por ml (UFC/ml).

1.2. PRUEBAS DE DESINFECCIÓN FOTOCATALÍTICA

Las pruebas de DFA se llevaron a cabo en frascos de borosilicato con 49 mL de agua destilada y esterilizada, TiO_2 (Degussa P-25) como fotocatalizador y 1 mL de suspensión bacteriana en estado estacionario del crecimiento. El sistema de reacción se irradió durante 60 min en una cámara *Suntest* (CPS+, ATLAS), con temperatura controlada a 35°C e irradiación entre 300 y 800 nm con 7% de los fotones emitidos entre 300 y 400 nm, simultáneamente se mantuvo con agitación magnética a 4000 rpm. Los reactores se expusieron a la irradiación de la luz por un periodo máximo de 3 h, tiempo durante el cual se tomaron muestras cada 10 min durante la primera hora y cada 30 min en las 2 h restantes. Dichas muestras se diluyeron en serie por medio de un procedimiento estándar de diluciones en serie en solución salina (0,05% p/v) [45]. Cada dilución decimal se sembró por duplicado en microplaca en ARC y posteriormente fueron incubadas a $35\pm 2^\circ\text{C}$

durante 18 h, luego se realizó el conteo de colonias viables que se expresó en Unidades Formadoras de Colonias por unidad de volumen (UFC/mL).

Se realizaron cuatro tipos de experimentos: (1) pruebas preliminares (Estudio del efecto del tipo de cultivo y muerte por serie de eventos sucesivos de *E.coli* durante la fotodesinfección), (2) variación de la concentración de fotocatalizador y de la potencia de irradiación, (3) estudio de la influencia de sales inorgánicas en la desinfección y (4) variación del pH inicial del agua. El procedimiento seguido para cada uno de los experimentos mencionados se muestra a continuación.

1.3. PRUEBAS PRELIMINARES

Algunos autores han encontrado que las condiciones experimentales en las que se realizan las pruebas fotocatalíticas con microorganismos son fundamentalmente determinantes en la obtención de resultados reproducibles [46, 47]. Se ha encontrado que la bacteria cambia su fisiología a diferentes condiciones del crecimiento [48] y la sensibilidad de *E. coli* a los efectos de UVC y luz solar es mayor durante la fase exponencial, que durante la fase estacionaria [49, 50]. Por tal motivo es importante la selección adecuada de las condiciones del crecimiento bacteriano para asegurar que la evaluación del proceso de desinfección fotocatalítico se realice con poblaciones bacterianas resistentes.

Por otra parte, durante el proceso de desinfección fotocatalítica, la peroxidación de la membrana debido a ataques repetitivos del radical hidroxilo, hace que la muerte de las bacterias se dé mediante la acumulación de diferentes niveles de daño que implican la coexistencia de bacterias lesionadas y no lesionadas en cada instante. Dichos niveles de daño están determinados por la cantidad de $\bullet\text{OH}$ producidos durante la iluminación del TiO_2 . [28, 31, 32]. Rizzo [51] propone cuantificar las poblaciones lastimadas y las no lastimadas utilizando simultáneamente el medio enriquecido mT7 para el crecimiento de ambas poblaciones, y el selectivo mEndo, que inhibe la recuperación de bacterias con daño estructural y metabólico.

De esta manera, como pruebas preliminares se seleccionaron las condiciones para el crecimiento bacteriano con el fin de garantizar microorganismos resistentes al estrés oxidativo. Adicionalmente, se hizo seguimiento a la concentración de bacterias usando medios selectivos, para evaluar el efecto del proceso de desinfección sobre *E. coli* y los daños sucesivos que ocurren en ésta durante la interacción fotocatalizador-bacteria hasta llegar a un umbral límite de daño. Los datos obtenidos fueron comparados con los encontrados a partir de las ecuaciones (13) a (15). Lo anterior, con el fin de garantizar la reproducibilidad y viabilidad del modelo cinético para predecir la concentración de bacterias lesionadas y no lesionadas.

En el primer caso, se realizó la fotodesinfección a 400 W/m^2 en ausencia de fotocatalizador y partiendo de suspensiones bacterianas preparadas con cultivos a diferentes tiempos de incubación: 4, 10, 15, 24 y 30h. Para el segundo caso, tanto durante el monitoreo del crecimiento, como durante el proceso de desinfección, las muestras fueron sembradas también en AMC [52], para así poder determinar experimentalmente las concentraciones de bacterias lesionadas y no lesionadas durante la desinfección y poderlas comparar con las predichas por el modelo cinético. La predicción fue realizada, mediante las ecuaciones (13) a (15), utilizando una integración de Runge-Kutta de quinto orden simultáneamente con la regresión no-lineal de Gauss-Newton. En este caso en la fotodesinfección se usó una concentración de TiO_2 de $0,25 \text{ g/L}$ y una potencia de irradiación de 400 W/m^2 .

1.4. INFLUENCIA DE LAS PRINCIPALES VARIABLES DE OPERACIÓN EN LA CINÉTICA DE LA DESINFECCIÓN FOTOCATALÍTICA DE AGUA

La eficiencia de la inactivación fotocatalítica depende de varios factores de operación, como lo son el diseño o geometría del fotorreactor, la cantidad de catalizador y/o el tipo y forma de su disposición, así como el tipo, cantidad y continuidad de la irradiación, la presencia de compuestos orgánicos e inorgánicos,

el pH inicial del medio, la concentración inicial de los microorganismos y la naturaleza de los mismos [5, 28, 44].

La variación en la eficiencia de la inactivación bacteriana también depende de la composición química del agua. Puesto que, la inactivación del catalizador es inducida por sustancias orgánicas e inorgánicas presentes en el agua el proceso puede verse afectado. La naturaleza y concentración de estas sustancias varía de acuerdo a la fuente del agua. Por tanto, es pertinente el estudio de la influencia en la fotodesinfección bacteriana de aniones inorgánicos, tales como HCO_3^- , SO_4^{2-} , Cl^- , HPO_4^{2-} , NO_3^- y cationes tales como Na^+ o K^+ . Estos iones están naturalmente presentes en el agua y son introducidos por la agricultura, actividades domésticas e industriales. En particular, se conoce el efecto inhibitorio de distintos electrolitos, siendo el ion fosfato el de mayor influencia y el cloruro el que menos afecta a los procesos de desinfección fotocatalítica. Los fosfatos impiden la adsorción de aminoácidos sobre las partículas de TiO_2 , los carbonatos y otras especies pueden reaccionar con los radicales hidroxilos compitiendo así con los microorganismos y reduciendo la eficiencia del fotocatalizador [3, 5, 8, 12, 14, 15, 26, 44, 53-59].

El pH del agua puede afectar no sólo las bacterias sino también la carga superficial del TiO_2 y de esta manera favorecer o no la interacción entre la membrana exterior de la bacteria y la superficie del fotocatalizador y por consiguiente su inactivación [25-26-27-29].

El propósito de esta sección, es analizar la influencia de las variables más representativas en los parámetros de la cinética de DFA, dentro de las cuales se seleccionó, como ya se había dicho previamente: la concentración de fotocatalizador, la potencia de irradiación, el pH inicial del agua y la presencia de sales inorgánicas en el agua.

Para observar la influencia de las variables anteriormente mencionadas, se contaminó artificialmente agua destilada con *E. coli* a una concentración de

alrededor de 10^7 unidades por mililitro, e inicialmente se varió la concentración de fotocatalizador para evaluar su efecto sobre el proceso de inactivación. Se varió la potencia de irradiación para cada concentración estudiada con el propósito de evaluar el efecto en conjunto de estas dos variables. Posteriormente, para estudiar el efecto de la composición química del agua, se contaminó agua con *E.coli* y tres diferentes sales inorgánicas a tres concentraciones independientemente. Estas, fueron evaluadas en el proceso de DFA. Adicionalmente, se estudió el efecto del pH inicial del agua en la inactivación fotocatalítica, sobre soluciones iniciales de agua-*E.coli* con diferentes valores de pH entre 4 y 9.

Finalmente, de acuerdo a los resultados obtenidos en cada uno de los anteriores ítems se determinaron los parámetros cinéticos del modelo Langmuir-Hinshelwood y se analizó su comportamiento para contribuir en la determinación matemática de los parámetros.

1.4.1. Variación de la concentración de TiO_2 y de la potencia de irradiación

Para estudiar la influencia de estas variables, se realizó un diseño factorial de experimentos. En éste se planteó la evaluación de la desinfección fotocatalítica de soluciones acuosas con una concentración de *E. coli* de alrededor de 10^7 UFC/mL, pH natural y concentraciones de TiO_2 entre 0 y 1 g/L a diferentes potencias de irradiación (250 a 650 W/m^2).

La potencia máxima se tomó como 650 W/m^2 , dado que éste es aproximadamente el valor de la media de irradiación solar de un día despejado y soleado. Las demás potencias se tomaron por debajo de este valor, considerando disminuciones de radiación debidas a la presencia de nubes y a los comportamientos característicos durante las diferentes horas del día.

1.4.2. Influencia de la presencia de sales inorgánicas en la desinfección fotocatalítica

Como sales inorgánicas modelo, se utilizaron carbonato de calcio (CaCO_3 ; Carlo Erba), sulfato de magnesio (MgSO_4 ; Merck) y/o cloruro de sodio (NaCl ; Merck). Se hicieron reacciones de desinfección de alrededor de 10^7 UFC/mL de *E. coli*, utilizando soluciones acuosas de cada sal a diferentes concentraciones: NaCl (0,07; 0,2 y 2 mmol/L), CaCO_3 (0,04; 0,2 y 2 mmol/L), MgSO_4 (0,02; 0,2 y 2 mmol/L) y una potencia de irradiación de 250 W/m². Se evaluó el efecto de una solución acuosa con varias sales, para lo cual se tomaron concentraciones de sales presentes en agua natural.

Previo al inicio de reacción los reactores se mantuvieron en oscuridad durante 30 min con agitación constante a 100 rpm para promover el equilibrio de adsorción de iones por parte del catalizador.

1.4.3. Influencia del pH inicial del agua en la desinfección fotocatalítica

El efecto del pH inicial del agua sobre el proceso de DFA fue estudiado partiendo de soluciones acuosas con 0.25 g/L de TiO_2 , una concentración de *E. coli* de alrededor de 10^7 UFC/mL y pH inicial de 5, 6, 7, 8 y/o 9 respectivamente. El pH fue ajustado utilizando soluciones de NaOH o HCl a una concentración de 0.1 N. Las pruebas se realizaron individualmente a dos potencias de irradiación: 250 y 650 W/m².

1.5. CALCULO DE LOS PARÁMETROS CINÉTICOS

La estimación de los parámetros cinéticos se realizó partiendo de medidas experimentales de la relación (C/C_0) entre la concentración de bacterias totales en cualquier momento (C) y las iniciales (C_0), por medio de las ecs. 13-14 y un algoritmo iterativo, usando el método de regresión no lineal de Gauss-Newton simultáneamente con una integración numérica de Runge-Kutta de quinto orden

para predecir C_L y C_{NL} . Los valores iniciales para C_L y C_{NL} fueron cero y 1 respectivamente.

1.6. DESARROLLO DEL MODELO MATEMÁTICO PARA LOS PARÁMETROS DEL MODELO CINÉTICO

Para el desarrollo de las correlaciones matemáticas obtenidas para los parámetros de velocidad de desactivación (k^*), coeficiente adimensional de interacción (K^*) y coeficiente de inhibición (n), se partió de un modelo de regresión lineal generalizado de la forma:

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \dots + \beta_K X_K \quad (16)$$

Donde Y representa la matriz de datos calculados, mediante el ajuste numérico con el modelo cinético Langmuir-Hinshelwood para los parámetros k y K respectivamente; X_1 representa la matriz de concentraciones y X_2 la matriz de potencias de irradiación utilizadas en las pruebas de desinfección. Finalmente, los términos desde β_0 a β_k son parámetros desconocidos y que deben ser calculados mediante el método de mínimos cuadrados.

Se seleccionaron modelos fácilmente linealizables, teniendo en cuenta su practicidad y la facilidad de determinación de los parámetros de correlación. Así mismo, este modelo puede mejorar su exactitud incluyendo interacciones entre las variables independientes o transformando las variables dependientes o independientes en el modelo original. En este caso se partió de dos variables independientes: la concentración de TiO_2 y la potencia de irradiación. En la Tabla 2 se muestran algunos de los modelos linealizables utilizados.

Para elegir el modelo más adecuado se utilizó la técnica de eliminación hacia atrás, en la cual se inicia con un modelo con todos los términos posibles para la regresión y se van eliminando términos uno por uno hasta que ya no sea posible la eliminación de alguna variable adicional en el modelo. Los criterios utilizados para

la inclusión o eliminación de algún término o variable y discriminación entre modelos fueron: la superposición gráfica de los ajustes respectivos (para observar la distribución de los puntos), el valor cuadrado del coeficiente de correlación “R²” y la prueba estadística “F”, para valorar si es o no estadísticamente significativa la mejora que experimenta el sumatorio de residuales al cuadrado al pasar de una ecuación de menos parámetros a otra de más. Así, si $F > F(95\%)$ se acepta el valor del nuevo modelo y si $F < F(95\%)$ se sigue con el modelo inicial [60].

Tabla 1. Modelos de regresión lineal múltiple.

