

**ANÁLISIS DE LA FOTODESINFECCIÓN DE AGUA CONTAMINADA CON
COLIFORMES MEDIANTE TiO_2 INMOVILIZADO SOBRE UN TEXTIL A ESCALA
LABORATORIO**

**LAURA JULIANA CUERVO ARIAS
SILVIA JULIANA NIÑO PARRA**

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

2019

**ANÁLISIS DE LA FOTODESINFECCIÓN DE AGUA CONTAMINADA CON
COLIFORMES MEDIANTE TiO_2 INMOVILIZADO SOBRE UN TEXTIL A ESCALA
LABORATORIO**

**LAURA JULIANA CUERVO ARIAS
SILVIA JULIANA NIÑO PARRA**

Trabajo de grado para optar el título de ingeniero químico

**Directora
Luz Marina Ballesteros Rueda
PhD. Electroquímica ciencia y tecnología**

**Codirector
Víctor Gabriel Baldovino Medrano
Profesor**

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

2019

AGRADECIMIENTOS

Al Centro de Investigación en Catálisis CICAT, por brindarnos la oportunidad de ser miembros del grupo y de desarrollar nuestro trabajo de grado en sus instalaciones. A nuestra directora Luz Marina Ballesteros y codirector Víctor Gabriel Baldovino, por el acompañamiento y apoyo recibido a lo largo del planteamiento, ejecución y finalización de la investigación.

De igual forma, agradecemos la colaboración recibida de la profesora Giovanna Rincón de la Escuela de Microbiología de la UIS y el microbiólogo Juan Diego Dovale, quienes nos orientaron en las primeras etapas del proyecto. También, a Stefanie Espinosa y Yuri, del Grupo de Investigación en Minerales, Biohidrometalurgia y Ambiente (GIMBA), a Diana Osorio y Jorge del Centro de Investigaciones en Enfermedades Tropicales (CINTROP), quienes nos permitieron el uso de algunos equipos necesarios para el desarrollo de nuestra investigación.

DEDICATORIA

Toda mi gratitud a Dios, a mi familia y amigos, quienes siempre confiaron en alcanzar juntos este logro. Gracias infinitas a mi hermana Karina por su apoyo constante y su gran ejemplo de fortaleza, a mi madre por todo su cariño y valioso apoyo en cada una de las etapas de este proceso, para ellas toda mi admiración. Gracias a ella que hoy desde el cielo celebra junto a mí la culminación de esta etapa que juntas luchamos y el comienzo de una nueva etapa con nuevas herramientas... gracias por ser el motor más grande que impulso cada esfuerzo en este trabajo. A mis amigos de la Pastoral UIS y a Fredy por llenar de luz y esperanza nuestra realidad como estudiantes. Gracias a mi compañera Silvia por su firmeza y decisión en el avance de cada etapa de nuestro proyecto, a los profesores y compañeros de la Escuela de Ingeniería Química que nos dejaron huella y nos acompañaron en el proceso hasta el fin.

TABLA DE CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCIÓN	15
1. OBJETIVOS	23
1.1 OBJETIVO GENERAL	23
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	23
2. DESCRIPCIÓN METODOLÓGICA	24
2.1 ACTIVIDADES PRELIMINARES	24
2.1.1 Identificación de contaminantes en el agua disponible para consumo.	24
2.1.2 Conservación de los microorganismos.	25
2.1.3 Preparación del inóculo.....	25
2.1.4 Estudio del comportamiento de crecimiento de los microorganismos.....	26
2.1.5 Inmovilización de TiO ₂ en los textiles.	27
2.2 FOTODESINFECCIÓN DEL AGUA CONTAMINADA CON COLIFORMES	28
2.2.1 Fotodesinfección de cada uno de los microorganismos.	28
2.2.2 Fotodesinfección simultánea de los microorganismos.	30
3. RESULTADOS.....	31
3.1 ACTIVIDADES PRELIMINARES	31
3.1.1 Identificación de contaminantes en el agua disponible para consumo.	31
3.1.2 Estudio del comportamiento microbiológico.....	31
3.2 FOTODESINFECCIÓN DEL AGUA CONTAMINADA CON COLIFORMES	33
3.2.1 Fotodesinfección de cada uno de los microorganismos.	34
3.2.2 Fotodesinfección simultánea de los microorganismos.	43
4. CONCLUSIONES	46
5. RECOMENDACIONES	47
BIBLIOGRAFÍA	48
ANEXOS	55

LISTA DE TABLAS

	Pág
Tabla 1. Análisis de resultados. Vereda Santa Rosa.	67

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Diagrama de las etapas secuenciales del proyecto	24
Figura 2. Reactores para las pruebas de desinfección con 49mL de agua destilada y 1mL de solución bacteriana. (a, b) Proceso fotocatalítico con textil inmovilizado. (c) Proceso SODIS. (d) Proceso en oscuridad con textil inmovilizado.	29
Figura 3. Curva de crecimiento <i>Enterobacter aerogenes</i>	32
Figura 4. Curva de crecimiento <i>Escherichia coli</i>	33
Figura 5. Influencia de la fase de crecimiento de <i>Enterobacter aerogenes</i> sobre la desinfección fotocatalítica usando un textil inmovilizado con TiO_2 y una potencia de irradiación de 250 W/m^2	36
Figura 6. Influencia de la fase de crecimiento de <i>Escherichia coli</i> sobre la desinfección fotocatalítica usando un textil inmovilizado con TiO_2 y una potencia de irradiación de 250 W/m^2	37
Figura 7. Fotodesinfección de <i>Enterobacter aerogenes</i> en su fase de crecimiento estacionaria F3, mediante el proceso de fotocatálisis, SODIS y oscuridad.	39
Figura 8. Fotodesinfección de <i>E. coli</i> en su fase de crecimiento estacionaria F3 mediante el proceso de fotocatálisis, fotolisis y oscuridad.	40
Figura 9. Efecto del tipo de bacteria en fase estacionaria, sobre el porcentaje de desinfección mediante fotocatálisis con TiO_2 inmovilizado en un textil a una potencia de irradiación de 250 W/m^2	42
Figura 10. Efecto de la relación de concentración inicial de ambos microorganismos en la desinfección simultánea de <i>Enterobacter aerogenes</i> y <i>E. coli</i> , usando un textil inmovilizado con TiO_2 y una potencia de irradiación de 250 W/m^2	44
Figura 11. Procedimiento para la preparación del inóculo.	56
Figura 14. Procedimiento para la realización de las curvas de crecimiento.	60

Figura 15. Proceso detallado de la inmovilización de textiles 3x3cm con TiO ₂	62
Figura 12. Diluciones seriadas.....	63
Figura 13. Siembra por técnica de microgota.	64
Figura 16. Procedimiento para llevar a cabo las pruebas de desinfección del agua contaminada con coliformes.	66
Figura 17. Fotodesinfección de Enterobacter aerogenes en su fase de crecimiento exponencial F1, mediante el proceso de fotocátalisis, SODIS y oscuridad.	68
Figura 18. Fotodesinfección de Enterobacter aerogenes en su transición de fase de crecimiento exponencial a estacionaria F2, mediante el proceso de fotocátalisis, SODIS y oscuridad.	69
Figura 19. Fotodesinfección de Enterobacter aerogenes en su fase de crecimiento estacionaria F4, mediante el proceso de fotocátalisis, SODIS y oscuridad.	70
Figura 20. Fotodesinfección de E. coli en su fase de crecimiento exponencial F1, mediante el proceso de fotocátalisis, SODIS y oscuridad.....	71
Figura 21. Fotodesinfección de E. coli en su fase de crecimiento estacionaria F2, mediante el proceso de fotocátalisis, SODIS y oscuridad.....	72
Figura 22. Fotodesinfección de Enterobacter aerogenes - E. coli en su relación R1, mediante el proceso de fotocátalisis, SODIS y oscuridad.....	73
Figura 23. Fotodesinfección de Enterobacter aerogenes - E. coli en su relación R2, mediante el proceso de fotocátalisis, SODIS y oscuridad.....	74
Figura 24. Fotodesinfección de Enterobacter aerogenes - E. coli en su relación R3, mediante el proceso de fotocátalisis, SODIS y oscuridad.....	74

LISTA DE ANEXOS

	Pág.
ANEXO A. Procedimiento para la preparación del inóculo	55
ANEXO B. Cálculos	57
ANEXO C. Procedimiento para la realización de la curva de crecimiento de los microorganismos.....	60
ANEXO D. Proceso de inmovilización de textiles con TiO ₂	61
ANEXO E. Procedimiento de diluciones seriadas y siembra por microgota	63
ANEXO F. Pruebas de fotodesinfección del agua contaminada con coliformes ..	65
ANEXO G. Informe de resultados. Análisis de agua natural, vereda Santa Rosa, Lebrija.	67
ANEXO H. Curvas de fotodesinfección de los microorganismos Enterobacter aerogenes y E. coli	68

RESUMEN

TÍTULO: ANÁLISIS DE LA FOTODESINFECCIÓN DE AGUA CONTAMINADA CON COLIFORMES MEDIANTE TiO_2 INMOVILIZADO SOBRE UN TEXTIL A ESCALA LABORATORIO*

AUTOR: LAURA JULIANA CUERVO ARIAS Y SILVIA JULIANA NIÑO PARRA**

PALABRAS CLAVES: FOTOCATÁLISIS, E. COLI, ENTEROBACTER AEROGENES, TIEMPO DE DESINFECCIÓN

DESCRIPCIÓN:

En el sector rural del municipio de Lebrija, más del 50% de sus habitantes no cuentan con un sistema de agua potable, lo que pone en riesgo su salud por recurrir a fuentes hídricas contaminadas con microorganismos patógenos, como los coliformes totales. El Centro de Investigación en Catálisis (CICAT) reconoce que esta situación requiere de mecanismos de desinfección efectivos y fáciles de aplicar en sectores con poca o ninguna infraestructura de potabilización. Por ello, esta investigación evalúa la eficiencia de la fotocatalisis heterogénea en la desinfección de agua contaminada con *E. coli* y *Enterobacter aerogenes*, teniendo en cuenta su fase de crecimiento y la relación de concentración inicial de ambas bacterias más resistentes al estrés oxidativo, utilizando TiO_2 P-25 Degussa inmovilizado en textiles de algodón de 3x3cm, en reactores de 50mL y radiación solar simulada mediante el Suntest CPC+ATLAS. Los resultados obtenidos demuestran que la fase de crecimiento más resistente al estrés oxidativo es la fase estacionaria en ambas bacterias, en la cual se alcanzó la desinfección completa en un tiempo de 2h para *E. coli* y 3h para *Enterobacter aerogenes*, sin reactivación bacteriana 24h después de finalizada la reacción; además, se logró la desinfección simultánea y sin reactivación de las bacterias en cada relación de concentración en un tiempo de 2h. Finalmente, la fase de crecimiento y el tipo de bacteria tienen un efecto sobre el tiempo de desinfección, mientras que las relaciones de concentración no afectan este tiempo. De esto se concluye que el proceso de fotocatalisis es eficiente en la remoción simultánea de *Escherichia coli* y *Enterobacter aerogenes*.