Tipo de modelo	Modelo	Ecuación
Simple	$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2$	(17)
Con interacción entre variables	$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_1^2 + \beta_4 X_1 X_2 + \beta_5 X_2^2$	(18)
Exponencial simple	$Y = \beta_0 X_1^{\beta_1} X_2^{\beta_2}$	(19)
Exponencial con interacción	$Y = A_0 X_0^{(A_1+B_1X_1+C_1X_2)} X_2^{(A_2+B_2X_1+C_2X_2)}$	(20)
Con asíntotas simple	$Y = \beta_0 + \beta_1 \frac{1}{X_1} + \beta_2 \frac{1}{X_2}$	(21)
Con asíntotas con interacción	$Y = \beta_0 + \beta_1 \frac{1}{X_1} + \beta_2 \frac{1}{X_2} + \beta_3 \frac{1}{X_1^2} + \beta_4 \frac{1}{X_1 X_2} + \beta_5 \frac{1}{X_2^2}$	(22)

Fuente: el autor.

Todas las etapas de la construcción de las correlaciones matemáticas, fueron realizadas utilizando MS Excel en conjunto con MATLAB para la resolución rápida de los sistemas de ecuaciones.

1.7. VALIDACIÓN DE LOS MODELOS MATEMÁTICOS PROPUESTOS

La validación de los modelos matemáticos encontrados para k , K^* y n se realizó con resultados experimentales adicionales, obtenidos con el proceso de desinfección de *E. coli* a una potencia de 400 W/m^2 y diferentes concentraciones de catalizador (0; 0,05; 0,2; 0,4 y 0,8 g/L de TiO_2). Se realizó la comparación entre los resultados obtenidos experimente y los obtenidos utilizando las correlaciones matemáticas.

2. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

2.1. PRUEBAS PRELIMINARES

2.1.1. Influencia de las condiciones de cultivo de *E. coli* en la fotodesinfección:

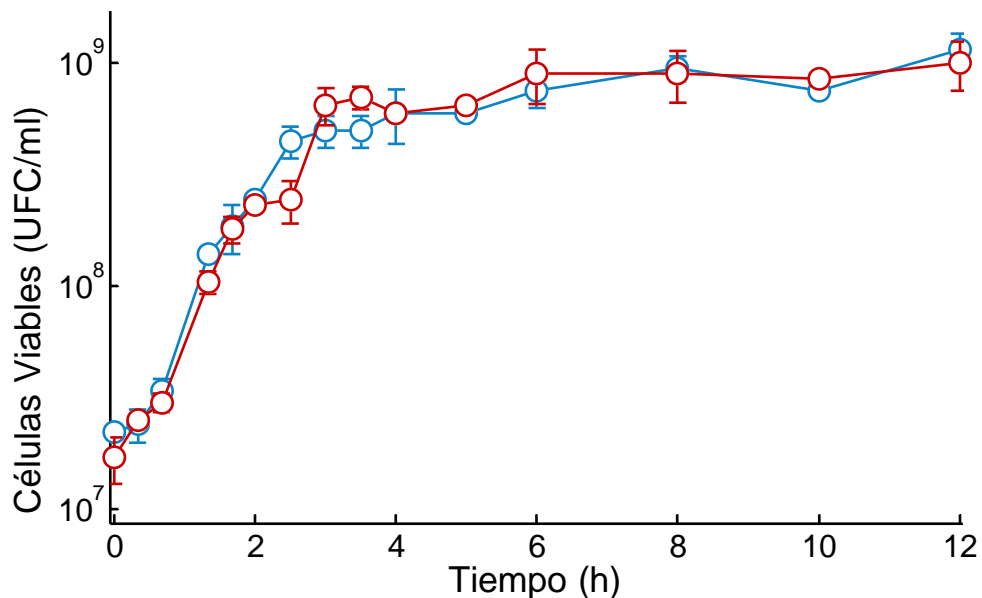
Cuando se hacen estudios de desinfección a nivel experimental, se deben tener en cuenta, como primera medida, las condiciones en las cuales se lleva a cabo el crecimiento bacteriano, ya que la resistencia presentada por los microorganismos al estrés oxidativo, temperatura etc., es dependiente no sólo de las condiciones utilizadas durante el proceso de DFA, sino también de las características morfológicas y estructurales del microorganismo y el tiempo de duración del crecimiento. Por tal motivo se analizó el efecto del tiempo de cultivo del microorganismo en la fotodesinfección. Inicialmente se realizó una curva de crecimiento, la cual es mostrada en la Fig. 2, con el objetivo de observar el comportamiento de *E. coli* durante su crecimiento. En esta figura se muestran las curvas de crecimiento seguidas con dos medios de cultivo, uno enriquecido: Agar Recuento (AR) y el otro selectivo: Agar MacConkey (AMC). Se utilizó el AR para medir las bacterias totales (C: lesionadas y no lesionadas) y el AMC para medir bacterias posiblemente no lesionadas (C_{NL}). En el AMC están presentes sales biliares y cristal violeta que permiten el crecimiento preferentemente de bacterias fermentadoras de lactosa como la *E.coli*, y que posiblemente inhiben el crecimiento de las bacterias con algún grado de daño [52], debido a que al no tener su estructura metabólica en buen estado no toleran las sales biliares, ni realizan la fermentación de lactosa presente normalmente en la *E. coli*.

En la Fig. 2 se pueden observar las zonas características: la fase de adaptación (0-1h), fase de crecimiento exponencial (1-3h) y la fase estacionaria (después de 3h). Durante el crecimiento exponencial se observan ligeras diferencias entre los conteos en AR y AMC. Esto se debe, posiblemente, a que en esta zona una parte de la población, que aunque estando activa metabólicamente, sufre una inhibición

en su crecimiento en el AMC lo que no permite un conteo igual al del medio enriquecido.

Por otra parte, en la fase estacionaria se observa que el seguimiento en ARC y AMC es similar, lo cual no sólo garantiza que en el inicio del proceso de DFA no habrá poblaciones lesionadas, sino que también la reacción se realizó con bacterias más resistentes al estrés oxidativo.

Fig. 2. Curvas de crecimiento de *E. coli* ATCC 11229. (○) Medida en Agar Recuento y (●) medida en Agar MacConkey. Las barras corresponden al error estándar calculado para cuatro conteos bacterianos independientes.



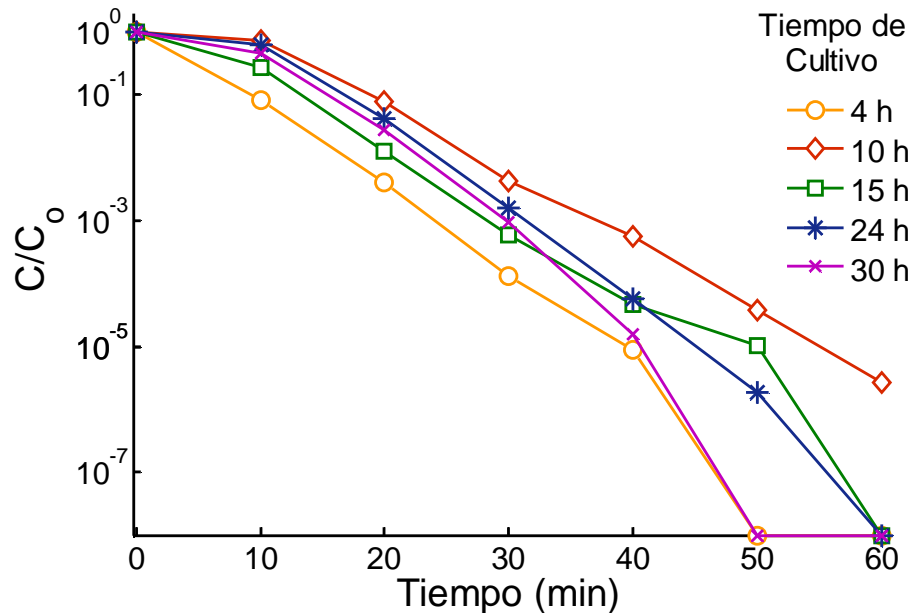
Fuente: El autor

En la Fig. 3 se muestra las curvas de desinfección de agua contaminada con cultivos de *E. coli* de 4, 10, 15, 24 y 30 h.

Se observa que al aumentar el tiempo de cultivo de 4 a 10h, la desinfección bacteriana es más lenta. Sin embargo, a medida que sigue aumentando el tiempo, la velocidad con que las poblaciones de *E. coli* se inactivan también incrementa y

permanece casi constante con los cultivos de 15 y 24 h. Finalmente, aunque con el cultivo de 30h la velocidad inicial de desactivación es similar a los de 15 y 24h, la inactivación bacteriana final se alcanza rápidamente al igual que con el de 4h.

Fig. 3. Curvas de DFA con *E. coli* ATCC 11229 tomada a diferentes tiempos en la fase estacionaria del crecimiento, sin TiO_2 y 400 W/m^2 de irradiación.



Fuente: el autor.

El anterior comportamiento se atribuye a que las poblaciones tomadas a las 4h del crecimiento están en la parte inicial de la fase estacionaria (Fig. 2), por tanto se encuentran en fase de transición, en la cual disminuye la velocidad de síntesis de macromoléculas y el tamaño celular. De esta manera, los microorganismos se ocupan de la reorganización y activación de su metabolismo para acumular compuestos de reserva (polifosfato y glucógeno entre otros) y por tanto no generan mayor protección a las especies oxidantes. Posteriormente, al iniciar el agotamiento de nutrientes (C y N) después de las 4h, los microorganismos han aumentado su movilidad, remodelado su envoltura celular y activado mecanismos metabólicos que conllevan a un aumento de viabilidad y mayor resistencia a

factores de estrés como la radiación ultravioleta, calor etc. [61]. Makinoshima *et al.* [62], encontraron que el número de flagelos y en consecuencia la motilidad, aumenta durante la fase estacionaria temprana, alcanza un máximo y posteriormente, entre las 6 y 12 h disminuye rápidamente dependiendo del medio de cultivo utilizado. De la misma forma, se podría decir que de acuerdo a la figura 3, con el cultivo de 10 h se ha alcanzado un valor máximo en cuanto a la resistencia oxidativa.

En otro estudio [63], se determinó la viabilidad de células de cultivos en fase estacionaria en LB separadas en gradientes de densidad de radioselectano y encontraron que después de 10 h de fase estacionaria existen dos subpoblaciones de células cultivables con un nivel similar de daño por oxidación a proteínas y de defensa contra radicales libres. A su vez encontraron que estas subpoblaciones difieren en su sensibilidad al ayuno de nutrientes y de fosfatos, al estrés calórico y a la exposición a radicales oxidantes. Lo anterior sugiere que al avanzar durante la fase estacionaria los cambios consecutivos en cuanto a expresiones genéticas, metabolismos etc., hacen que se presenten ciertas mutaciones en las poblaciones de *E.coli* que a su vez modifican la resistencia oxidativa.

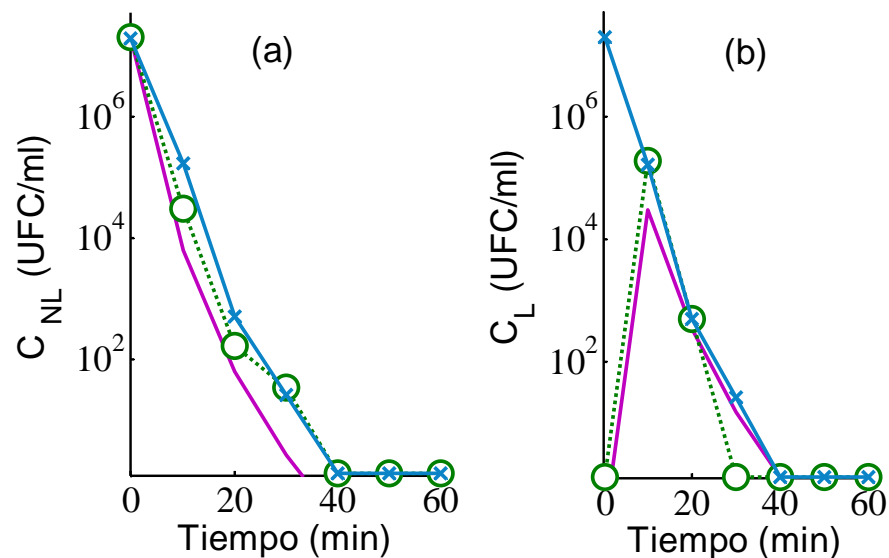
Por otra parte, el comportamiento presentado en la DFA con el cultivo de 30h se atribuye a que posiblemente con ese tiempo de cultivo ya se haya iniciado la fase de muerte de las poblaciones de *E. coli*, por lo que se logra la inactivación bacteriana en un menor tiempo.

Así, de acuerdo a los resultados mostrados en las Figs. 2 y 3, el cultivo más factible es el de 10h ya que es el que presenta mayor resistencia al proceso de desinfección. Sin embargo, para facilidad de manejo del tiempo en el laboratorio se seleccionó el cultivo correspondiente a 15h que también presenta mayor resistencia que los cultivos de 4 y 30h.

2.1.2. Seguimiento bacteriano durante el proceso de DFA utilizando medios selectivos para verificación de reproducibilidad

La Fig. 4 muestra la variación de las concentraciones de *E. coli* no lesionadas (Fig. 4a) y lesionadas (Fig. 4b) durante la DFA, calculadas con el modelo cinético y medidas con el medio selectivo: Agar MacConkey, y enriquecido: Agar Recuento.

Fig. 4. DFA a 400 w/m^2 y $0,25 \text{ g/L}$ de TiO_2 con poblaciones de *E. coli* ATCC 11229: (a) no lesionadas ($\cdot\cdot\text{O}\cdot\cdot$) y (b) lesionadas ($\cdot\cdot\text{O}\cdot\cdot$). Predicciones del modelo (—). Concentración de bacterias totales (\times).



Fuente: El autor.

En la Fig. 4a se puede observar una disminución exponencial de la cantidad de bacterias no lesionadas hasta los 40 min, después de los cuales las bacterias aparentemente han alcanzado un nivel crítico de daño que no les permite recuperarse en el AMC (Inactivación aparente). Simultáneamente y contrario a lo anterior, la concentración de bacterias lastimadas (Fig. 4b) aumenta hasta alcanzar un valor de $\sim 10^5$ UFC/mL, después de la cual inicia una disminución exponencial. Es probable que, durante los primeros 10 min, se haya alcanzado un nivel de daño [41] para la población en general después del cual su crecimiento en

el AMC se inhibe y se inicia un proceso de daño irreversible. En este periodo, los $\cdot\text{OH}$ producidos atacan las moléculas más externas de la membrana, generando un subsecuente rompimiento de enlaces, y finalmente se alcanza la lisis celular. De esta manera, el nivel de daños crítico se alcanza a medida que se llega a la total descomposición lipídica. No obstante, la velocidad y tiempo requerido para llegar a dicho nivel, también dependerá de la velocidad en que se lleve a cabo la descomposición de la membrana.

Cabe resaltar el hecho de que el nivel límite de daños requeridos para que la inactivación bacteriana, se produzca, está directamente relacionado con la velocidad a la que ocurre la peroxidación lipídica, y por consiguiente también, con la cantidad de especies oxidantes existentes en cada instante. Por lo tanto, al realizar modificaciones en: la cantidad de catalizador, la potencia de irradiación o la matriz de agua utilizada etc. se espera una modificación del tiempo necesario para alcanzar un nivel de daño tal que conlleve a la inactivación de las poblaciones bacterianas.

Por otra parte, en la Fig. 4b se puede ver que después de los 10 min de la reacción, la concentración de bacterias lesionadas (trazo $\cdot\text{O}\cdot$) presenta un rápido decrecimiento. Esto es debido a que durante los primeros minutos de desinfección las bacterias pueden presentar cierto nivel de resistencia al ataque oxidante gracias a sus mecanismos de defensa. Finalmente, después de los 40 min de desinfección el nivel de daños, provocados por los $\cdot\text{OH}$ generados en la irradiación de la suspensión de TiO_2 , hace que se sobrepase el nivel límite de daños para la población en general, de modo tal que se imposibilita el crecimiento bacteriano en ARC. Castro *et al* [33], observaron que si la suspensión bacteriana, tratada en la DFA con TiO_2 , se somete a un periodo de oscuridad las bacterias lastimadas pueden regenerarse y recuperar parte de la población inicial. Por consiguiente, la desactivación observada a 40 min de irradiación (Figs. 4a y 4b) es una inactivación aparente, en la cual las bacterias presentan un estado de latencia, en

el que se necesita un tiempo adicional de irradiación para alcanzar la efectiva inactivación de las células.

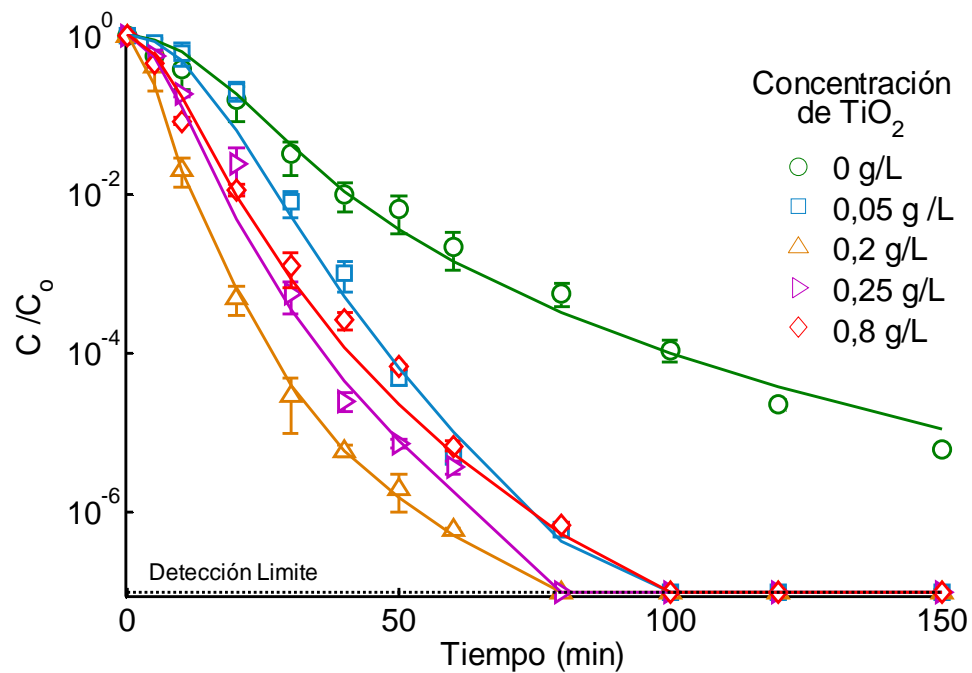
En las Figs. 4a y 4b, también se puede observar que las concentraciones de bacterias no lesionadas y lesionadas, predichas por el modelo cinético estudiado, se ajustan de manera aproximada a los resultados experimentales, por lo cual se podría decir que el modelo modificado de Langmuir-Hinshelwood permite la expresión matemática y/o determinación de las bacterias lastimadas en cada instante de tiempo durante el proceso de desinfección. Así mismo, la medición experimental de las bacterias lastimadas con medios selectivos permitiría la comparación del efecto de diversas variables de operación en el nivel límite de daño bacteriano que se obtiene en los periodos iniciales de la desinfección. Adicionalmente, es importante resaltar que la determinación de los parámetros cinéticos es más precisa si el ajuste matemático se realiza a partir de datos experimentales individuales de concentración de bacterias lastimadas y no lastimadas, medidos con AMC y ARC, ya que se reducen los grados de libertad del sistema matemático de ecuaciones diferenciales. Sin embargo, en algunos casos no se justifica la medición en ambos medios de cultivo, ya que se requeriría también un mayor tiempo para el desarrollo de cada prueba de desinfección.

2.2. INFLUENCIA DE LA CONCENTRACIÓN DE FOTOCATALIZADOR Y LA POTENCIA DE IRRADIACIÓN EN LA CINÉTICA DE LA DESINFECCIÓN FOTOCATALÍTICA DE AGUA

Durante los procesos de desinfección fotocatalítica, se ha encontrado que aumenta la tasa de inactivación cuando aumenta la concentración de catalizador, hasta un cierto valor llamado “concentración óptima de catalizador”. Después de dicho valor la tasa de inactivación se mantiene constante o decrece debido al efecto de apantallamiento de la luz de unas partículas sobre otras.

En las Figs. 5 y 6 se presentan las curvas de inactivación de *E. coli* ATCC11229 obtenidas para diferente concentración de TiO_2 , a potencias de irradiación de 250 y 550 W/m^2 . Estas figuras dan un ejemplo del comportamiento seguido en la fotodesinfección a bajas y altas potencias de irradiación (no se muestran las figuras para las potencias de 250, 450 y 650 W/m^2 , para permitir más claridad, ya que las tendencias observadas son las mismas).

Fig. 5. Influencia de la concentración de TiO_2 en la DFA con poblaciones de *E. coli* ATCC 11229 a 250 W/m^2 de irradiación: (símbolos) datos experimentales, (—) predicción del modelo. Barras de error estándar calculadas para cuatro conteos independientes.



Fuente: El autor.

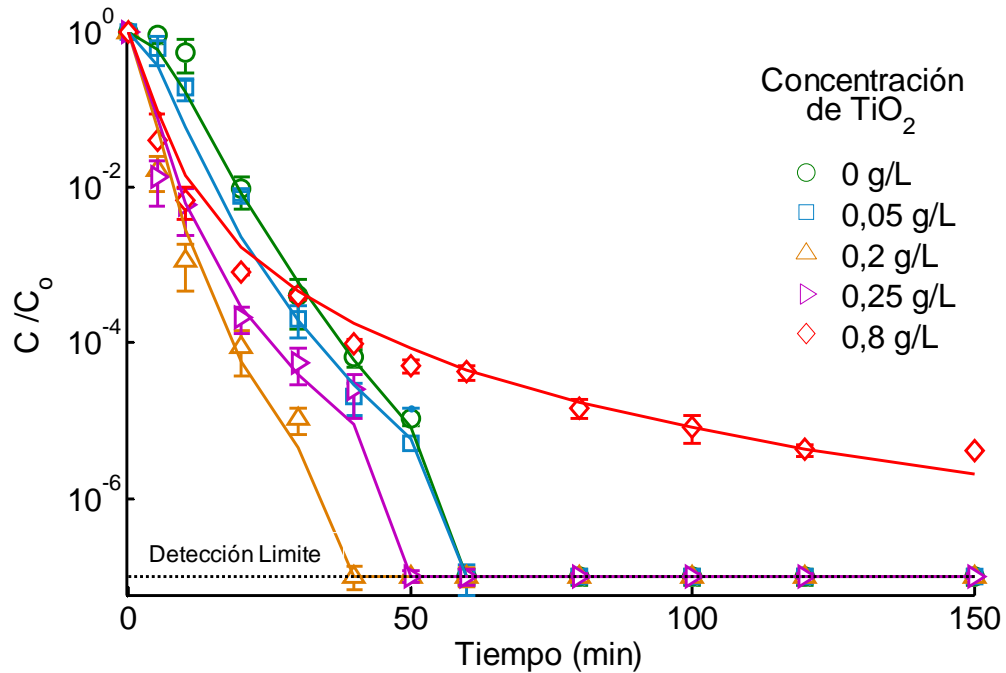
En estas figuras, se observa un aumento de la velocidad de inactivación fotocatalítica con el incremento en la concentración de fotocatalizador. Sin embargo, en la Fig. 6 a diferencia de la Fig. 5, pequeñas concentraciones de TiO_2 de alrededor de 0,05 g/L no causan efectos significativos en la velocidad de desactivación con respecto al sistema sin fotocatalizador. Adicionalmente, durante

los primeros 10 min de irradiación se observa una disminución de la velocidad de inactivación a una concentración de 0,05 g/L, formándose un pequeño hombro en las curvas de desinfección. Lo anterior se debe posiblemente a que con pequeñas concentraciones de TiO_2 los mecanismos de protección de las bacterias son suficientes para contrarrestar el daño celular causado por las especies oxidantes y en consecuencia se requiere la acumulación de daños sucesivos para poder alcanzar un nivel de daño considerable. Entonces, es posible afirmar que al sobrepasar la concentración de fotocatalizador de 0,05 g/L la resistencia disminuye notoriamente, de acuerdo al nivel de inclinación del hombro al inicio de las curvas de desinfección en las Figs. 5 y 6. Esto indica, que los mecanismos de recuperación bacteriana no contrarrestan el efecto oxidativo del radical hidroxilo cuando se sobrepasa una concentración de 0,05 g/L. Por consiguiente, el decaimiento logarítmico inicia desde el primer instante de la reacción de desinfección y por lo cual no se observa la presencia de un hombro pronunciado en la curva de desinfección para las otras concentraciones de TiO_2 .

Se observa que a bajas concentraciones de TiO_2 , menores a 0,2 g/L, se da un aumento significativo de la velocidad de inactivación, debido a la mayor generación de especies oxidantes. Así mismo, para concentraciones altas de catalizador, la velocidad de inactivación llega a un máximo y luego decrece, debido al efecto pantalla que impide la entrada de la luz dentro de la suspensión como en el caso del uso de 0,8 g/L de TiO_2 de este trabajo. De esta manera, la generación de especies oxidantes es controlada por el flujo de radiación incidente y no por la cantidad de catalizador. Se ha encontrado que este efecto depende no solo de la naturaleza de las partículas de catalizador, sino también de la intensidad de la luz y la concentración inicial de la bacteria. Consecuentemente, la "óptima concentración de catalizador", dependerá también del sistema de irradiación y/o geometría del fotorreactor. En contraste con lo anterior, en trabajos anteriormente realizados en nuestro centro de investigación, se encontró mediante el método de hidroxilación del ácido tereftálico que los máximos valores de radicales hidroxilo

producidos se dan a potencias elevadas y concentraciones de TiO_2 menores a 0,2 g/L [64].

Fig. 6. Influencia de la concentración de TiO_2 en la DFA con poblaciones de *E. coli* ATCC 11229 a 550 W/m^2 de irradiación: (símbolos) datos experimentales, (—) predicción del modelo. Barras de error estándar calculadas para cuatro conteos independientes.