* Trabajo de grado

** Facultad de Ingenierías Fisicoquímicas. Escuela de Ingeniería Química. Directora: Luz Marina Ballesteros Rueda, PhD. Electroquímica ciencia y tecnología. Codirector: Víctor Gabriel Baldovino Medrano. Profesor.

ABSTRACT

TITLE: ANALYSIS OF PHOTODESINFECTION OF WATER CONTAMINATED WITH COLIFORMES THROUGH TiO_2 IMMOBILIZED ON A TEXTILE TO LABORATORY SCALE*

AUTHOR: LAURA JULIANA CUERVO ARIAS Y SILVIA JULIANA NIÑO PARRA**.

KEYWORDS: PHOTOCATALYSIS, E. COLI, ENTEROBACTER AEROGENES, DISINFECTION TIME

DESCRIPTION:

In the rural sector of the municipality of Lebrija, more than 50% of its inhabitants do not have a potable water system, which puts their health at risk by resorting to water sources contaminated with pathogenic microorganisms, such as total coliforms. The Catalysis Research Center (CICAT) recognizes that this situation requires effective and easy-to-apply disinfection mechanisms in sectors with little or no water treatment infrastructure. Therefore, this research evaluates the efficiency of heterogeneous photocatalysis in the disinfection of water contaminated with *E. coli* and *Enterobacter aerogenes*, taking into account its growth phase and the initial concentration ratio of bacteria more resistant to oxidative stress, using TiO_2 P-25 Degussa immobilized in 3x3cm cotton textiles, in 50mL reactors and simulated solar radiation using the Suntest CPC + ATLAS. The results detected that the growth phase most resistant to oxidative stress is the stationary phase in both bacteria, in which complete disinfection is controlled in a time of 2h for *E. coli* and 3h for *Enterobacter aerogenes*, without bacterial reactivation 24h after the reaction is over; In addition, the simultaneous disinfection and without reactivation of the bacteria in each concentration ratio was achieved in a time of 2h. Finally, the growth phase and the type of bacteria have an effect on disinfection time, while concentration ratios do not affect this time. This concludes that the photocatalysis process is efficient in the simultaneous removal of *Escherichia coli* and *Enterobacter aerogenes*.

* Bachelor Thesis

** Facultad de Ingenierías Fisicoquímicas. Escuela de Ingeniería Química. Director: Luz Marina Ballesteros Rueda, PhD. Electroquímica ciencia y tecnología.

INTRODUCCIÓN

En Colombia, el Ministerio de Salud¹ en el 2015 estimó que, en cuanto a la calidad del agua suministrada a la población nacional (48.2 millones de habitantes²), el 12.7% de los habitantes utilizaron agua baja en tratamiento o protección y el 6.0% se sirvieron de agua cruda. Para el mismo año, en el departamento de Santander, 10.2% de la población utilizó agua de bajo o nulo tratamiento y el 0.6% agua cruda o tomada directamente de la fuente.

A pesar del bajo porcentaje de utilización de agua cruda reportado para este departamento, en municipios como Lebrija (con una población total de 39398 habitantes³), las cifras del sistema de agua potable muestran una cobertura total cercana al 68% que corresponde al 98% en el sector urbano y 41% en el rural, cifra muy por debajo del promedio nacional. Debido a lo anterior, las personas del sector rural se ven obligadas a tomar el agua principalmente de aljibes, nacientes y quebradas cercanas, y a conducirla a través de ductos y mangueras hasta sus viviendas⁴. El problema de cobertura y el alto impacto que existe sobre las corrientes hídricas de Lebrija provocado por la recepción de aguas residuales domésticas e industriales del Área Metropolitana de Bucaramanga y otros municipios menores del

¹ MINISTERIO DE SALUD Y PROTECCIÓN SOCIAL. INSTITUCIÓN DE SALUD. Estado de la vigilancia de la calidad del agua para consumo humano (V informe). Bogotá, D.C, 2015. p. 5-170.

² DANE. Estimaciones de población 1985 - 2005 y proyecciones de población 2005 - 2020 total departamental por área. [en línea]. DANE, 2005 [Citado 15 sep, 2018]. Disponible en: https://www.dane.gov.co/files/.../poblacion/...20/Municipal_area_1985-2020.xls.

³ DANE. Colombia. Proyecciones de población municipales por área. [en línea]. DANE, 2005 [Citado 15 sep, 2018]. Disponible en: https://www.dane.gov.co/files/.../poblacion/...20/ProyeccionMunicipios2005_2020.xls.

⁴ LEBRIJA, CONCEJO MUNICIPAL DE LEBRIJA. Acuerdo N.º 009. (29, mayo, 2016). Por el cual se Adopta el plan de desarrollo del Municipio de Lebrija, para el periodo 2016 - 2019 y se dictan otras disposiciones. Plan de Desarrollo 2016 - 2019. Ambiente, Vida y Desarrollo. Lebrija, 2, junio, 2016.

área de la jurisdicción de la Corporación Autónoma Regional para la Defensa de la Meseta de Bucaramanga (CDMB)⁵, representan riesgos de contaminación y graves afectaciones a la salud de las familias de esta población⁶.

La calidad del agua potable en el país se rige por la Resolución 2115 de 2007 del Ministerio de la Protección Social y Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial⁷, donde se especifican los valores límites de contaminantes inorgánicos y se presenta la concentración de coliformes totales y *Escherichia coli* (*E. coli*) como indicadores de contaminación microbiológica. En este sentido, el agua potable es aquella que, por cumplir las características físicas, químicas y microbiológicas, en las condiciones señaladas en el decreto 1575 de 2007 y demás normas que la reglamenten, es apta para consumo humano⁸.

Los coliformes totales y *E. coli* son las bacterias más utilizadas como indicador de la calidad de agua potable, debido a que se encuentran con mayor frecuencia y permanecen por más tiempo en el agua como contaminantes microbiológicos, además de comportarse como patógenos en los sistemas de desinfección^{9,10}. Los coliformes totales son bacilos gram negativos, anaerobios facultativos, no esporulados y fermentadores de lactosa a 35°C; en los cuales se clasifican en cuatro

⁵ CORPORACIÓN AUTÓNOMA REGIONAL PARA LA DEFENSA DE LA MESETA DE BUCARAMANGA. Informe Estado de los Recursos Naturales. Bucaramanga: 2018. p. 6-38

⁶ LEBRIJA, CONCEJO MUNICIPAL DE LEBRIJA. Op. Cit.

⁷ COLOMBIA, MINISTERIO DE LA PROTECCIÓN SOCIAL MINISTERIO DE AMBIENTE, VIVIENDA Y DESARROLLO TERRITORIAL. Resolución N.º 2115. (22, junio, 2007). Por medio de la cual se señalan características, instrumentos básicos y frecuencias del sistema de control y vigilancia para la calidad del agua para consumo humano. Bogotá.

⁸ COLOMBIA, MINISTERIO DE LA PROTECCIÓN SOCIAL. Decreto Número 1575. (9, mayo, 2007). Por el cual se establece el Sistema para la Protección y Control de la Calidad del Agua para Consumo Humano. Bogotá

⁹ Remoción de agentes patógenos.

¹⁰ DÍAZ DELGADO, Carlos, *et al.* Agua potable para comunidades rurales, reúso y tratamientos avanzados de aguas residuales domésticas. Capítulo 20. Indicadores de contaminación fecal en aguas. México D.F: RIPDA-CYTED, 2003. p. 224 - 229.

géneros: *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter* y *Citrobacter*¹¹, siendo las bacterias más comunes entre ellos *E. coli* y *Enterobacter aerogenes*, según Mora et, al.¹². Estos últimos tres géneros provienen generalmente del ambiente (fuentes de agua, vegetación y suelos) y en pocas proporciones del tracto intestinal de los animales de sangre caliente, y su presencia en corrientes de agua tratada sugiere fallas en la eficacia del tratamiento y la integridad del sistema de distribución. Por otro lado, la bacteria *E. coli*, se caracteriza por ser estrictamente intestinal y ser un indicador de la presencia de contaminación fecal en el suministro de ésta.¹³

A pesar de que los métodos convencionales (biológicos, químicos y físicos) para el tratamiento de agua potable son de bajo costo y de fácil aplicación, presentan desventajas y limitaciones en la eficiencia de la remoción de contaminantes¹⁴. En métodos químicos como la cloración, se presentan reacciones con especies orgánicas en donde se forman subproductos de desinfección (DBPs por sus siglas en inglés: Disinfection by-products) como los trihalometanos, los cuales implican riesgos mutagénicos y cancerígenos¹⁵. Por otro lado, métodos físicos como el SODIS (Solar Disinfection), poseen limitaciones en los tiempos de radiación (6h en promedio), volumen de agua tratada usando botellas PET (1,5 - 2L) ¹⁶y la reactivación de los microorganismos (MOs) después de la exposición a la

¹¹ ROBERT PULLÉS, Marlen. Microorganismos indicadores de la calidad del agua potable en cuba. En: Revista CENIC. Ciencias Biológicas. 2014. vol. 45, no. 1, p. 25-36

¹² MORA, Darner, et al. El grupo coliforme: importancia como indicador sanitario en los abastecimientos de aguas de consumo humano. En: Tecnología en marcha. 1990. vol. 10, no. 1, p. 68-77.

¹³ ROBERT PULLÉS, Marlen. Op. Cit.

¹⁴ LOURDES MARIANI, Melisa. Degradación de mezclas de contaminantes en agua utilizando el proceso avanzado de oxidación que emplea la combinación de radiación ultravioleta y peróxido de hidrógeno. Tesis Doctora en Tecnología Química. Argentina: Universidad Nacional del Litoral. Facultad de Ingeniería Química, 2014.

¹⁵ ZHANG, Beibei, et al. Evaluation of DBPs formation from SMPs exposed to chlorine, chloramine and ozone. En: Journal of Water and Health. Abr, 2017. vol. 15, no. 2, p. 185-195

¹⁶ POLO LOPEZ, M.I, et al. Elimination of water pathogens with solar radiation using an automated sequential batch CPC reactor. En: Journal of Hazardous Materials. Nov, 2011. vol. 196. p. 16-21

radiación^{17 18}. Esto ha impulsado el desarrollo de nuevas metodologías de descontaminación¹⁹ que tengan en cuenta factores fundamentales como la naturaleza y propiedades fisicoquímicas del agua, la factibilidad de reutilización, la economía, la eficiencia de los procesos y su rango de aplicación²⁰.

Entre estas metodologías se encuentran los Procesos Avanzados de Oxidación (PAOs), los cuales han sido utilizados con éxito en la remoción de numerosos contaminantes y se encuentran incluidos dentro de los procesos de oxidación química más efectivos para el tratamiento de agua²¹ y procesos de desinfección²²²³. Estas tecnologías se basan en procesos fisicoquímicos capaces de generar la transformación química de la fase del contaminante y en ocasiones llegar a la mineralización completa (CO₂, H₂O e iones o ácidos inorgánicos), además de lograr el mejoramiento de las propiedades organolépticas del agua tratada y la eliminación de efectos sobre la salud de desinfectantes como el cloro. Unos de los PAOs que han sido estudiados recientemente y que han demostrado su efectividad en la desactivación de los MOs, son la fotocatálisis homogénea y heterogénea. Estos procesos se caracterizan por la utilización conjunta de la radiación ultravioleta y un fotocatalizador, inmovilizado en diferentes sustratos o suspendido en solución

¹⁷ GIRALDO, Sonia Azucena; RINCÓN, Angela Guiovana y PULGARIN, Cesar. Desinfección de agua por fotocatálisis. Aspectos Básicos. En: Solar Safe Water. p. 203-226

¹⁸ ROJAS HIGUERA, Naydú, *et al.* Evaluación de tres métodos para la inactivación de coliformes y *Escherichia coli* presentes en agua residual doméstica, empleada para riego. En: Universitas Scientiarum. 2010. vol. 15, no. 2, p. 139 -149

¹⁹ Término que hace referencia a la remoción general de contaminantes: agentes patógenos, productos químicos, basura, entre otros.

²⁰ FORERO, Jorge Enrique; ORTIZ, Olga Patricia y RIOS, Fabian. Aplicación de procesos de oxidación avanzada como tratamiento de fenol en aguas residuales industriales de refinería. En: Ciencia, Tecnología y Futuro. Jun, 2005. vol. 3, no. 1, p. 97-109.

²¹ ACEVEDO ZABALETA, Jose Daniel. Proceso fotocatalítico como alternativa para la potabilización de agua. Trabajo de investigación para optar al título de Magíster en Ingeniería. Medellín: Universidad EAFIT. Escuela de Ingeniería. Departamento de Ingeniería de Procesos, 2012

²² LOURDES MARIANI, Melisa. Op. Cit.

²³ DOMÈNECH, Xavier; JARDIM, Wilson F. y LITTER, Marta I. Procesos avanzados de oxidación para la eliminación de contaminantes. En: ResearchGate. Ene, 2004

acuosa, para lograr la generación de especies transitorias poderosas que poseen alta efectividad para la oxidación de contaminantes.

En la fotocátalisis heterogénea se presenta la absorción directa o indirecta de energía radiante (visible o UV) por el fotocatalizador heterogéneo (semiconductor) y las reacciones de destrucción o de remoción de los contaminantes tienen lugar en la región interfacial entre el sólido excitado y la solución²⁴. En estas reacciones intervienen las especies reactivas oxidantes (ROS por su siglas en inglés): radicales hidroxilos ($\text{OH}\cdot$), radicales superóxidos ($\text{O}_2\cdot^-$) y peróxido de hidrógeno (H_2O_2), componentes activos que tiene un efecto bactericida, debido a que generan un daño parcial sobre la permeabilidad de la membrana externa, seguido por un daño a nivel de pared y en la membrana citoplasmática causando lisis²⁵ que impide a los MOs llevar a cabo sus funciones vitales y por lo tanto les causan la muerte ^{26 27 28}. Sin embargo, en el proceso de fotocátalisis se puede presentar el fenómeno de recombinación de las parejas electrón-hueco, responsable de impedir las reacciones que involucran la formación de ROS²⁹.

Algunos materiales económicamente asequibles con propiedades idóneas para actuar como fotocatalizadores son ZnO, CdS, óxidos de hierro, WO_3 , ZnS y TiO_2 . Este último es uno de los más estudiados debido a que presenta una elevada

²⁴ *Ibíd.*

²⁵ Proceso de ruptura de la membrana celular.

²⁶ ROJAS HIGUERA, Naydú, *et al.*

Op. Cit.²⁷ VELASCO, Edwing; MORENO, Andrea L. y GIRALDO, Sonia A. Efecto de la presencia de sales inorgánicas sobre la inactivación fotocatalítica de *E. coli* en agua. En: Ingeniería y Ciencia. Mar, 2013. vol. 9, no. 17, p.193-208

²⁸ MANESS, Pin-Ching, *et al.* Bactericidal Activity of Photocatalytic TiO_2 Reaction: toward an Understanding of Its Killing Mechanism. En: Applied and Environmental Microbiology. Sep, 1999. vol. 65, no. 9, p. 4094-4098

²⁹ DUARTE MANTILLA, María Mercedes y FERNÁNDEZ CRISTANCHO, Eyleen Vanessa. Evaluación de la efectividad del TiO_2 con Ag en la Fotodesinfección de agua utilizando un colector parabólico compuesto (CPC). Trabajo de grado Ingeniero Químico. Bucaramanga: Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ingenierías Fisicoquímicas. Escuela de Ingeniería Química, 2012

estabilidad química siendo apto para trabajar en un amplio rango de pH³⁰. Además, presenta resistencia a la corrosión química y a la fotocorrosión. Cabe resaltar que este material es activo en la región ultravioleta cercana (UV-A) puesto que su salto de banda (band gap, en inglés), se encuentra entre 3.02-3.23 eV, por este motivo el TiO₂ puede aprovechar cerca de un 5% de la intensidad del espectro de radiación solar ($\lambda < 400\text{nm}$) y así producir transiciones electrónicas por absorción de radiación³¹ para la generación de pares electrón-hueco que posteriormente se recombinan en procesos de transferencia de carga interfacial (oxidativos o reductivos) en las reacciones de fotodesinfección.

Diferentes estudios han reportado la desinfección de MOs mediante la utilización de TiO₂ en suspensión (fotocatálisis homogénea)^{32 33 34}. Sin embargo, estudios comparativos de desinfección de MOs mediante la utilización de TiO₂ suspendido e inmovilizado, confirman una mayor tasa de desinfección para el TiO₂ inmovilizado³⁵³⁶. Además, se reconocen desventajas en el manejo de suspensiones, aglomeración y segregación del catalizador, así como la necesidad de incorporar una etapa adicional de separación para la limpieza y recuperación del catalizador cuando se

³⁰ DOMÈNECH, Xavier; JARDIM, Wilson F. y LITTER, Marta I. Op. Cit.

³¹ ACEVEDO ZABALETA, Jose Daniel. Op. Cit.

³² MORENO, Andrea; BALLESTEROS, Luz Marina y CASTRO LÓPEZ, Camilo. Influence of process variables on the kinetic parameters of a Langmuir-Hinshelwood expression for E.coli inactivation during the photocatalytic disinfection of water. En: Separation Science and Technology. Oct 2019

³³ RINCÓN, Angela Guiovana y PULGARIN, Cesar. Effect of pH, inorganic ions, organic matter and H₂O₂ on *E. coli* K12 photocatalytic inactivation by TiO₂. Implications in solar water disinfection. En: Applied Catalysis B: Environmental. Abr, 2004. vol. 51, p. 283 - 302

³⁴ RINCÓN, Angela Guiovana y PULGARIN, Cesar. Solar Photolytic and Photocatalytic Disinfection of Water at Laboratory and Field Scale. Effect of the Chemical Composition of Water and Study of the Postirradiation Events. En: Journal of Solar Energy Engineering. Feb, 2007. vol. 129, p. 100-110.

³⁵ CAMARGO HOLGUÍN, Andrea Stephanie y ORÓSTEGUI CALDERÓN, Daniel Fernando. Fotodesinfección de agua contaminada mediante TiO₂ inmovilizado sobre fibras textiles en un reactor CPC. Trabajo de grado Ingeniero Químico. Bucaramanga: Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ingenierías Fisicoquímicas. Escuela de Ingeniería Química, 2017

³⁶ CAI, Yanling; STROMME, Maria y WELCH, Ken. Disinfection Kinetics and Contribution of Reactive Oxygen Species When Eliminating Bacteria with TiO₂ Induced Photocatalysis. En: Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology. 2014. vol. 5, no. 3, p. 200-209

utiliza en suspensión^{37 38}. Esto ha promovido el estudio de la fotocátalisis heterogénea y el desarrollo de técnicas para la fijación del TiO₂ como el método sol-gel, sol-gel combinado e inmersión *dip coating*³⁹, además de la utilización de sustratos como vidrio⁴⁰, cuarzo y metales⁴¹ para soportar el TiO₂. De esta manera, se ha reportado igualmente la desinfección total y sin reactivación de coliformes totales utilizando TiO₂ inmovilizado en láminas de vidrio⁴².

En la última década, el Centro de Investigación en Catálisis (CICAT), de la Universidad Industrial de Santander (UIS), ha estudiado la eficiencia del proceso de fotocátalisis heterogénea en la desinfección de agua destilada con carga orgánica simulada, utilizando como contaminante la cepa *E. coli* ATCC 11229 y como catalizador, TiO₂ P-25 Degussa. Los resultados obtenidos por el CICAT en el año 2017 confirman que las pruebas con TiO₂ inmovilizado sobre fibras textiles de algodón presentan una mayor disminución de la concentración bacteriana que para el TiO₂ suspendido en los primeros minutos de reacción, además de alcanzar la descontaminación de mayores volúmenes de agua, esto debido a la posibilidad de reusar los textiles en diferentes reacciones de desinfección⁴³. En ese mismo año, se reportó que la concentración óptima de catalizador en la suspensión, que impide la lixiviación en la fotodesinfección, es de 0,4 gTiO₂/LH₂O⁴⁴.

³⁷ Ibíd.

³⁸ ACEVEDO ZABALETA, Jose Daniel. Op. Cit.

³⁹ Ibíd

⁴⁰ ROJAS HIGUERA, Naydú, *et al.* Op. Cit.

⁴¹ ACEVEDO ZABALETA, Jose Daniel. Op. Cit.

⁴² bíd

⁴³ AMARGO HOLGUÍN, Andrea Stephanie y ORÓSTEGUI CALDERÓN, Daniel Fernando. Op. Cit.