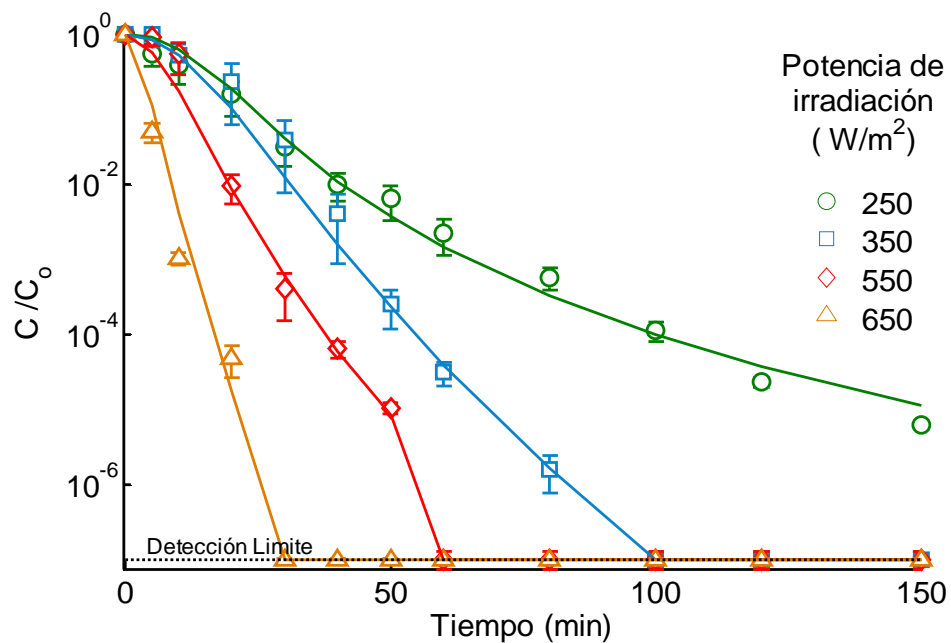
Fuente: El autor.

Finalmente, en la Fig. 6, se observa que en la curva de desinfección correspondiente a 0,8 g/L de TiO_2 y una potencia de irradiación de 550 W/m^2 , a medida que transcurre el tiempo disminuye notoriamente la actividad fotocatalítica y aparece una cola en la parte final de la inactivación. En conformidad, Parker y Darby [65] encontraron que la cola de las curvas de inactivación se presentan solo a altas potencias y puede ser atribuida al agrupamiento de los microorganismos y compuestos internos de la bacteria. Puesto que al existir agrupamiento u obstrucción del paso de la irradiación por los subproductos de la lisis celular, las poblaciones de *E. coli* estarán en contacto con bajas dosis de UV en comparación

con microorganismos individuales. Algunos autores sugieren que este comportamiento se debe al aumento de compuestos producidos por la lisis bacteriana, los cuales compiten por las especies oxidantes y causan protección a las bacterias no lesionadas, de modo que no son atacadas efectivamente y pueden regenerarse en ARC permitiendo su conteo después del periodo de incubación [10, 32].

En la Fig. 7 se presentan las curvas de DFA con *E. coli* ATCC11229 durante 150 min de irradiación en ausencia de TiO_2 con cuatro diferentes potencias.

Fig. 7. Influencia de la potencia de irradiación sobre la DFA: datos experimentales (símbolos), predicción con el modelo cinético (—).



Fuente: El autor.

En concordancia, al igual que con el aumento en la concentración de TiO_2 , se observa tanto en la Fig. 7 como en la Tabla 4, que al aumentar la potencia de irradiación, a concentración de fotocatalizador y temperatura constantes, también aumenta la velocidad de inactivación fotocatalítica, pues en este caso dicho cambio también repercute directamente en la cantidad de especies oxidantes

producidas [11, 28, 30, 31, 66]. Consecuentemente, también hay una potencia de irradiación con la que se sobrepasa un nivel límite de daños que aumenta la velocidad de inactivación.

Tabla 2. Valores de k^* , K^* y n , calculados para la DFA con *E. coli* ATCC11229 en ausencia de TiO_2 y con cuatro diferentes potencias.

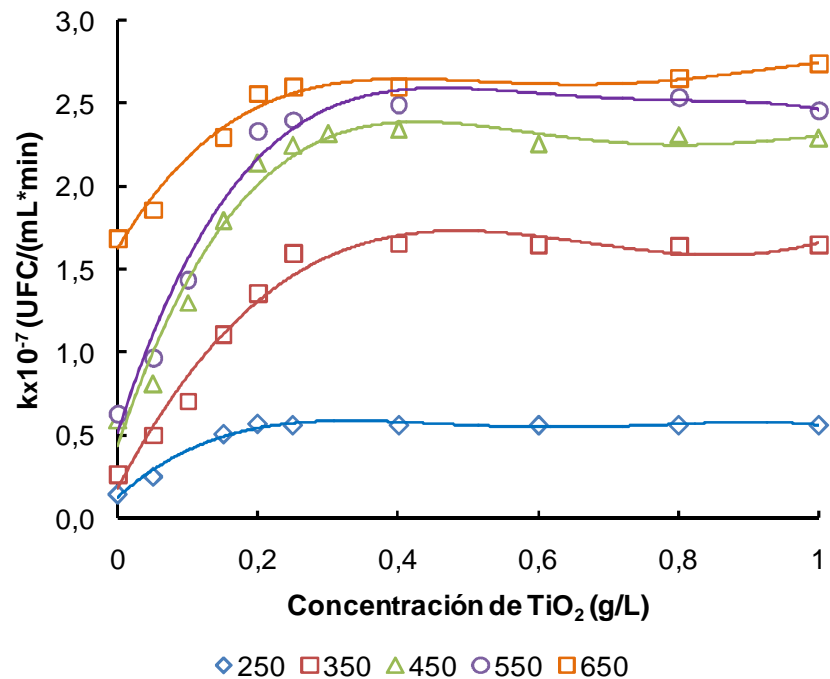
Potencia de irradiación (W/m^2)	$k^* = \frac{k}{C_0}$	$K^* = K \times C_0^n$	N
250	0,1450	1,6999	1,104
350	0,2635	1,2234	1,050
550	0,6277	0,7827	1,070
650	1,6840	0,6289	1,062

Fuente: El autor.

En la Figs. 8 a 10 se presentan la influencia de la concentración de fotocatalizador para potencias de 250, 350, 450, 550 y 650 W/m^2 sobre los tres parámetros cinéticos obtenidos mediante el ajuste de las ecuaciones 13 a 15, a partir de datos experimentales de C durante la DFA.

Se observa que al aumentar la concentración del fotocatalizador y la potencia de irradiación aumenta la velocidad de inactivación. Mientras que los valores del parámetro adimensional de interacción bacteria-especies oxidantes (K^*), disminuye y en consecuencia los valores de K también. Sin embargo, a concentraciones de fotocatalizador entre 0,2 y 1 g/L no hay variaciones significativas tanto de k y K^* . Esto sugiere que para una misma concentración inicial de bacterias de alrededor de 10^7 UFC/mL, se alcanza el nivel límite de daños, desde el inicio de la reacción, cuando se irradia una suspensión de 0,2 g/L de TiO_2 a una potencia de 250 W/m^2 . En el caso de concentraciones menores a 0,2 g/L se requiere un mayor tiempo de interacción bacteria-fotocatalizador para alcanzar dicho nivel de daños.

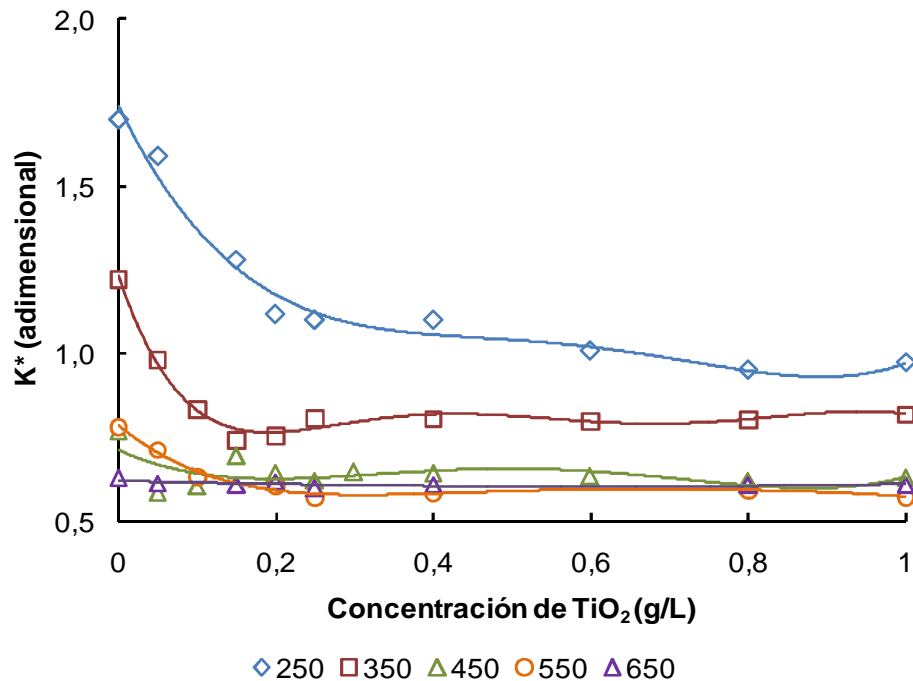
Fig. 8. Influencia de la concentración de TiO₂ sobre la velocidad de inactivación (*k*) de la DFA con *E. coli* ATCC 11229 de 5 diferentes potencias de irradiación.



Fuente: El autor.

Al comportamiento mencionado en el párrafo anterior, se suma la presencia del efecto pantalla ocasionado por el aumento de partículas en suspensión que hace que los valores de *k* y *K* permanezcan constantes. Benabbou *et al.* (2007), en estudios de desinfección con *E. coli* K12, atribuyen dicho comportamiento a la limitación de la difusión de fotones hasta la superficie de las partículas de fotocatalizador, lo que hace que los electrones y huecos disponibles no sean utilizados en la formación de especies oxidantes, implicando su recombinación en el fotocatalizador. Otros autores han encontrado este comportamiento para concentraciones por encima de 0,1 g/L (Marugán *et al.*, 2008) o 1 g/L (Rincón *et al.*, 2003) dependiendo del tipo de reactor utilizado.

Fig. 9. Influencia de la concentración de TiO_2 sobre el coeficiente adimensional de interacción bacteria-fotocatalizador (K^*) de la DFA con *E. coli* ATCC 11229 de 5 diferentes potencias de irradiación.

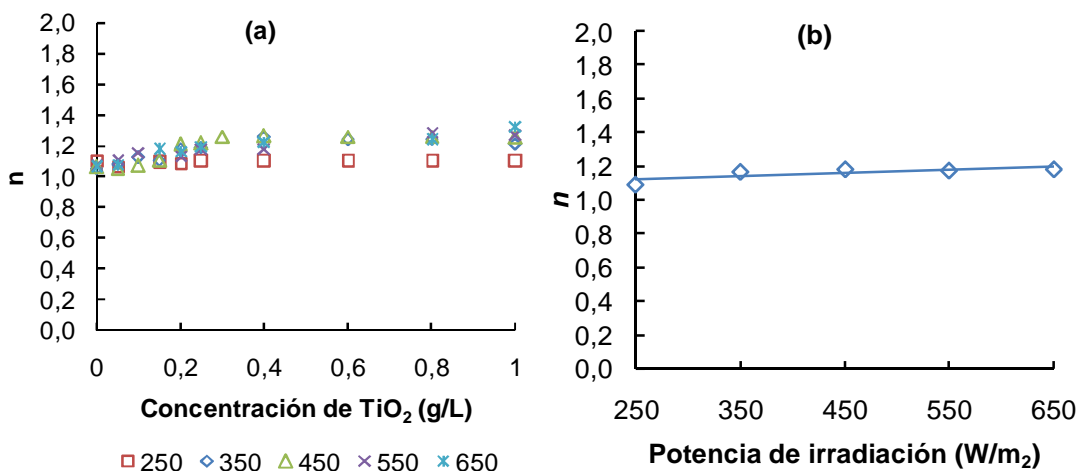


Fuente: El autor.

Finalmente, es necesario discutir el parámetro n , que está relacionado con la cola característica del final de las curvas de desinfección [26], determinado por variables del proceso como concentración de TiO_2 , potencia de irradiación y concentración de residuos subproducto de la desinfección. En la Fig. 10 se observa que el parámetro n no presenta cambios significativos con la potencia de irradiación. Adicionalmente, también se puede decir que no presenta cambios significativos tampoco con la concentración de TiO_2 y que presenta valores de alrededor de $1,161 \pm 0,04$. El hecho de que esta zona no esté determinada por las anteriores variables, sugiere que el parámetro n depende del efecto pantalla ocasionado por los subproductos de la desinfección [10, 66], lo cual no solo se puede observar en los pequeños aumentos mostrados en la Fig. 10a, sino también en la Fig. 6, para la concentración de 0,8 g/L y una potencia de irradiación alta

(550 W/m²). No obstante, pese a que los aumentos en n no son relativamente grandes, durante la realización del ajuste numérico de las curvas de desinfección, se observó que estos pequeños cambios cambian drásticamente el ajuste de la zona final de la curva de inactivación (cola), por lo cual no se puede considerar constante.

Fig. 10. Influencia de la concentración de TiO₂ sobre el coeficiente de inhibición (n) de la cinética de DFA con *E. coli* ATCC 11229 de 5 diferentes potencias de irradiación.



Fuente: El autor.