⁴⁴ CABALLERO ESPARZA, Mónica Patricia y MARTÍNEZ RUGELES, Deisy Milena. Incremento de la vida útil de fibras textiles modificadas con TiO₂ en la desinfección de aguas contaminadas con *E. coli* en un reactor captador parabólico compuesto. Trabajo de grado Ingeniero Químico. Bucaramanga: Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ingenierías Fisicoquímicas. Escuela de Ingeniería Química, 2017

En la práctica, la aplicación de los métodos de tratamiento de agua debe tener en cuenta fundamentalmente la naturaleza y las propiedades fisicoquímicas de las aguas o efluentes a tratar⁴⁵. Así mismo, la sensibilidad y resistencia de las bacterias al estrés oxidativo depende de la naturaleza del agua⁴⁶ y en gran medida de las características morfológicas y estructurales que poseen los MOs en sus diferentes fases de crecimiento⁴⁷. En este sentido, desde el CICAT se reconoce la necesidad e importancia de continuar con el estudio detallado de los efectos producidos por otros agentes contaminantes en la fotodesinfección. Por tal motivo, en el presente proyecto se desea conocer ¿cuál es el efecto en el porcentaje de desinfección de la presencia simultánea de MOs que se encuentran en su fase de crecimiento más resistente al estrés oxidativo y que están presentes en el agua de consumo de un sector rural de Lebrija, Santander, utilizando un proceso de fotocátalisis heterogénea con TiO₂ inmovilizado en un textil?

⁴⁵ DOMÈNECH, Xavier; JARDIM, Wilson F. y LITTER, Marta I. Op. Cit.

⁴⁶ RINCÓN, Angela Guiovana y PULGARIN, Cesar. Op. Cit.

⁴⁷ MORENO, Andrea; BALLESTEROS, Luz Marina y CASTRO LÓPEZ, Camilo. Op. Cit.

1. OBJETIVOS

1.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de la presencia de coliformes en el agua sobre el proceso de fotodesinfección mediante el uso de TiO_2 inmovilizado en un textil a escala laboratorio

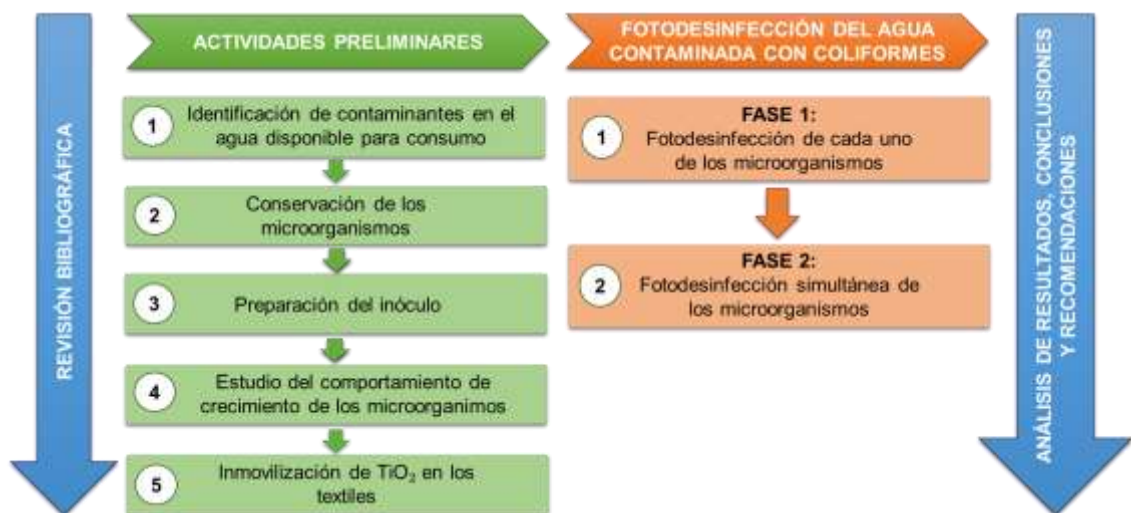
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Determinar la fase de crecimiento más resistente de cada uno de los microorganismos al estrés oxidativo
2. Determinar el efecto de la relación de concentraciones de los microorganismos presentes en el agua contaminada sobre el proceso de fotodesinfección con TiO_2 inmovilizado sobre textiles

2. DESCRIPCIÓN METODOLÓGICA

El proyecto de investigación se desarrolló en dos fases metodológicas: Fotodesinfección de cada uno de los MOs y Fotodesinfección simultánea de los MOs, las cuales dan cumplimiento a los objetivos planteados y son ejecutadas mediante la realización de unas actividades preliminares y una revisión de la literatura. A continuación, en la Figura 1 se presenta la descripción las actividades.

Figura 1. Diagrama de las etapas secuenciales del proyecto



2.1 ACTIVIDADES PRELIMINARES

2.1.1 Identificación de contaminantes en el agua disponible para consumo. Se determinó el punto geográfico específico para la toma de muestra de agua mediante el reconocimiento de la estructura de captación y distribución en las veredas del municipio de Lebrija, teniendo en cuenta la información suministrada por la Secretaria de Salud y sus habitantes. De esta forma, se realizó un análisis de

parámetros fisicoquímicos y microbiológicos establecidos por la Resolución 2115⁴⁸, para una muestra de agua proveniente del punto seleccionado y se identificaron los MOs que se utilizaron en las pruebas del proyecto de investigación.

2.1.2 Conservación de los microorganismos. Seleccionados los MOs, se realizó la conservación de las cepas microbiológicas (otorgadas por la Escuela de Microbiología de la UIS). Este proceso inició con el aislamiento de las colonias de la cepa inicial en agar Plate Count (Oxoid) y su incubación por 18h a 37°C en la incubadora (Blamis Heidolph). Después, se inocularon las nuevas colonias en el medio cultivo Luria Bertani (LB), compuesto por 10g/L triptona (Oxoid), 10g/L NaCl (Merck) y 5g/L extracto de levadura (Oxoid), y se incubaron por 18h a 37°C. Por último, se depositaron en tubos Eppendorf volúmenes iguales del medio de cultivo inoculado y de glicerol al 50% v/v, y se preservaron a -70°C en el ultracongelador (Thermo Scientific 88000 Series) ubicado en el Centro de Investigación de Enfermedades Tropicales, CINTROP.

2.1.3 Preparación del inóculo. Para establecer la concentración inicial de bacterias en las pruebas de las fases de fotodesinfección de los microorganismos, primero se realizó la reactivación de las bacterias utilizando el volumen de uno de los tubos Eppendorf conservados. Éste se sembró por estría en agar Plate Count y se llevó a incubación por 18h a 37°C. Posteriormente, las colonias de la bacteria reactivada en el agar Plate Count se inocularon en un volumen de 10mL de solución salina estéril, y se agitó con un vórtex (V1 plus BOECO). Finalmente, se realizó la medición por triplicado de la densidad óptica (absorbancia) de esta última solución utilizando un espectrofotómetro (Hewlett-Packard modelo 8453) operado a una longitud de

⁴⁸ COLOMBIA, MINISTERIO DE LA PROTECCIÓN SOCIAL MINISTERIO DE AMBIENTE, VIVIENDA Y DESARROLLO TERRITORIAL Op. Cit.

onda de 625nm⁴⁹. En este último paso se debe alcanzar un valor de absorbancia de 0.13 ABS, el cual representa la densidad óptica estándar del patrón 0.5 de la escala de Mc Farland y equivale a una concentración bacteriana de 10⁸ UFC/mL ⁵⁰, concentración que se estableció como la inicial para cada una de las pruebas de fotodesinfección. Una vez alcanzado el valor deseado de absorbancia, se le denominó a esta solución pre-inóculo. Por último, para obtener el inóculo de las pruebas, se vertió 1mL del pre-inóculo en 9mL de medio de cultivo LB estéril y estos 10mL se llevaron a incubación por 18h a 37°C y 150rpm. Este procedimiento se puede encontrar en detalle en el Anexo A.

2.1.4 Estudio del comportamiento de crecimiento de los microorganismos.

Para estudiar el comportamiento de crecimiento de los MOs se realizó una curva de crecimiento de las bacterias seleccionadas como representantes de los coliformes totales^{51 52}. Este procedimiento comenzó tomando 10mL del inóculo, los cuales se vertieron en 90mL de medio de cultivo LB estéril; a partir de ese momento inició el tiempo de crecimiento del MO a estudiar y se extendió hasta observar una estabilización de la solución bacteriana.

Con muestras de 100µL de medio de cultivo LB inoculado se realizaron diluciones seriadas en tubos Eppendorf con 900µL de solución salina estéril y se sembraron en agar Plate Count por la técnica de microgota; es decir, de cada tubo Eppendorf se sembraron 3 gotas de 10µL y se incubaron a 37°C por 18 a 24h. Finalmente, se realizó un conteo de las colonias bacterianas, se registró, se calculó la cantidad de UFC/mL, como se puede observar en el ANEXO B1, y se graficaron los resultados

⁴⁹ WIEGAND, Irith; HILPERT, Kai y HANCOCK, Robert E W. Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances. En: Nature Protocols. 2008. vol.3, no.2, p.163 - 175

⁵⁰ UNIVERSIDAD DE ANTIOQUIA, Edimeco. Apéndice 2: Medios, reactivos y control de calidad. En: Medicina & Laboratorio. 2009. vol. 15, no. 11-12

⁵¹ ROBERT PULLÉS, Marlen. Op. Cit.

⁵² MORA, Darner, *et al.* Op. Cit.

en relación de UFC/mL, respecto al tiempo de crecimiento de los MOs. El procedimiento en detalle se encuentra en el ANEXO C.

2.1.5 Inmovilización de TiO_2 en los textiles. La inmovilización del TiO_2 en textiles de algodón de 3x3cm se realizó siguiendo el procedimiento de Caballero y Martínez ⁵³, en el que se estableció la concentración óptima de TiO_2 en suspensión, las etapas del proceso de inmovilización, el tiempo de inmersión y la relación entre el volumen de suspensión de TiO_2 y el área de los textiles.

Inicialmente, se estableció la cantidad de textiles teniendo en cuenta que estos se debían usar una única vez. Posteriormente, cada textil se pesó por triplicado en la balanza (Pioneer, OHAUS CORP, legibilidad de 0.0001g) y se lavó en una solución 0.2M de NaOH para retirar los aditivos utilizados en la fabricación de los textiles que pueden afectar la inmovilización. Este lavado se realizó tres veces durante dos minutos, y, al finalizar los textiles se enjuagaron con abundante agua destilada para retirar el NaOH sobrante, se secaron en el horno (Paffor 40X) a 100°C durante 1h y se pesaron nuevamente.

Por otro lado, la suspensión de TiO_2 en agua destilada se preparó con base en la relación establecida por Caballero y Martinez ⁵⁴, quienes inmovilizaron dos textiles de 0.14 m² en 20L de suspensión 0.4g de TiO_2 /L, de lo cual resulta que por cada textil de 3x3cm (9x10⁻⁴ m²) se requiere un volumen de 65mL. La suspensión de TiO_2 , se homogeneizó en el Ultra Turrax (IKA T25 Digital) por 30 minutos a 4000 rpm, se midió y reguló el pH a un valor de 3 en el medidor de pH (Hanna HI 5522) adicionando una solución de ácido clorhídrico fumante (Merck) al 13% en peso. Los cálculos de la solución de ácido preparada se encuentran en el Anexo B2.