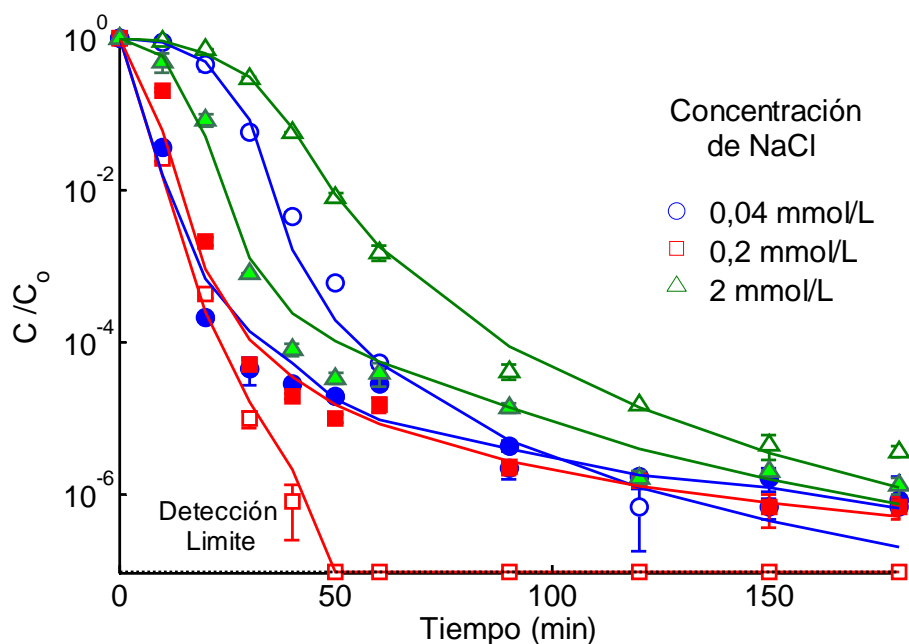
En último lugar, resumiendo lo anterior, se puede decir que cuando la cantidad de TiO₂ incrementa hasta un nivel de saturación, la velocidad de inactivación disminuye y la interacción e inhibición aumentan. Así mismo, que el exceso de partículas de TiO₂ puede crear un efecto de pantalla que reduce el área superficial de TiO₂ expuesto a la luz y de esta manera, disminuye la eficiencia fotocatalítica. Un gran número de estudios han reportado el efecto de la concentración de TiO₂ en la eficiencia del proceso. Estos resultados son principalmente independientes y no puede ser hecha una comparación directa, porque la geometría de trabajo, flujos de radiación, intensidad y longitudes de ondas usadas fueron diferentes.

2.3. EFECTO DE LA PRESENCIA DE SALES INORGÁNICAS EN LA MATRIZ DE AGUA

2.3.1. Influencia del NaCl

En las Figs. 11 y 12, se muestra el efecto de la concentración de NaCl sobre la desinfección y los parámetros cinéticos, respectivamente.

Fig. 11. Influencia de la presencia de NaCl sobre la DFA con *E.coli* a 250 W/m^2 . Con $0,25 \text{ g/L}$ de TiO_2 (Símbolos llenos) y sin TiO_2 (Símbolo vacíos). Las barras de error corresponden al error estándar de dos experimentos independientes.



Fuente: El autor.

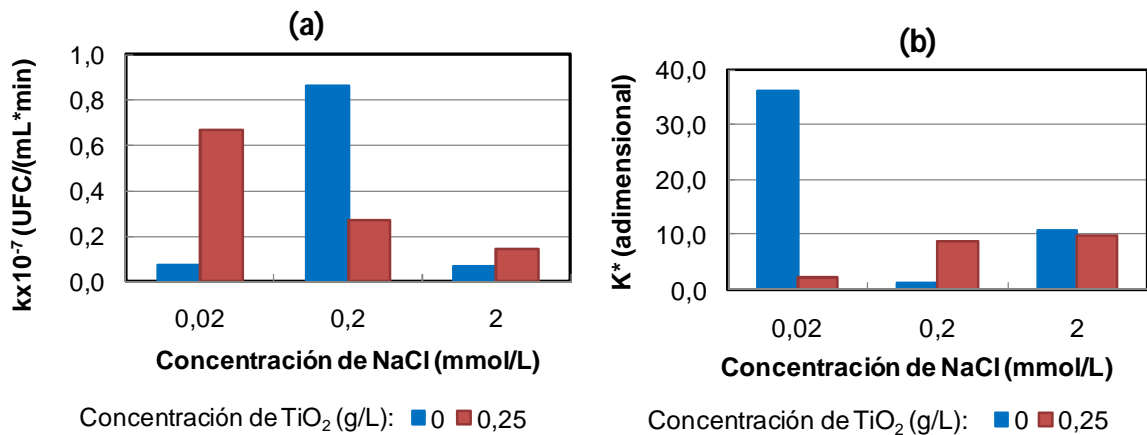
Se observa que en presencia de fotocatalizador, disminuye la velocidad de inactivación con el aumento en la concentración de NaCl. Sin embargo en ausencia de fotocatalizador, ocurre el efecto contrario en las concentraciones de $0,04$ a $0,2 \text{ mmol/L}$ de NaCl, después de las cuales se presenta inhibición de la actividad fotocatalítica. En cuanto al coeficiente de interacción (Fig. 12b), se presenta el efecto inverso al descrito anteriormente. Abdullah *et al* [31] atribuyen la

reducción en la actividad fotocatalítica del TiO_2 en la región (0.02 a 0.1) mmol/L por el incremento en la concentración de NaCl, a que los aniones de la sal neutralizan las especies oxidantes ($\cdot\text{Ox}$) tales como los radicales $\cdot\text{OH}$ y $\text{HO}_2\cdot$ (Ec. 23):



Adicionalmente, debido a que se presenta una alta adsorción de 7,025% de cloruros sobre TiO_2 en el periodo de oscuridad previo a la desinfección (resultados no mostrados), estos Cl^- adsorbidos podrían bloquear los sitios fotoactivos de la superficie del TiO_2 , inhibiendo la adsorción de agua hacia el catalizador, por lo que, el Cl^- podría impedir que se fotogeneren los h^+ , afectando la producción de especies oxidantes y la posterior muerte bacteriana.

Fig. 12. Influencia de la presencia de NaCl sobre los parámetros k y K^* de la cinética de DFA con *E.coli* a 250 W/m^2 . Velocidad de inactivación (a) y coeficiente de interacción adimensional bacteria- TiO_2 (b).



Fuente: El autor.

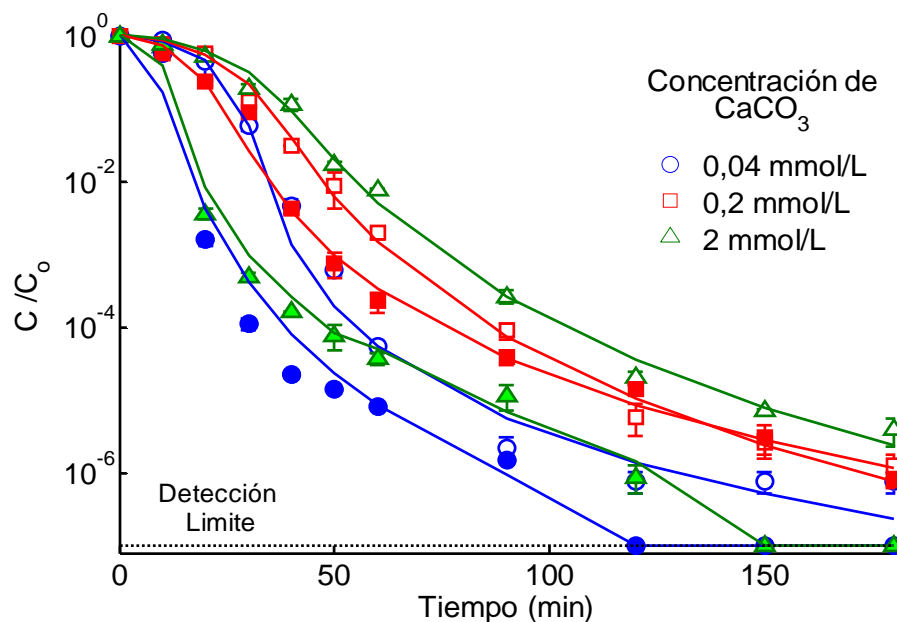
Por otra parte, Gourmelon *et al* [32], atribuyen que a muy altas concentraciones, es probable que el incremento en la concentración de Cl^- produzca cambios en la

permeabilidad de la membrana celular aumentando el flujo de sustancias nocivas al interior de la bacteria.

2.3.2. Influencia del CaCO_3

Las Figs. 13 y 14, presentan el efecto de la concentración de CaCO_3 sobre la desinfección en los procesos fotolítico (sin TiO_2) y fotocatalítico (con TiO_2) y los parámetros cinéticos, respectivamente. Se puede observar un buen ajuste del modelo a los datos experimentales. Por otro lado, se puede ver que hay un mayor efecto desinfectante en presencia de fotocatalizador que sin él.

Fig. 13. Influencia de la presencia de CaCO_3 sobre la DFA con *E.coli* a 250 W/m^2 . Con $0,25 \text{ g/L}$ de TiO_2 (Símbolos llenos) y sin TiO_2 (Símbolo vacíos). Las barras de error corresponden al error estándar de dos experimentos independientes.



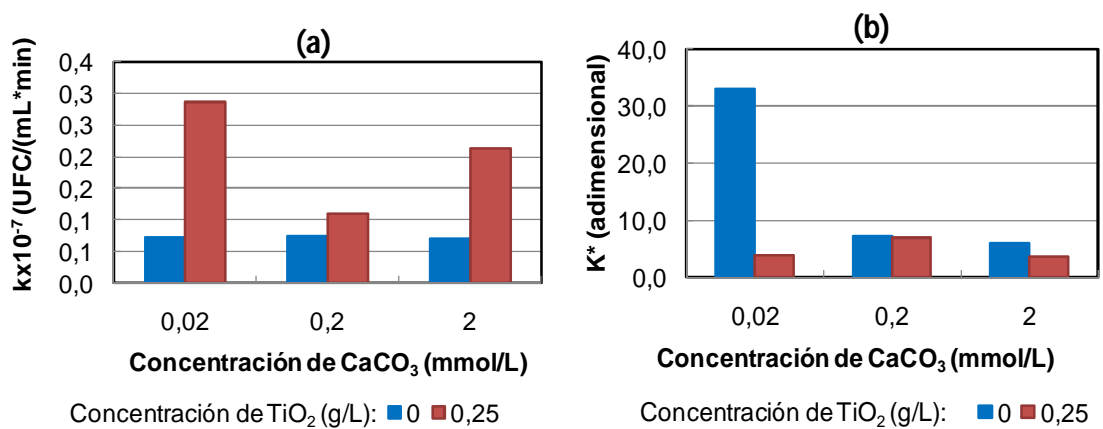
Fuente: El autor.

En las Figs. 14 a y b, se puede ver que en presencia de fotocatalizador, la velocidad de inactivación disminuye hasta concentraciones de $0,2 \text{ mmol/L}$ de CaCO_3 , por encima de la cual aumenta, mientras que en ausencia de TiO_2 , la

velocidad de desactivación inicial no presenta cambios significativos. Dicho comportamiento es atribuido a que las partículas dispersas de carbonato o bicarbonato generan un apantallamiento que conduce a una disminución en la producción de especies oxidantes [28]. Adicionalmente, una posible explicación para la inhibición presentada para concentraciones menores que 0,2 mmol/L CaCO_3 , es que el ion HCO_3^- contribuye a la generación de cargas negativas sobre la superficie del catalizador (Ec. 24) que a su vez dificultan el contacto cercano de la bacteria y las especies oxidantes generadas, disminuyendo la velocidad de desinfección.



Fig. 14. Influencia de la presencia de CaCO_3 durante la DFA con *E.coli* a 250 W/m^2 , sobre los parámetros k y K^* de la cinética. Velocidad de inactivación (a) y coeficiente de interacción adimensional bacteria- TiO_2 (b).



Fuente: El autor.

Por último, en la Fig. 14b se observa que el parámetro adimensional de interacción para la DFA en ausencia de TiO_2 , disminuye con el aumento en la concentración de la sal por lo que, también disminuye la interacción bacteria-especies oxidantes, necesaria para superar el nivel límite de daños necesarios para la inactivación bacteriana. Además, contrario a lo que sucede con el parámetro k , en presencia

de fotocatalizador, se presenta un valor mayor en el parámetro adimensional K^* , para la concentración de CaCO_3 de 0,2 mmol/L en comparación con las otras concentraciones. Rincón y Pulgarín [29], encontraron que para la misma concentración (0.2 mmol/L HCO_3^-) existe una interacción atípica entre el anión y la bacteria *E. coli* K12, que posiblemente le permite tolerar bajas concentraciones de sal, pero al ser esta mayor a 0.2 mmol/L, son alteradas las fuerzas osmóticas de la bacteria, generando condiciones menos favorables que hacen que aumente la velocidad de inactivación y en consecuencia se requiera una interacción bacteria-especies oxidantes menor para lograr la desactivación bacteriana. Otra posible explicación es que las especies HCO_3^- reaccionan con el radical hidroxilo para producir aniones menos reactivos como el CO_3^{2-} que de igual forma disminuyen la velocidad de desactivación bacteriana.