⁵³ CABALLERO ESPARZA, Mónica Patricia y MARTÍNEZ RUGELES, Deisy Milena. Op. Cit.

⁵⁴ Ibíd.

Alcanzado el pH de 3 en la suspensión, se realizó la inmersión de los textiles en una pecera de 21x21x15cm por 1h en agitación y con fotoactivación (usando una lámpara de luz negra a 20W), lo que permite aumentar la fuerza de adhesión entre el TiO₂ y el textil ⁵⁵. Luego, se secaron los textiles a 100 °C durante 1h, se sometieron a choque térmico por 10min a 120°C en el horno y se les realizó un baño ultrasónico (Ultrasonic Cleaner Elma E120H) durante 15 min con el fin de retirar las partículas de TiO₂ débilmente adheridas. Luego, se reajustó el pH de la suspensión de TiO₂ utilizado y se repitió el procedimiento de inmersión con fotoactivación, secado, choque térmico y ultrasonido en las mismas condiciones descritas anteriormente. Finalmente, se secaron los textiles al aire libre y se pesaron por triplicado para conocer el peso de TiO₂ adherido en cada uno de ellos. La inmovilización se puede revisar en detalle en el Anexo D.

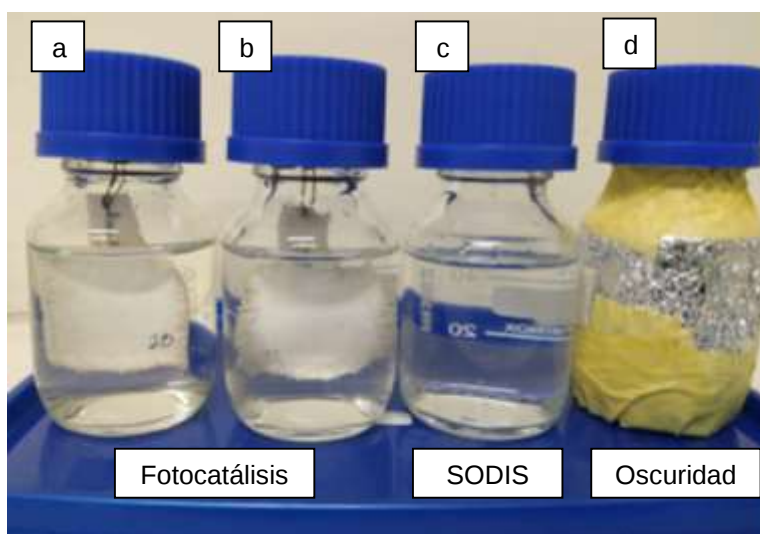
2.2 FOTODESINFECCIÓN DEL AGUA CONTAMINADA CON COLIFORMES

2.2.1 Fotodesinfección de cada uno de los microorganismos. La variable en estas pruebas fue la fase de crecimiento de cada MO. Esta variación se realizó con el fin de conocer la fase más resistente al estrés oxidativo generado por el proceso fotocatalítico. Cada fase de crecimiento se evaluó de forma individual en una prueba que se llevó a cabo en cuatro reactores (frascos de borosilicato de 50mL) dentro de un simulador de radiación solar SUNTEST (CPC + ATLAS) ubicado en el laboratorio de fotocátalisis del CICAT y en el cual se llevó a cabo las reacciones de oxidoreducción. La configuración de los reactores se puede observar en la Figura 2.

⁵⁵ VELASCO ROZO, Edwing Alexander. Estudio de la inmovilización de TiO₂ en poliéster funcionalizado para el desarrollo de textiles fotobactericidas. Trabajo de investigación para optar al título de Magíster en Ingeniería Química. Bucaramanga: Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ingenierías Fisicoquímicas. Escuela de Ingeniería Química, 2014

El primer paso consistió en la preparación de 5mL de inóculo para añadirlos en 45mL de medio de cultivo LB estéril, con el objetivo de dar inicio al tiempo de crecimiento y obtener la solución bacteriana del MO en las fases a evaluar. Para preparar esta solución bacteriana, se tomó una muestra del medio de cultivo inoculado en el tiempo correspondiente a cada fase, 4 volúmenes de 1mL en 4 tubos Eppendorf, los cuales se centrifugaron (Labnet Prism Microcentrifuge) a 3100rpm durante 15 min para formar un pellet de la bacteria. Después, se retiró el sobrenadante de cada tubo, se añadió 1mL de solución salina estéril y se agitó en el vortex para homogeneizar. Estos cuatro pasos se repitieron una vez más para obtener 1mL de solución bacteriana que se inoculó en los 49mL de agua destilada en cada reactor.

Figura 2. Reactores para las pruebas de desinfección con 49mL de agua destilada y 1mL de solución bacteriana. (a, b) Proceso fotocatalítico con textil inmovilizado. (c) Proceso SODIS. (d) Proceso en oscuridad con textil inmovilizado.



Inmediatamente después de hacer la inoculación y el montaje de los 4 reactores se realizaron 10 tomas durante en el tiempo que se dio la reacción para cada bacteria.

Adicionalmente, y como control de la eficiencia del proceso, finalizado el tiempo de reacción se tomó una muestra de 1mL de cada reactor en tubos Eppendorf, se cubrió con papel aluminio para simular la oscuridad, y se incubó por 24h a 37°C y 150rpm. Con este volumen se realizó la última toma muestra. Finalmente, cada toma se sembró por triplicado mediante la técnica de microgota (descrita en el Anexo E) en cajas de Petri con agar Plate Count, se incubó por 18 a 24h, para luego realizar el conteo de las colonias bacterianas, registrar los datos y calcular la cantidad de UFC/mL (Anexo B1) en cada muestra durante el tiempo de reacción.

2.2.2 Fotodesinfección simultánea de los microorganismos. Para estudiar el efecto de la presencia simultánea de los MOs sobre el proceso de fotodesinfección, se estableció como variable, la relación de concentración inicial de cada bacteria, teniendo en cuenta los resultados obtenidos en el análisis microbiológico realizado a la muestra de agua veredal y la fase más resistente al estrés oxidativo reportada en la fotodesinfección de cada MO (Inciso 3.2.1). De esta manera, se evaluaron 3 relaciones de concentración inicial MO1:MO2 manteniendo una concentración inicial total de 1×10^7 UFC/mL en el medio de reacción.

Estas pruebas se realizaron siguiendo la metodología de las pruebas de fotodesinfección para cada MO. Sin embargo, en este caso, las tomas realizadas, se sembraron por microgota tanto en agar Plate Count como en agar Cromogénico (Oxxoid: Chromogenic Coliform Agar), lo que permitió observar los porcentajes de desinfección total e individual de las bacterias, debido a la diferente coloración que se observa en el agar Cromogénico para cada MO.

El procedimiento detallado de las pruebas de fotodesinfección se presenta en el ANEXO F.

3. RESULTADOS

3.1 ACTIVIDADES PRELIMINARES

3.1.1 Identificación de contaminantes en el agua disponible para consumo. De los resultados obtenidos del análisis de los parámetros fisicoquímicos y microbiológicos evaluados en la muestra de agua proveniente del punto de captación y distribución ubicado en la vereda de Santa Rosa, Lebrija, se resalta que el agua contiene 0UFC/100mL de *E. coli* y 140UFC/100mL de coliformes totales⁵⁶, es decir, por encima del valor máximo aceptable según la Resolución 2115 de 2007 de 0UFC/100mL⁵⁷ (ver en detalle todo el análisis en el ANEXO G) De esta manera, teniendo en cuenta el análisis y la Resolución se seleccionaron dos bacterias para la investigación, *E. coli* (bacteria que ha sido estudiada previamente en procesos de fotodesinfección desde el CICAT), y *Enterobacter aerogenes* como representante de los coliformes totales^{58 59}

3.1.2 Estudio del comportamiento microbiológico. En la 3 y 4 se observan las curvas de crecimiento obtenidas para las bacterias *Enterobacter aerogenes* y *E. coli*, las cuales se llevaron a cabo en un tiempo de 32h (17 muestras) y 25h (16 muestras), respectivamente. Los resultados obtenidos se representan a través de gráficas cuya variable independiente es el tiempo de crecimiento del MO (Eje X) y variable dependiente corresponde a la concentración de las bacterias en UFC/mL (Eje Y, escala logarítmica).

⁵⁶ LABORATORIO DE AGUAS Y SUELOS DEL CEIAM - UIS. Formato informe de resultados. Bucaramanga: Yaneth Quintero, 2018

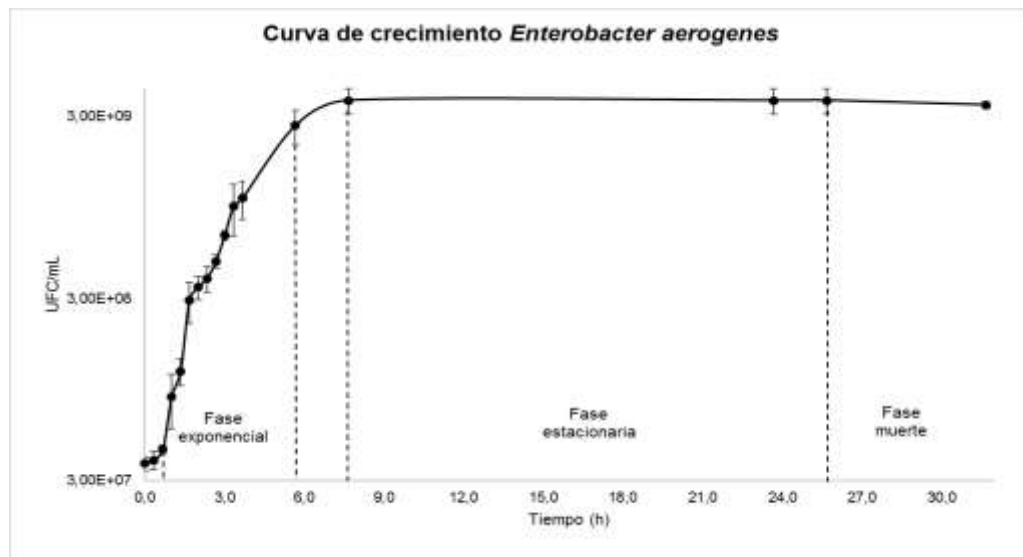
⁵⁷ COLOMBIA, MINISTERIO DE LA PROTECCIÓN SOCIAL MINISTERIO DE AMBIENTE, VIVIENDA Y DESARROLLO TERRITORIAL Op. Cit.

⁵⁸ ROBERT PULLÉS, Marlen. Op. Cit.

⁵⁹ MORA, Darner, *et al.* Op. Cit.