2.3.3. Influencia del MgSO_4

Las Figs. 15 y 16, presentan el efecto de la concentración de MgSO_4 sobre la desinfección en los procesos fotolítico (sin TiO_2) y fotocatalítico (con TiO_2) y los parámetros cinéticos, respectivamente.

Se observa mayor velocidad de desactivación (Figs. 15 y 16 a) en el proceso de DFA en presencia de TiO_2 que sin él. A su vez, para ambos procesos, con el incremento en la concentración de sulfatos aumenta la inhibición de la desinfección. Sin embargo, en presencia de TiO_2 este comportamiento es menos evidente o prácticamente no influenciado por la concentración de sulfatos. Adicionalmente, al ver la Fig. 16b se puede observar claramente que debido a la inhibición presentada, es necesaria una mayor interacción entre las especies oxidantes y la bacteria, para alcanzar la inactivación, siendo necesaria una interacción menor con el aumento en la concentración de los sulfatos.

El comportamiento anterior se debe a la formación del anión sulfato ($\text{SO}_4^{\cdot-}$), el cual tiene un poder oxidante (2,43) muy cercano al del OH^{\cdot} (2,8). Este anión se forma

debido a la reacción de los OH^\bullet generados, con el ion sulfato, de acuerdo a las siguientes reacciones (Ecs. 25 y 26):

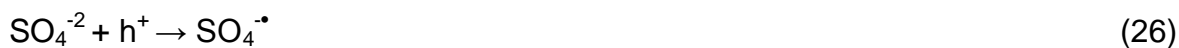
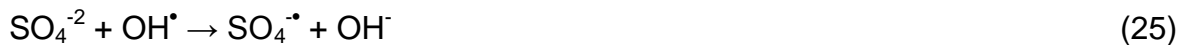
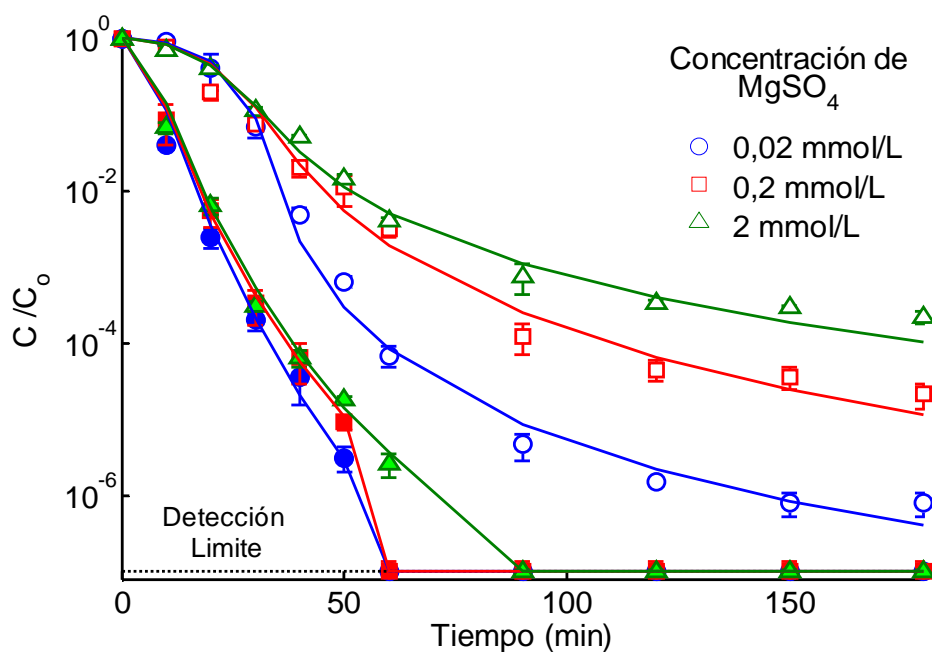


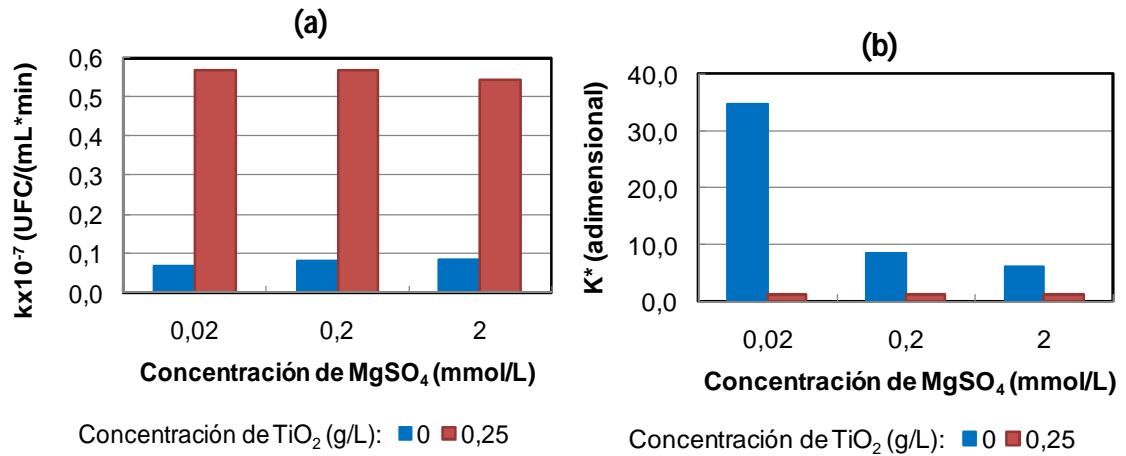
Fig. 15. Influencia de la presencia de MgSO_4 sobre la DFA con *E.coli* a 250 W/m^2 . Con $0,25 \text{ g/L}$ de TiO_2 (Símbolos llenos) y sin TiO_2 (Símbolo vacíos). Las barras de error corresponden al error estándar de dos experimentos independientes.



Fuente: El autor.

Por último, los valores de K^* y del coeficiente de inhibición promedio ($1,24 \pm 0,03$) obtenidos para las pruebas de DFA en presencia de las sales, fueron mayores, en comparación con los mostradas en la sección 3.2, lo cual explica la presencia de colas más pronunciadas en las curvas de desinfección en presencia de las sales, que sin ellas (Figs. 5 a 7), debido al aumento de la inhibición con la presencia de cada sal.

Fig. 16. Influencia de la presencia de $MgSO_4$ durante la DFA con *E.coli* a 250 W/m^2 , sobre los parámetros k y K^* de la cinética. Velocidad de inactivación (a) y coeficiente de interacción adimensional bacteria- TiO_2 (b).



Fuente: El autor.

2.4. EFECTO DEL PH INICIAL DEL AGUA EN LA CINÉTICA DE DFA

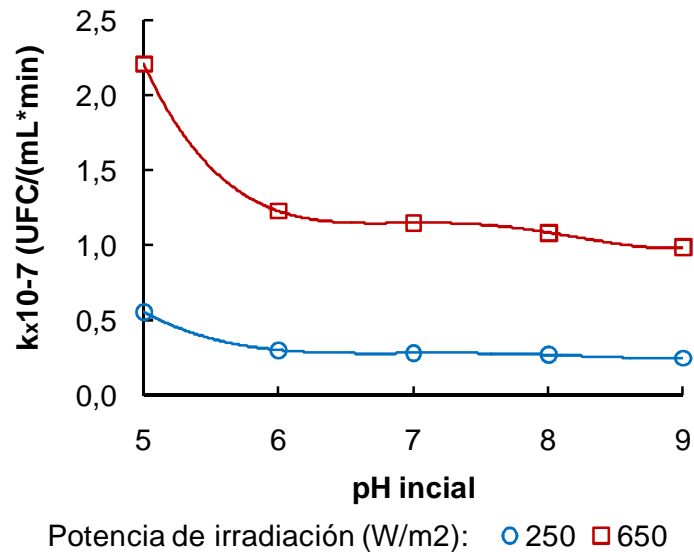
En la Figs. 17 y 18 se presentan la influencia del pH inicial del agua en la velocidad de desactivación y el coeficiente adimensional de interacción bacteria- TiO_2 respectivamente para bajas ($250 W/m^2$) y altas potencias ($650W/m^2$). Se observa que a medida que el pH inicial aumenta, el valor de k disminuye, mientras que el de K^* aumenta.

Este comportamiento está asociado con los cambios en el punto de carga cero. Para valores de pH más altos que el punto de carga cero (PZC = 6.5) del TiO_2 , la superficie del catalizador se carga negativamente, siguiendo el equilibrio mostrado por las Ecs. 27 y 28 y en consecuencia la atracción electrostática entre la bacteria y el catalizador es menor; por consiguiente la actividad fotocatalítica disminuye.



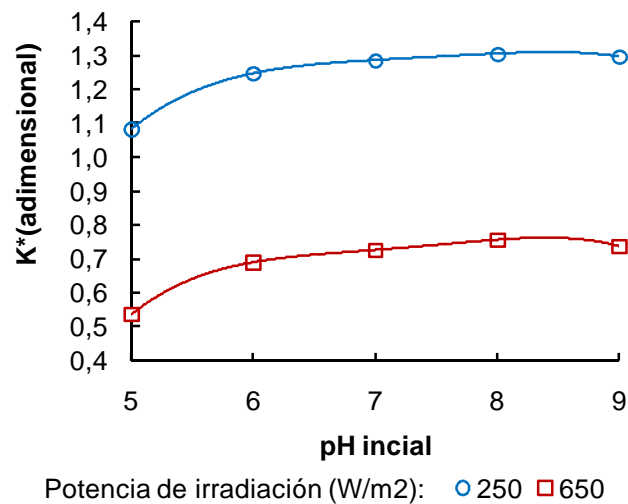


Fig. 17. Efecto del pH inicial del agua contaminada con *E. coli* en la velocidad de inactivación (k).



Fuente: El autor.

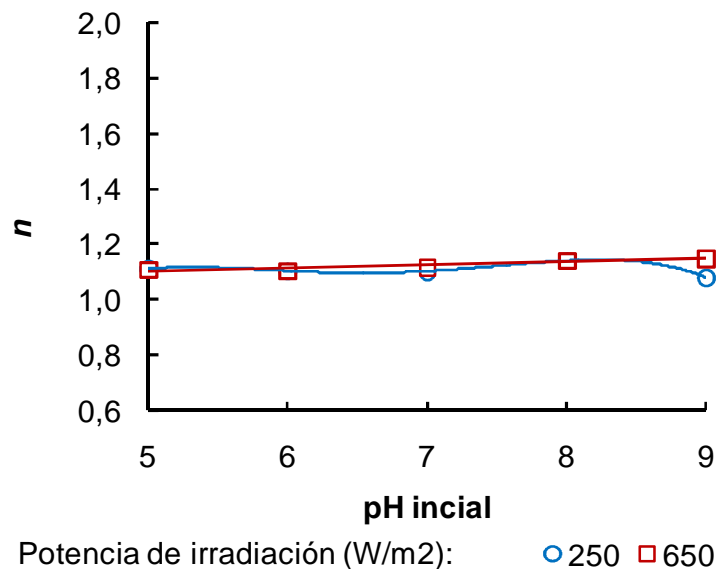
Fig. 18. Efecto del pH inicial del agua contaminada con *E. coli* sobre el parámetro de interacción bacteria-fotocatalizador adimensional (K^*).



Fuente: El autor.

Finalmente, luego de haber analizado el comportamiento de las variables estudiadas del proceso de desinfección, se pudo detectar claramente, que existen diversos factores que influyen sobre la actividad fotocatalítica y que a pesar de los esfuerzos que se han hecho para correlacionarlos de una manera contundente, éstos no han sido suficientes para establecer una relación definitiva y precisa entre todas las variables involucradas y la inactivación bacteriana a través de la fotocatalisis. Por lo anterior, es sano no incluir aún todos esos efectos en un modelo matemático definitivo, ya que para lograr esto se requeriría de una extensa cantidad de experimentos adicionales que muy posiblemente no se justifiquen. Sin embargo, los resultados obtenidos hasta ahora a través la experimentación efectuada en este trabajo, que conducen a identificar las variables de influencia más relevante en el proceso de desinfección, permiten plantear una aproximación más cercana a la predicción del comportamiento cinético, que amplía lo ya desarrollado por otros autores anteriormente.

Fig. 19. Efecto del pH inicial del agua contaminada con E.coli sobre el coeficiente de inhibición (n) de la cinética de DFA.



Fuente: El autor.

2.5. MODELO MATEMÁTICO PARA LOS PARÁMETROS CINÉTICOS

De acuerdo a los modelos estudiados y dados por las Ecs. 16 a 21. En la Tabla 4, se muestran los resultados obtenidos tanto para la velocidad de inactivación (k^*), como para el parámetro de interacción adimensional bacteria-especies oxidantes (K^*). Estos resultados fueron obtenidos utilizando el método de regresión lineal múltiple y el test de significancia descrito por Montgomery *et al* [60]

Tabla 3. Análisis estadísticos de los modelos lineales utilizados

Modelo	Ecuación N°	k^*		K^*	
		F	R ²	F	R ²
Lineal	17	N.C	N.C	-276,26	1,05
Lineal con interacción entre variables	18	70,09	0,80	15,56	0,70
Exponencial Simple	19	N.C	N.C	13,23	0,62
Exponencial con interacción	20	21,53	0,72	36,89	0,82
Asíntotas	21	27,32	0,77	-84,57	1,34
asíntotas con interacción	22	18,92	0,74	81,51	0,92

Fuente: El autor.