En la se pueden observar las 4 fases de crecimiento de la bacteria *Enterobacter aerogenes*. La primera es la fase de adaptación que se da en las primeras 0.7h. Desde las 0.7h hasta las 5.7h, se encuentra en la fase de crecimiento exponencial. Terminada esta etapa, la bacteria entra en una transición de la fase exponencial a la fase estacionaria por 2h (5.7h a 7.7h). Finalmente, la fase estacionaria se extiende desde las 7.7h hasta 25.7h y después hasta las 31.7h existe una disminución de la concentración bacteriana y se define como la fase de muerte.

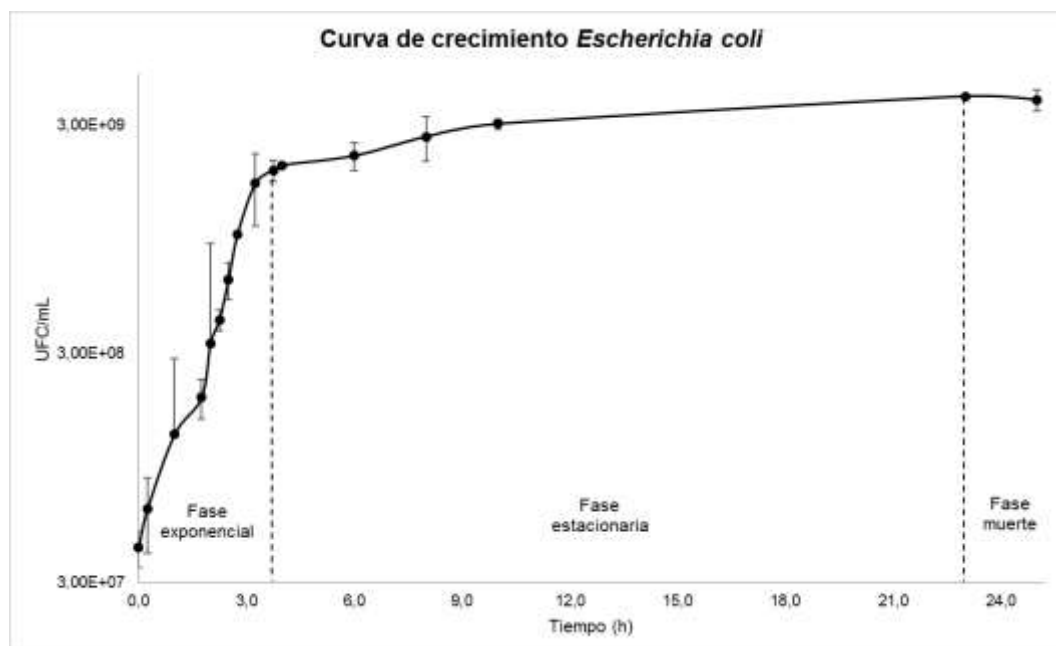
Figura 3. Curva de crecimiento *Enterobacter aerogenes*.



En la

Figura 4 se observan las fases de crecimiento de *E. coli*, la cual inicia con la fase exponencial que se extiende hasta las 3.8h. Desde allí se da continuación a la fase estacionaria hasta las 23h y, por último, la fase de muerte hasta las 25h.

Figura 4. Curva de crecimiento *Escherichia coli*.



Tomado de: ACOSTA, Sebastian Ricardo y BAREÑO, Leidy Carolina. Estudio de estrategias para el aumento de la vida útil de textiles fotobactericidas TiO_2 /algodón utilizados en la desinfección de aguas contaminadas con *E. coli*.

3.2 FOTODESINFECCIÓN DEL AGUA CONTAMINADA CON COLIFORMES

Los resultados de las pruebas de fotodesinfección se representan a través de gráficas cuya variable independiente (Eje X) es el tiempo de reacción y variable dependiente (Eje Y) corresponde a C/C_0 , es decir, la concentración en UFC/mL de cada muestra en el tiempo, sobre la concentración inicial en UFC/mL.

Además, en estas pruebas realizadas en las 2 fases metodológicas se llevó a cabo la comparación de los resultados obtenidos en los 3 procesos: SODIS (control sin fotocatalizador), oscuridad (control sin radiación) y fotocátalisis, como se observará en las figuras 7 y 8. En donde cada punto en la curva de SODIS y oscuridad, resulta del promedio del número de colonias observadas en 3 gotas sembradas por la

técnica de microgota de una de las diluciones de cada muestra; mientras que cada punto de la curva de fotocátalisis se obtiene del promedio de 6 gotas, es decir, 3 gotas por cada reactor. La configuración de los reactores se puede observar en la figura 2.

Por otra parte, en las figuras que se presentarán a continuación se observará la desviación de los datos en cada uno de los puntos de cada curva, lo cual indica que aquellos puntos sin barras de error representan lecturas iguales del número de colonias observadas en las gotas de una dilución. Adicional, en algunas curvas se podrá observar una significativa desviación que puede atribuirse a la técnica de conteo empleada, puesto que, para mayores concentraciones de MO, no es posible realizar el adecuado conteo del número total de colonias en las diluciones sembradas; esta situación se presenta también en los estudios realizados por Camargo y Oróstegui ⁶⁰, en donde se afirma que a mayor cantidad de número de colonias existe una mayor desviación en los resultados.

En el Anexo H se encuentran los resultados obtenidos de la fotodesinfección (comparación de los tres procesos: SODIS, oscuridad y fotocátalisis) de cada fase de crecimiento de cada MO y las relaciones de concentración inicial seleccionadas.

3.2.1 Fotodesinfección de cada uno de los microorganismos. Los resultados obtenidos en estas pruebas se reportan con base en el tiempo transcurrido en el medio de cultivo desde la inoculación. Para *Enterobacter aerogenes*, se establecieron 4 tiempos: 3,5h ($1,92 \cdot 10^7$ UFC/mL), 6,5h ($7,67 \cdot 10^7$ UFC/mL), 10h ($1,57 \cdot 10^8$ UFC/mL) y 24h ($1,03 \cdot 10^8$ UFC/mL); los cuales corresponden a las fases de crecimiento exponencial (F1), transición de la fase exponencial a fase estacionaria (F2), estacionaria inicial (F3) y estacionaria final (F4), respectivamente. Para *E. coli*: 1h ($6,67 \cdot 10^5$ UFC/mL), 5h ($3,50 \cdot 10^7$ UFC/mL) y 24h ($8,33 \cdot 10^7$ UFC/mL),

⁶⁰ CAMARGO HOLGUÍN, Andrea Stephanie y ORÓSTEGUI CALDERÓN, Daniel Fernando. Op. Cit.

correspondientes a las fases exponencial (F1), estacionaria inicial (F2) y estacionaria final (F3), respectivamente.

En las Figura 5 y 6 se presenta la comparación de los resultados obtenidos de la desinfección, mediante el proceso de fotocátalisis, en cada fase de crecimiento seleccionada de *Enterobacter aerogenes* y *E. coli*, respectivamente. En ellas se puede observar una disminución significativa de la concentración bacteriana de ambos MOs en los primeros minutos de cada fase. Para *E. coli*, este comportamiento coincide con el observado por Camargo y Oróstegui⁶¹ y Rincón y Pulgarín ⁶², donde los primeros reportan un porcentaje de desinfección cercano al 45% en 10 minutos de reacción y los segundos reportan un 60% en 20 minutos de reacción. Así mismo, Rizzo⁶³ reporta aproximadamente un 70% de desinfección de *Enterobacter aerogenes* en los primeros 20min de reacción. Esta disminución exponencial de la concentración bacteriana en los primeros minutos de reacción se atribuye al proceso fotocatalítico ocurrido en la superficie del catalizador que genera la liberación de especies oxidantes altamente perjudiciales para el MO como consecuencia de las reacciones de óxido reducción ⁶⁴. Además, en los primeros minutos de reacción las bacterias se encuentran en un proceso de adaptación al nuevo medio ⁶⁵, lo cual también favorece la desinfección en este tiempo.

En el Figura 5 se puede evidenciar que aproximadamente a las 0,2h de reacción se ha alcanzado alrededor del 50% de la desinfección total en cada una de las fases: 56%, 59%, 64% y 41%, para F1, F2, F3 y F4, respectivamente. Además, los datos

⁶¹ Ibíd.

⁶² RINCÓN, Angela Guiovana y PULGARIN, Cesar. Op. Cit.

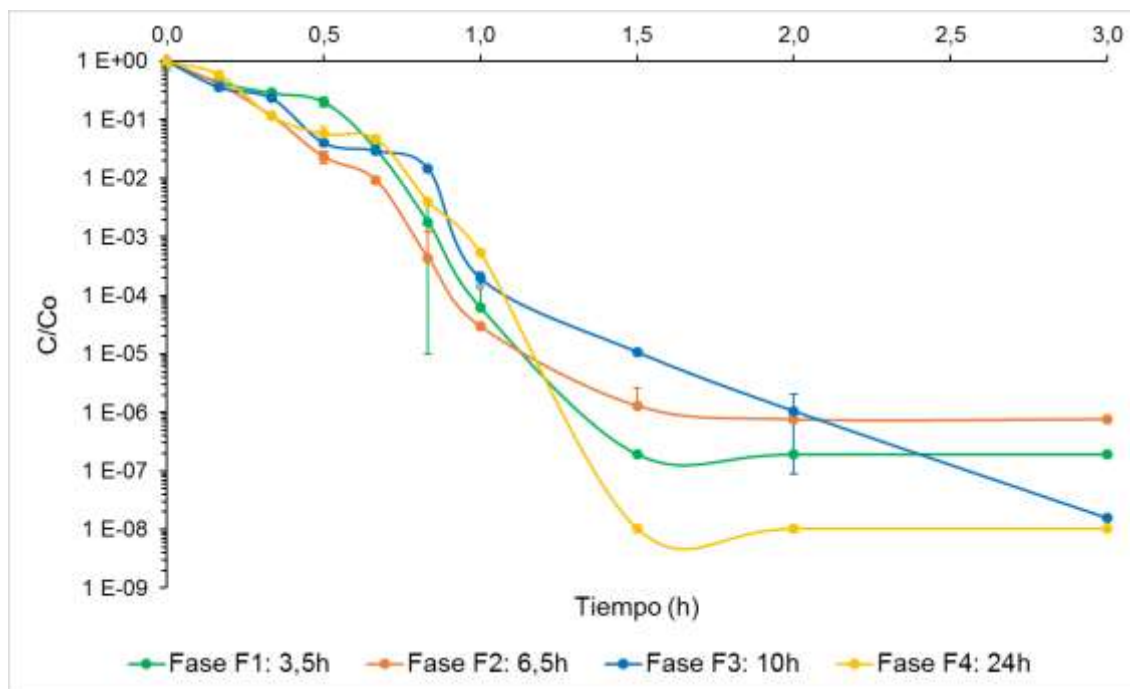
⁶³ ACOSTA, Sebastian Ricardo y BAREÑO, Leidy Carolina. Estudio de estrategias para el aumento de la vida útil de textiles fotobactericidas TiO₂/algodón utilizados en la desinfección de aguas contaminadas con *E. coli*. Trabajo de grado Ingeniero Químico. Bucaramanga: Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ingenierías Fisicoquímicas. Escuela de Ingeniería Química, En desarrollo

⁶⁴ CAMARGO HOLGUÍN, Andrea Stephanie y ORÓSTEGUI CALDERÓN, Daniel Fernando. Op. Cit.

⁶⁵ RIZZO, Luigi. Inactivation and injury of total coliform bacteria after primary disinfection of drinking water by TiO₂ photocatalysis. En: Journal of Hazard Materials. Sep, 2009. vol. 165, no. 1 - 3, p. 48-51

entre las 1.5h y 3h permite corroborar que los MOs en las fases F1 y F4 se han inactivado completamente a las 1,5h, con una concentración final de $1,92 \cdot 10^{-7}$ UFC/mL y $1,03 \cdot 10^{-8}$ UFC/mL; mientras que la fase F2 se inactiva a las 2h con $7,67 \cdot 10^{-7}$ UFC/mL y la fase F3 a las 3h con $1,57 \cdot 10^{-8}$ UFC/mL. Lo anterior permite confirmar que la bacteria *Enterobacter aerogenes* en la fase 3 o estacionaria, posee una mayor resistencia al estrés oxidativo del proceso de fotocátalisis debido a que presentan el mayor tiempo de desinfección total.

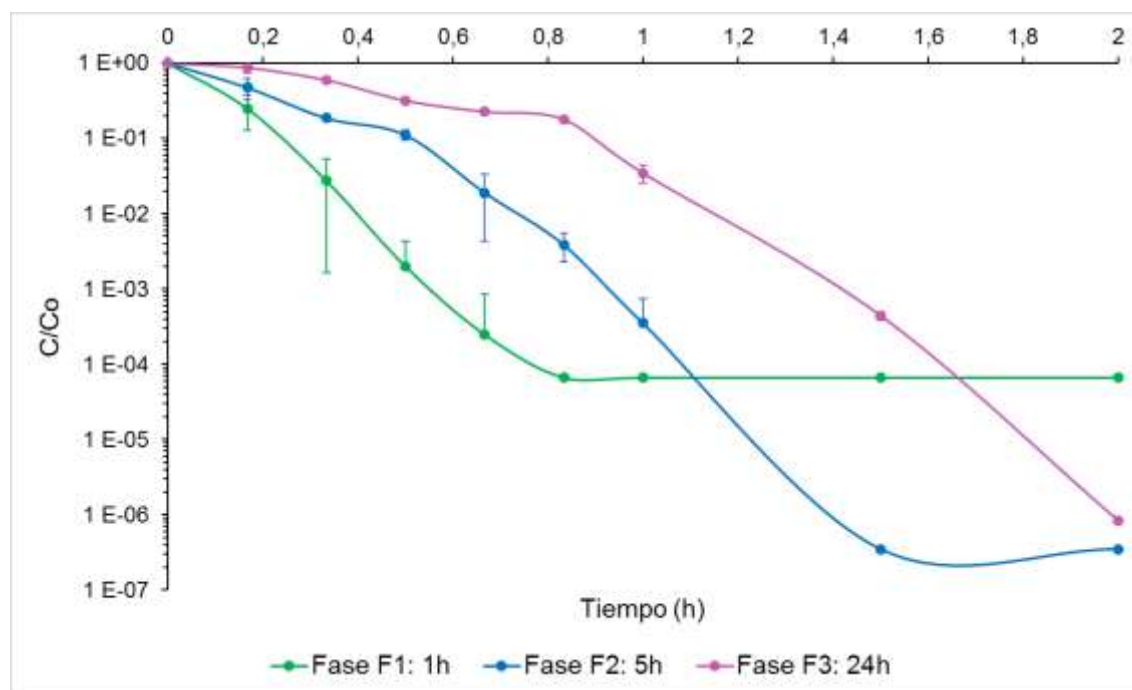
Figura 5. Influencia de la fase de crecimiento de *Enterobacter aerogenes* sobre la desinfección fotocatalítica usando un textil inmovilizado con TiO_2 y una potencia de irradiación de 250 W/m^2 .



En la figura 6 se observa un comportamiento característico de cada fase de crecimiento de *E. coli*. Para este caso, trascurridas 0.2h de la reacción, la bacteria se ha desinfectado en un 75%, 52% y 12% en las fases F1, F2 y F3, respectivamente, siendo F3 hasta ese momento la más resistente al estrés oxidativo. Este comportamiento se mantiene hasta las 2h de reacción cuando se

logra la desinfección completa de los MOs en F3 con una concentración final de $8,33 \cdot 10^{-7}$ UFC/mL, mientras que la desinfección completa de F1 se logra desde las 0.8h de reacción con $6,67 \cdot 10^{-5}$ UFC/mL (82% de desinfección F3) y la desinfección completa de F2 se logra desde las 1.5 h con $3,50 \cdot 10^{-7}$ UFC/mL. Es decir, los MOs en la fase de crecimiento estacionaria final (F3) poseen una mayor resistencia al estrés oxidativo del proceso de fotocátalisis debido a que presentan el mayor tiempo de desinfección total. Este resultado coincide con el presentado por Moreno, Ballesteros y Castro ⁶⁶ para la bacteria *E. coli*, en donde se observa que, al aumentar el tiempo de cultivo de 4 a 10 h, es decir, en la fase estacionaria, se produce una disminución en la tasa de inactivación de *E. coli* respecto a las demás fases de crecimiento estudiadas.

Figura 6. Influencia de la fase de crecimiento de Escherichia coli sobre la desinfección fotocatalítica usando un textil inmovilizado con TiO_2 y una potencia de irradiación de 250 W/m^2 .



⁶⁶ MORENO, Andrea; BALLESTEROS, Luz Marina y CASTRO LÓPEZ, Camilo. Op. Cit.

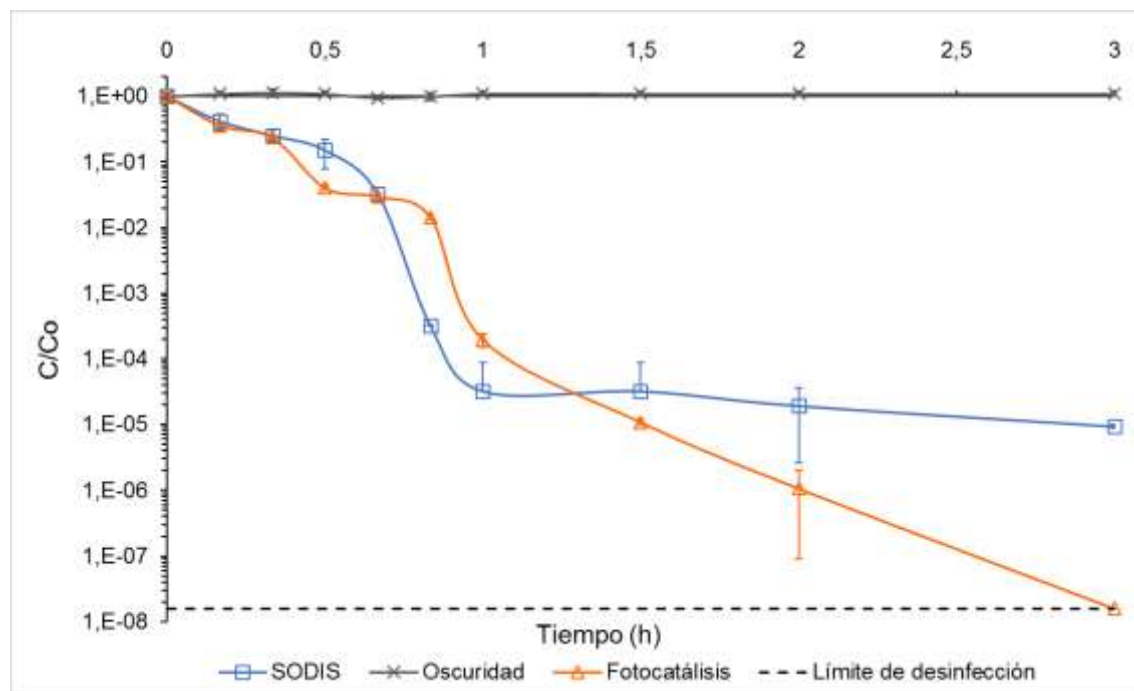
Los resultados observados en las Figura 5 y 6 confirman que la fase de crecimiento más resistente de ambos MOs, es la fase estacionaria. Este comportamiento se puede explicar teniendo en cuenta que en esta fase las bacterias gram negativas como *E. coli* y *Enterobacter aerogenes*, reorganizan su metabolismo, remodelan la pared celular y acumulan compuestos de reserva (polifosfato y glucógeno) y osmoprotección (trehalosa y glicina betania), debido a que se disminuye la expresión de la mayoría de los genes necesarios para el crecimiento exponencial y aumentan aquellos relacionados con la viabilidad celular durante la inanición⁶⁷. Esta expresión diferencial de genes contribuye a que las células en fase estacionaria mantengan la viabilidad y muestren mayor resistencia a diversos factores de estrés, como la radiación ultravioleta, peróxido de hidrógeno, calor, antibióticos y concentraciones salinas elevadas⁶⁸; lo cual explica la mayor resistencia de *E. coli* y *Enterobacter aerogenes* a los agentes oxidantes producto de los procesos de fotodesinfección cuando se encuentran en su fase de crecimiento estacionaria (F3).

Por otro lado, las Figura 7 y Figura 8 permiten comparar los resultados obtenidos de los procesos de fotocátalisis, oscuridad y SODIS, para la fase estacionaria F3 de cada MO, debido a que esta fue la fase de crecimiento más resistente al estrés oxidativo tanto de *Enterobacter aerogenes* como de *Escherichia coli*. En ambas figuras, se evidencia que las curvas de oscuridad mantienen su concentración estable sobre su valor inicial durante el tiempo de reacción, lo cual permite corroborar la acción de la energía incidente en la generación de los pares electrón-hueco responsable de permitir las reacciones de óxido-reducción en la superficie del catalizador. Por lo tanto, en ausencia de agentes oxidantes, la bacteria puede llegar a presentar una pequeña fase de adaptación en los primeros minutos de reacción para luego sobrevivir a las condiciones de temperatura y falta de nutrientes sin presentar inactivación ni crecimiento significativo.

⁶⁷ RIZZO, Luigi Op. Cit.

⁶⁸ NAVARRO LLORENS, Juana María; TORMO, Antonio y MARTÍNEZ GARCÍA, Esteban. Stationary phase in gram-negative bacteria. En: FEMS Microbiol. Mar, 2010. vol. 34. p. 476-495

Figura 7. Fotodesinfección de *Enterobacter aerogenes* en su fase de crecimiento estacionaria F3, mediante el proceso de fotocatalisis, SODIS y oscuridad.