Se observa que en el caso de la constante k^* , los modelos correspondientes a las Ecs. 18 y 21 fueron los que presentaron mayor grado de correlación, y para el parámetro K^* fue el de la Ec. 22. Con miras a lograr una mejor correlación matemática y disminuir los posibles factores de error, estos modelos también fueron evaluados pero tomando como restricción dos zonas de concentración de TiO₂: la primera de 0 a 0,2 g/L y la segunda zona de 0,2 a 1 g/L de TiO₂. En las Tablas 5 y 6, se pueden observar los valores de la prueba F y del coeficiente de correlación para k^* y K^* respectivamente.

Tabla 4. Comparación de correlación estadística de los modelos lineales aplicados para la velocidad de desactivación.

Modelo	k^* (zona 1)		k^* (zona 2)	
	F	R ²	F	R ²
Lineal con interacción entre variables	42,49	0,93	405,89	0,99
asíntota con interacción entre variables	8,34	0,71	542,99	0,99

Fuente: El autor.

Tabla 5. Comparación de correlación estadística de los modelos lineales aplicados a los datos de coeficiente de interacción bacteria-TiO₂.

Modelo	K^* (zona 1)		K^* (zona 2)	
	F	R ²	F	R ²
Lineal con interacción entre variables	16,65	0,83	173,15	0,97
Asíntota con interacción entre variables	67,69	0,95	117,35	0,96

Fuente: El autor.

Se puede ver en la Tabla 5, de acuerdo a los mayores valores de F y R², que el modelo que mejor correlaciona con los datos de k^* en la zona 1 es el tipo lineal con interacción entre variables, y en la zona 2, el modelo asintótico con interacción entre variables. Mientras que, para el parámetro K^* en la zona 1, es el modelo asintótico y en la zona 2 no se observa un cambio significativo entre aplicar uno u otro modelo. Sin embargo, al comparar el R² de 0,92 obtenido para la Ec. 22 y los valores de 0,97 y 0,96 de la zona 2 (Tabla 5) se podría decir que no es justificable la creación de dos ecuaciones para describir por zonas el parámetro K^* , ya que utilizando solamente la Ec. 29 se alcanza una correlación aceptable. Es importante tener en cuenta que los valores de las Tablas 5 y 6 son los máximos valores de la prueba F y R² alcanzados en todos los modelos aplicados.

Por otro lado, para obtener un modelo más compacto (con una menor cantidad de términos), sin alterar en gran medida su nivel de correlación, se aplicó el criterio de reducción de términos descrito en la parte experimental y se analizaron todas las combinaciones posibles. Finalmente, El modelo obtenido para K^* es:

$$K^* = \beta_0 + \beta_1 \frac{1}{X_1} + \beta_2 \frac{1}{X_2} + \beta_3 \frac{1}{X_1^2} + \beta_4 \frac{1}{X_1 X_2} + \beta_5 \frac{1}{X_2^2} \quad (29)$$

Donde X_1 y X_2 son la concentración de fotocatalizador y la potencia de irradiación respectivamente. Los valores para las constantes β_0 a β_5 se encuentran en la Tabla 7, al igual que la correlación obtenida para cada modelo. Finalmente, si $X_1 = [TiO_2]$ y $X_2 = P$, la ecuación quedaría de la siguiente forma:

$$K^* = \beta_0 + \beta_1 \frac{1}{[TiO_2]} + \beta_2 \frac{1}{P} + \beta_4 \frac{1}{[TiO_2] * P} \quad (30)$$

Por otra parte, las ecuaciones obtenidas para k^* son:

$$k^* = \beta_0 + \beta_1 [TiO_2] + \beta_2 P + \beta_4 [TiO_2] * P \quad (31)$$

$$k^* = \beta_0 + \beta_1 \frac{1}{[TiO_2]} + \beta_2 \frac{1}{P} \quad (32)$$

De las cuales, la ecuación 31 y la 32 son validas para las zonas 1 (concentraciones de $TiO_2 < 0,2$ g/L) y zona 2 (concentraciones de $TiO_2 \geq 0,2$ g/L) respectivamente. En la Ec. 31, a diferencia de la Ec. 32 se puede observar la presencia de un cuarto término, el cual corresponde a la interacción entre la concentración de TiO_2 y la potencia de irradiación, por tanto, se puede decir que en la primera zona hay influencia en conjunto de dichas variables, mientras que en la zona 2 k^* y por ende la velocidad de desactivación es la suma del efecto de dichas variables.

Finalmente, el coeficiente de inhibición se relacionó con la velocidad de inactivación k^* , mediante la Ec. 33, para garantizar una mejor correlación.

$$n = 1,047 + 0,074 * k^* \quad (33)$$

Tabla 6. Constantes y coeficientes de correlación para las ecuaciones (30-32) respectivamente.

Ecuación	B ₀	B ₁	B ₂	B ₄	R ²
(30)	0,116	2,72x10 ⁻⁴	248,91	0,72	0,84
(31)	-0,63	5,27x10 ⁻⁹	2,84x10 ⁻³	1,24x10 ⁻²	0,92
(32)	4,03	1,02x10 ⁻²	-861,92		0,98

Fuente: El autor.

Después de conocidas las correlaciones matemáticas para cada una de los parámetros cinéticos, estas se validaron y el cálculo de las concentraciones totales, lesionadas y no lesionadas de *E. coli* en cada instante de tiempo, en esta instancia, se realizó mediante la determinación inicial de k^* , K^* y n con las ecuaciones (30) a (32) según fuera el caso, partiendo de las condiciones de concentración de TiO₂ y potencia de irradiación utilizadas para cada prueba experimental. Ya teniendo los valores de k^* , K^* y n se aplicó la integración de Runge-Kutta de quinto orden a las ecuaciones cinéticas originales, para realizar la determinación de las concentraciones bacterianas en cada instante de tiempo de la DFA.

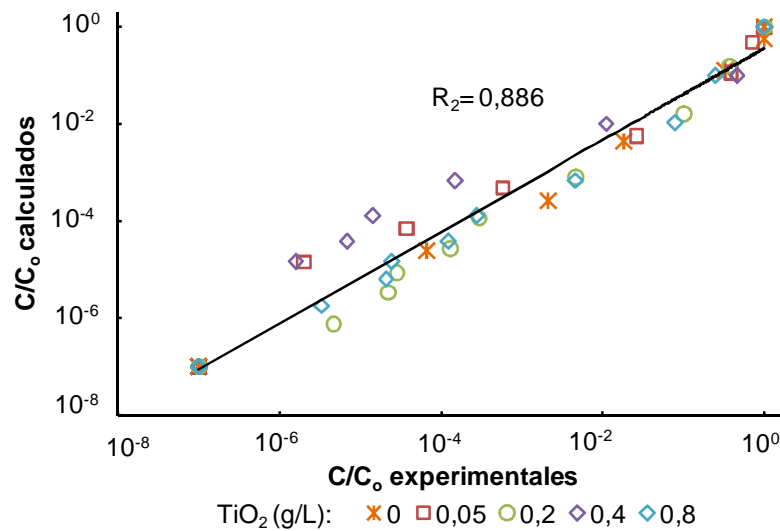
2.6. VALIDACIÓN DEL MODELO MATEMÁTICO DETERMINADO

La Fig. 20, presenta la comparación entre la relación de las concentraciones de bacterias totales sobre las iniciales (C/C_0), medidos experimentalmente y calculadas utilizando el modelo matemático propuesto y el método de cálculo descrito en la anterior sección. Se observa que el uso de las correlaciones

matemáticas permite la predicción de la concentración total (C) durante la desinfección de agua contaminada con *E. coli*.

Se observa que no hay una diferencia apreciable en los datos experimentales y los predichos por el modelo.

Fig. 20. Relación entre la C_T experimental y la C_T calculados para diferentes concentraciones a 400 W/m^2 .



Fuente: El autor.

El análisis de regresión lineal multivariable, permitió establecer una relación entre la C y las variables más importantes del proceso de desinfección.

Como se puede observar después de obtenidas las correlaciones, la C alcanzada durante la inactivación de *E. coli* depende fuertemente de la concentración de catalizador y potencia de irradiación, fuertemente ligadas con la cantidad de especies oxidantes producidas. Por tanto, las correlaciones matemáticas desarrolladas permiten la obtención de un modelo más generalizado en comparación con el modelo original, propuesto por Marugán *et al* [26], el cual no incluye directamente la interacción de dichas variables del proceso.

3. CONCLUSIONES

El análisis del efecto de las variables más importantes en el proceso de fotodesinfección, tales como: la concentración de TiO_2 , la potencia de irradiación, la presencia de sales durante la inactivación y el pH inicial, permitió conocer sus efectos sobre la cinética de desinfección fotocatalítica de agua. Con lo anterior fue posible la obtención de una ecuación matemática que relaciona la concentración de fotocatalizador y potencia de irradiación con los parámetros cinéticos y por consiguiente también con la concentración de bacterias totales durante cada etapa de la desinfección. El modelo obtenido da confiabilidad en rangos de irradiación semejantes a los presentados por la luz solar y así mismo en concentraciones de catalizador también utilizadas en otros sistemas de reacción.

Con el estudio de las variables se pudo encontrar que el aumento de la concentración de fotocatalizador y de la potencia de irradiación, hace que el coeficiente de interacción bacteria-especies oxidantes disminuya y la constante de velocidad de desactivación aumente. Lo anterior, de acuerdo al aumento en las especies oxidantes que permiten alcanzar en menor tiempo el nivel de daño necesario sobrepasando la resistencia bacteriana y alcanzar la inactivación.

Así mismo, se encontró que el pH inicial y la presencia de sales inorgánicas en el agua pueden aumentar o disminuir el efecto fotocatalítico, dependiendo de la naturaleza de la sal y la concentración de esta en el agua.

4. PERSPECTIVAS

A partir del análisis de los resultados obtenidos en esta investigación, se plantea la necesidad de estudiar el comportamiento de la desinfección fotocatalítica de agua al modificar variables del proceso tales como: la concentración de fotocatalizador, potencia de irradiación, presencia de sales inorgánicas y el pH inicial, en otro tipo de reactor. Lo anterior con el fin de obtener correlaciones matemáticas más completas, para lograr una mejor predicción del comportamiento de la *E. coli* durante el proceso de desinfección.

Publicaciones

“Estudio cinético de la desinfección fotocatalítica de agua contaminada con *E. coli*: Efecto de la concentración de fotocatalizador y la potencia de irradiación”. Andrea L. Moreno Camilo A. Castro, Sonia A. Giraldo, Aristóbulo Centeno. Aceptado para publicación en la revista Información Tecnológica de Chile.

Eventos Científicos

- Efectos causados por tratamientos fotocatalíticos con TiO_2 sobre la *E. coli*. Camilo A. Castro, Andrea Moreno, Alba L. Arámbula, Giovanna Rincón, Aristóbulo Centeno, Sonia A. Giraldo. II Simposio Latinoamericano de Procesos (II SILAPAO), 27-28 de noviembre de 2008. Medellín, Colombia.
- “Cinética de desinfección fotocatalítica de agua con *E. coli*.” Andrea L. Moreno, Camilo A. Castro, Aristóbulo Centeno, Sonia A. Giraldo. Presentado en modalidad oral en el VI Simposio Colombiano de Catálisis, Medellín (Colombia). Octubre de 2009.

5. BIBLIOGRAFIA

1. Fernández, A., y du Mortier, C., *Evaluación de la condición del agua para consumo humano en Latinoamérica*. Solar Safe Water. Ed. J., Blanco, M. Blesa, Buenos Aires, 2005.
2. Hunt, N.K., y Mariñas, B.J., *Inactivation of escherichia coli with ozone: chemical and inactivation kinetics*. Water Research, 1999. 33: p. 2633-2641.
3. Leal, A., M.T., *Tecnologías convencionales de tratamiento de agua y sus limitaciones*. Solar safe Water. Ed. J., Blanco, M. Blesa, Buenos Aires, Cap. 4, 2005.
4. Dunnick, J.K., Melnick, R. L., *Assessment of the carcinogenic potential of chlorinated water: experimental studies of chlorine, chloramine, and trihalomethanes*. J. Natl. Cancer Inst, 1993. 85: p. 817-822.
5. Malato, S., Fernández-Ibáñez, P., Maldonado, M.I., Blanco, J., Gernjak, W., *Decontamination and disinfection of water by solar photocatalysis: Recent overview and trends*. Catalysis Today, 2009. 147: p. 1-59.
6. Smirnova, G.V., Muzyka, N.G., Oktyabrsky, O.N., *Enhanced resistance to peroxide stress in Escherichia coli grown outside their niche temperatures*. Journal of Thermal Biology, 2007. 32: p. 321-327.
7. Gumy, D., Morais, C., Bowen, P., Pulgarín, C., Giraldo, S., Hajdu, R., Kiwi, J., *Catalytic activity of commercial TiO_2 powders for the abatement of the bacteria (*E. coli*) under solar simulated light: Influence of the isoelectric point*. Applied Catalysis B: Environmental, 2006. 63: p. 76-84.
8. Fujishima, A., Zhang, X., Tryk, D.A., *TiO_2 photocatalysis and related surface phenomena*. Surface Science Reports, 2008. 63: p. 515-582.
9. Rincón, A.G., Giraldo, S.A., Pulgarín, C., ed. *Desinfección de agua por fotocatalisis. Aspectos Básicos*, in: *En Solar Safe Water*. ed. J.B. M. Blesa. 2005: Buenos Aires.
10. Coleman, H.M., Marquis, C.P., Scott, J.A., Chin, S.-S., Amal, R., *Bactericidal effects of titanium dioxide-based photocatalysts*. Chemical Engineering Journal, 2005. 113: p. 55-63.

11. Hoerter, J.D., Arnold, A.A., Kuczynska, D.A., Shibuya, A., Ward, C.S., Sauer, M.G., Gizachew, A., Hotchkiss, T.M., Fleming, T.J., Johnson, S., *Effects of sublethal UVA irradiation on activity levels of oxidative defense enzymes and protein oxidation in Escherichia coli*. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, 2005. 81: p. 171-180.
12. Sichel, C., Tello, J., de Cara, M., Fernández-Ibáñez, P., *Effect of UV solar intensity and dose on the photocatalytic disinfection of bacteria and fungi*. Catalysis Today 2007. 129: p. 152-160.
13. Srinivasan, C., y Somasundaram, N., *Bactericidal and detoxification effects of irradiated semiconductor catalyst, TiO₂*. Current Science, 2003. 85: p. 1431-1438.
14. Hoffmann, M.R., Martin, S.T., Choi, w., y Bahnemann, D.W., *Environmental Applications of Semiconductor Photocatalysis*. Chem. Rev, 1995. 95, 69.
15. Carp, O., Huisman, C. L., Reller, A. , *Photoinduced reactivity of titanium dioxide*. Progress in Solid State Chemistry, 2004. 32: p. 33-177.
16. Richter, C., *Biophysical consequences of lipid peroxidation in lipid membranes*. Chem. Phys Lipids, 1987. 44: p. 175-189.
17. Dean, R.T., Hunt, J. V., Grant, A. J., Yamamoto, Y., y Niki, E., *Free radical damage to proteins: the influence of the relative localization of radical generation, antioxidants, and target proteins*. Free Radical Biology & Medicine, 1991. 11: p. 161-168.
18. Muriel, P., *Peroxidation of lipids and liver damage. En: oxidants, antioxidants and free radicals. Baskin y Salem (eds.), Taylor & Francis, New York. . 1997. 14: p. 237-257.*
19. Maness, P., Smolinski, S., Blake, D.M., Huang, Z., Wolfrum, E.J., y Jacoby, W.A., *Bactericidal Activity of Photocatalytic TiO₂ Reaction: toward an Understanding of Its Killing Mechanism*. Appl. Environ. Microbiol, 1999. 65: p. 4094-4098.
20. Cho, M., Chung, H., Choi, W., Yoon, J., , *Linear correlation between inactivation of E. coli and OH radical concentration in TiO₂ photocatalytic disinfection*. Water Research, 2004. 38: p. 1069-1077.
21. Shang, C., Cheung, L.M., Ho C-M., Zeng, M.,, *Repression of photoreactivation and dark repair of coliform bacteria by TiO₂-Modified UV-C disinfection*. Applied Catalysis B: Environmental, 2009. 89: p. 536-542.

22. Ibáñez, J.A., Litter, M.I., Pizarro, R.A., *Photocatalytic bactericidal effect of TiO₂ on Enterobacter cloacae comparative study with other Gram (-) bacteria*. Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry, 2003. 157: p. 81-85.
23. Chong, M.N., Jin, B., Chow, C.W.K., Saint, C., *Recent developments in photocatalytic water treatment technology: A review*. Water Research, 2010. 44: p. 2997-3027.
24. Maadigan, M., Martinko, J.M., Parker, J., *Brock: Biología de los microorganismos*. 10^a. Ed. Pearson Prentice Hall, 2006.
25. Salih, F.M., *Formulation of a mathematical model to predict solar water disinfection*. Water Research, 2003. 37: p. 3921-3927.
26. Marugán, J., Van, Grieken, R., Sordo, C., Cruz, C., *Kinetics of the photocatalytic disinfection of Escherichia coli suspensions*. Appl. Catal. B: Environ, 2008. 82: p. 27-36.
27. Dalrymple, O.K., Sterfanakos, E., Trotz, M.A., Goswami, D.Y., *A review of the mechanisms and modeling of photocatalytic disinfection*. Appl. Catal. B: Environ, 2010. 98: p. 27-38.
28. Rincón, A.G., Pulgarín, C., *Photocatalytical inactivation of E. coli: effect of (continuous-intermittent) light intensity and of (suspended-fixed) TiO₂ concentration*. Appl. Catal. B: Environ, 2003. 44: p. 263-284.
29. Rincón, A.G., Pulgarín, C., *Effect of pH, inorganic ions, organic matter and H₂O₂ on E. coli K12 photocatalytic inactivation by TiO₂ implication in solar water disinfection*. Applied Catalysis B: Environmental, 2004. 51: p. 283-302.
30. Rincón, A.G., Pulgarin, C., *Bactericidal action of illuminated TiO₂ on pure Escherichia coli and natural bacterial consortia: post-irradiation events in the dark and assessment of the effective disinfection time*. Appl. Catal. B: Environ, 2004. 49: p. 99-112.
31. Rincón, A.G., Pulgarin, C., *Field solar E. coli inactivation in the absence and presence of TiO₂: is UV solar dose an appropriate parameter for standarization of water solar disinfection?* Solar Energy, 2004. 77: p. 635-648.
32. Benabbou, A.K., Derriche, A., Felix, C., Lejeune, M.P., Guillard, C., *Photocatalytic inactivation of Escherichia coli Effect of concentration of TiO₂*

and microorganism, nature, and intensity of UV irradiation. Applied Catalysis B: Environmental, 2007. 76: p. 257-263.

33. Castro, C.A., Arámbula, A., Centeno, A., Giraldo, S.A. , *Degradación heliofotocatalítica de Escherichia coli en sistemas tipo desinfección SODIS con dióxido de titanio modificado* Inf. Tecnol. , 2009. 20: p. 29-36.
34. Dantur, K.I., Pizarro, R.A, *Effect of growth phase on the Escherichia coli response to ultraviolet-A radiation: influence of conditioned media, hydrogen peroxide and acetate*. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, 2004. 75: p. 33-39.
35. Labas, M., Martín, C., Cassano, A., *Kinetics of bacteria disinfection with UV radiation in an absorbing and nutritious medium*. Chem. Eng. J., 2005. 114: p. 87-97.
36. Herrera, M.J.A., Doña, R.J.M., Viera, A.S., Tello, E.R., Valdés, C. do Campo., Arana, J., Pérez, P.J., *The photocatalytic disinfection of urban waste waters*. Chemosphere, 2000. 41: p. 323-327.
37. Pernitsky, D.J., Finch, G.R., y Huck, P.M., *Disinfection kinetics of heterotrophic plate count bacteria in biologically treated potable water*. Water Research, 1995. 29: p. 1235-1241.
38. Rennecker, J.L., Mariñas, B.J., Owens, J.H., y Rice, E.W., Water Research, 1999. 33: p. 2481-2488.
39. Rincón, A.G., Pulgarin, C., Adler, N., Peringer, P., *Interaction between E. coli inactivation and DBP-precursors-dihydroxybenzene isomers- in the photocatalytic process of drinking-water disinfection with TiO₂*. Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry 2001. 139: p. 233-241.
40. Labas, M.D., Zalazar, C.S., Brandi, R.J., Cassano, A.E., *Reaction kinetics of bacteria disinfection employing hydrogen peroxide*. Biochemical Engineering Journal, 2008. 38: p. 78-87.
41. Severín, B., Suidan, M., Engelbrecht, R., *Kinetic modeling of U.V. disinfection of water*. Water Research, 1983. 17: p. 1669-1678.
42. Labas, M.D., Brandi, R.J., Martín, C.A., Cassano, A.E, *Kinetics of bacteria inactivation employing UV radiation under clear water conditions*. Chemical Engineering Journal, 2006. 121: p. 135-145.

43. Gomes, A.I., Vilar, V.J.P., Boaventura, R.A.R., *Synthetic and natural waters disinfection using natural solar radiation in a pilot plant with CPCs*. *Catalysis Today*, 2009. 144: p. 55-61.
44. Marugán, J., Grieken, R., Sordo, C., Cruz, C., *Corrigendum to "Kinetics of the photocatalytic disinfection of Escherichia coli suspensions" [Appl. Catal. B: Environ. 82 (2008) 27-36]*. *Appl Catal B: Environ*, 2009. 88: p. 582-583.
45. Madigan, M., Mrtinko, J.M., Parker, J., ed. *Brock: Biología de los microorganismos*. . 12a edición ed. Pearson Prentice Hall. 2009.
46. Cushnie, T.P.T., Robertson, P., Officer, S., Pollard, P., McCullagh, C., Robertson, J.M.C., *Variables to be considered when assessing the photocatalytic destruction of bacterial pathogens*. *Chemosphere*, 2009. 74: p. 1374-1378.
47. Sichel, C., Blanco, J., Malatao, S., Fernández-Ibáñez, P., *Effects of experimental conditions on E. coli survival during solar photocatalytic water disinfection*. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 2007. 189: p. 239-246.
48. Wanner, U., and Egli, T., *Dynamics of microbial growth and cell composition in batch culture*. *FEMS Microbiol.*, 1990. 6: p. 19-43.
49. Gourmelon, M., Touati, D., Pommepuy, M., y Cormier, M., *Survival of Escherichia coli exposed to visible light in seawater: analysis of rpoS-dependent effects*. *Can. J. Microbiol.*, 1997. 43: p. 1036-1043.
50. Reed, R.H., *Solar inactivation of faecal bacteria in water: the critical role of oxygen*. *Lett. Appl. Microbiol*, 1997. 24: p. 276-280.
51. Rizzo., L., *Inactivation and injury of total coliform bacteria after primary disinfection of drinking water by TiO2 photocatalysis*. *J. Hazard. Mater*, 2009. 165: p. 48-51.
52. Packer, P., Mackerness, C., Riches, M., y Keevil, C., *Comparison of selective agars for the isolation and identification of Klebsiella oxytoca and Escherichia coli from environmental drinking water samples*. *Lett. Appl. Microbiol*, 1995. 20: p. 303-307.
53. Mills, A., Hunte, L. S., *An overview of Semiconductor Photocatalysis*. *J. Photochem. Photobiol. A: Chem*, 1997. 108: p. 1-35.

54. Diebold, U., *The surface science of titanium dioxide*. Surface Science Reports, 2003. 48: p. 53-229.
55. Herrmann, J.M., *Destrucción de contaminantes orgánicos por fotocatalisis heterogénea*, in *Solar Safe Water*, M.A. Blesa and J. Galvez, Editors. 2005, Escuela de Posgrados UNSAM: Argentina.
56. Ireland, J.C., Klostermann, P., Rice, E.W., y Clark, R.M., *Inactivation of Escherichia coli by Titanium Dioxide Photocatalytic Oxidation*. Applied and Environmental Microbiology, 1993. 59: p. 1668-1670.
57. Fox, M.A., y Dulay, M.T., *Heterogeneous Photocatalysis*. Chem. Rev, 1993. 93: p. 341-357.
58. Sunada, K., Watanabe, T., Hashimoto, K., , *Studies on photokilling of bacteria on TiO₂ thin film*. Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry, 2003. 156: p. 227-233
59. Nadtochenko, V.A., Rincon, G., Stanca, S.E., Kiwi, J., *Dynamics of E. coli membrane cell peroxidation during TiO₂ photocatalysis studied by ATR-FTIR spectroscopy and AFM microscopy*. Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry, 2005. 169: p. 131-137.
60. Montgomery, D.C., Runger, G. C, *Applied Statistics and Probability for Engineers*. Tercera Edición, Editorial John Wiley & Sons. 2002.
61. Ramirez, J., Contreras, F., Gómez, C., *La fase estacionaria en la bacteria Escherichia coli*. Rev. Latinoam. Microbiol, 2005. 47: p. 92-101.
62. Makinoshima, H., Aizawa, S.-I., Hayashi, H., Miki, T., Nishimura, A., y Ishihama, A., *Growth phase-coupled alterations in cell structure and function of Escherichia coli cell populations at different stages during growth transition to stationary phase*. Mol. Microbiol., 2003. 43(269-279).
63. Cuny, C., Dukan, L., Fraysse, L., Ballesteros, M., y Dukan, S., *Investigation of the first events leading to loss of culturability during Escherichia coli starvation: Future non culturable bacteria form a subpopulation*. J. Bacteriol, 2005. 187: p. 2244-2248.
64. Cala, O.M., y Ruiz, A. A., *Evaluación de la producción de radicales hidroxilo por fotocatalizadores a base de TiO₂ bajo irradiación solar simulada en la degradación de orange II*. Trabajo de grado. Universidad Industrial de Santander, 2008.

65. Parker, J.A., y Darby, J. L., *Particle-associated coliform in secondary effluents: shielding from ultraviolet light disinfection*. *Water Environment Research*, 1995. 67: p. 1065-1075.
66. Nadtochenko, V., Denisov, N., Sarkisov, O., Gummy, D., Pulgarin, C., Kiwi, J., *Laser kinetic spectroscopy of the interfacial charge transfer between membrane cell walls of E. coli and TiO₂*. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 2006. 181: p. 401-407.