En la Figura 7 se puede observar que el proceso de SODIS presenta una menor desinfección a lo largo de la reacción respecto al proceso de fotocatalisis. Además, el proceso de SODIS no alcanza la desinfección completa de *Enterobacter aerogenes* en las 3h de reacción, mientras que en la fotocatalisis se alcanza un 100% de desinfección, estos resultados son similares a los reportados por Rizzo⁶⁹ donde se alcanza una desinfección para coliformes totales entre 91% y 99% a los 60 minutos de reacción. De este modo, se puede corroborar, como se ha reportado en estudios previos^{70 71 72 73}, que la presencia de catalizador disminuye el tiempo de

⁶⁹ ACOSTA, Sebastian Ricardo y BAREÑO, Leidy Carolina. Op. Cit.

⁷⁰ POLO LOPEZ, M.I, *et al.* Op. Cit.

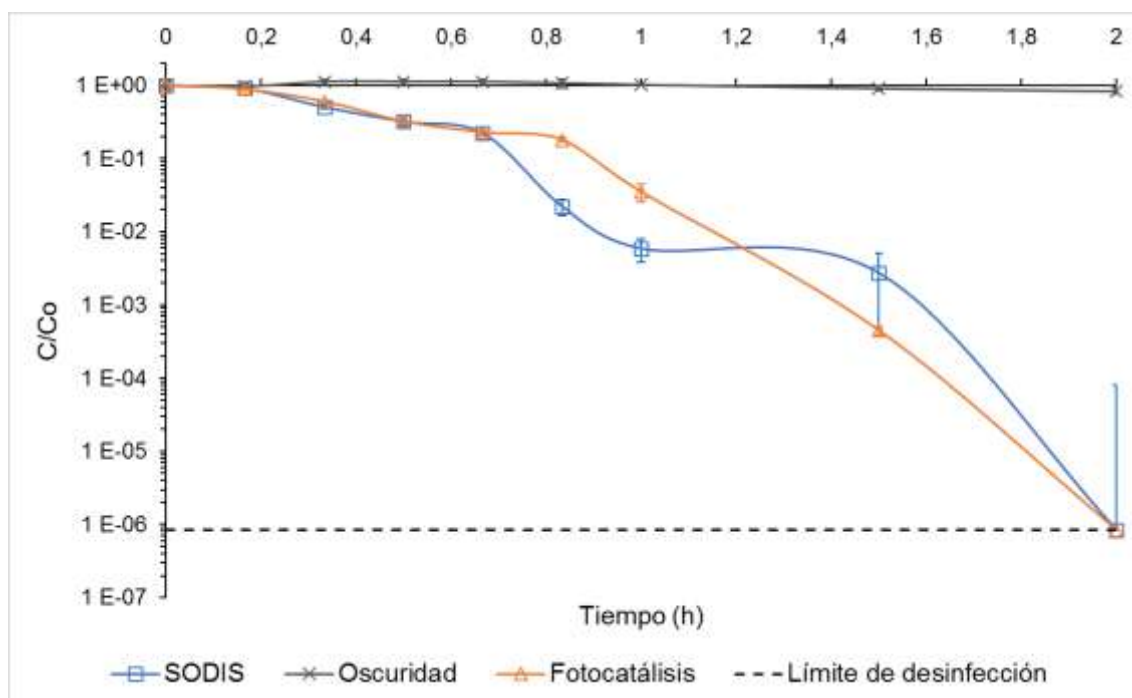
⁷¹ CAMARGO HOLGUÍN, Andrea Stephanie y ORÓSTEGUI CALDERÓN, Daniel Fernando. Op. Cit.

⁷² CABALLERO ESPARZA, Mónica Patricia y MARTÍNEZ RUGELES, Deisy Milena. Op. Cit.

⁷³ RINCÓN, Angela Guiovana y PULGARIN, Cesar. Op. Cit.

reacción necesario para alcanzar la desinfección total en comparación con el tiempo requerido en técnicas SODIS.

Figura 8. Fotodesinfección de *E. coli* en su fase de crecimiento estacionaria F3 mediante el proceso de fotocátalisis, fotolisis y oscuridad.



En la Figura 8 se puede observar que, tanto la desinfección para el proceso fotolítico (SODIS), como el proceso fotocatalítico logran la desinfección completa de *E. coli* a las 2h de reacción. Además, en los últimos 30min de reacción, se puede corroborar que la utilización de TiO_2 aumenta el porcentaje de desinfección comparada con SODIS.

De estos resultados es importante destacar el efecto favorable sobre la eficiencia del proceso cuando se utiliza TiO_2 , el cual se hace más notorio al estudiar el crecimiento microbiano en la última muestra del medio de reacción, que se realiza 24h después de finalizada la reacción. En ella, no se presenta reactivación

bacteriana por parte del proceso de fotocátalisis, mientras que para los procesos de oscuridad y SODIS se observaron concentraciones mayores a la inicial (1×10^7 UFC/mL) para *Enterobacter aerogenes* y concentraciones significativas de 8×10^7 UFC/mL y 2×10^6 UFC/mL, respectivamente, para *E. coli*. Este resultado ha sido reportado previamente en estudios donde se afirma que a pesar de alcanzar la desinfección completa en SODIS a las 2,5h, se detecta la reactivación de la bacteria después de 24h⁷⁴ [14], confirmando, que el efecto del catalizador va más allá de la disminución del tiempo de reacción y ausencia de la fase de adaptación en comparación con la pruebas SODIS, pues la desinfección con textiles funcionalizados expone un tiempo de muerte efectiva de 24h⁷⁵.

Por otro lado, se cree que la similitud de las curvas de fotocátalisis y SODIS durante los primeros minutos de reacción está relacionada con varios factores, entre ellos, el evidenciado por el estudio de Flórez y Suárez⁷⁶ el cual está relacionado con la formación de aglomeraciones en el textil, debido a la inmovilización no homogénea del TiO_2 sobre la superficie. Lo anterior implica que una parte del TiO_2 inmovilizado no se active (efecto de apantallamiento) y se afecte negativamente la concentración de pares electrón-hueco fotogenerados en la superficie del catalizador, posibilitando una mayor recombinación de los mismos⁷⁷, lo cual se ve reflejado finalmente en la disminución del porcentaje de desinfección.

En la Figura 9 se presenta la desinfección de los reactores de fotocátalisis de *Enterobacter aerogenes* y *E coli* en su fase de crecimiento estacionaria F3, la cual se reportó como la más resistente al estrés oxidativo en ambos casos. De acuerdo con esta figura, se puede afirmar que la aplicación del proceso de fotocátalisis

⁷⁴ GIRALDO, Sonia Azucena; RINCÓN, Angela Guiovana y PULGARIN, Cesar

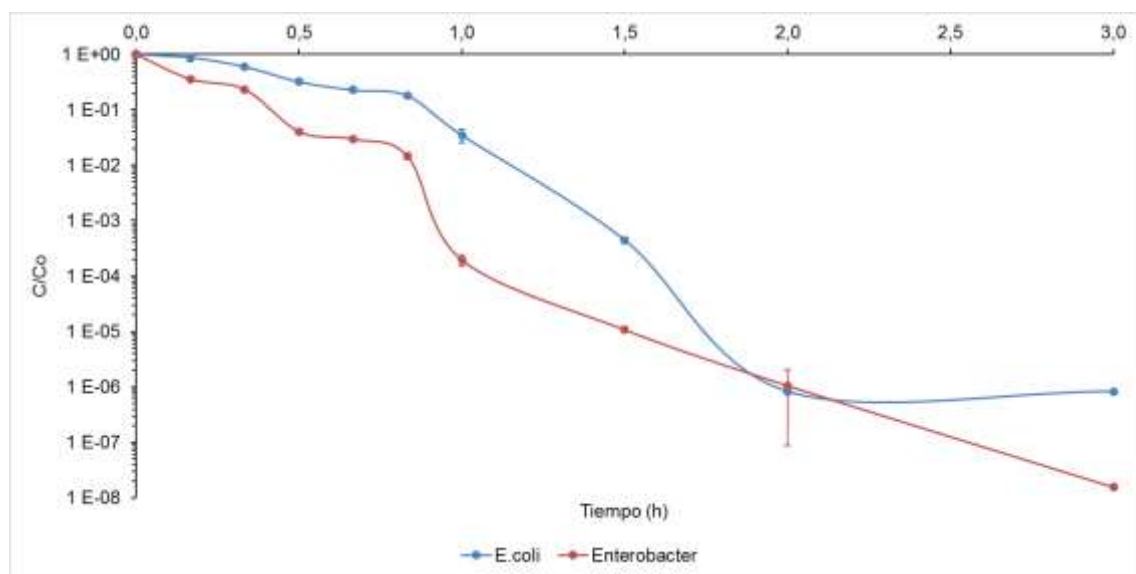
⁷⁵ CABALLERO ESPARZA, Mónica Patricia y MARTÍNEZ RUGELES, Deisy Milena

⁷⁶ RAMÍREZ SANTOS, Jesús; CONTRERAS FERRAT, Gabriel y GÓMEZ EICHELMANN, M. Carmen. La fase estacionaria en la bacteria *Escherichia coli*. En: Revista Latinoamericana de Microbiología. Jul-Dic, 2005. vol. 45, no. 3 y 4, p. 92 -101

⁷⁷ DUARTE MANTILLA, María Mercedes y FERNÁNDEZ CRISTANCHO, Eyleen Vanessa.

heterogénea con TiO_2 permite la desinfección total de la bacteria sin reactivación, en un tiempo de reacción de 3h para *Enterobacter aerogenes*, y 2h para *E. coli*, con una concentración inicial de 1×10^7 UFC/mL de cada MO.

Figura 9. Efecto del tipo de bacteria en fase estacionaria, sobre el porcentaje de desinfección mediante fotocátalisis con TiO_2 inmovilizado en un textil a una potencia de irradiación de 250 W/m^2 .



En la Figura 9 se observa que durante las primeras 2h de reacción, *E. coli* presenta una mayor resistencia al proceso de fotodesinfección con respecto a *Enterobacter aerogenes*. Sin embargo, la desinfección total de *E. coli* y *Enterobacter aerogenes* se logra a las 2h ($8,33 \times 10^{-7}$ UFC/mL) y 3h ($1,57 \times 10^{-8}$ UFC/mL) respectivamente, lo cual permite afirmar que, finalmente el tipo de bacteria más resistente al estrés oxidativo es *Enterobacter aerogenes*. Este hecho se puede explicar al observar el tiempo de crecimiento en el medio de cultivo de ambas bacterias, puesto que a pesar de que ambas se encuentran en su fase estacionaria al momento de la prueba de fotodesinfección, *Enterobacter aerogenes* se inoculó en un tiempo de 10h, es decir, después del inicio de su fase estacionaria, tiempo en el que las tasas de crecimiento y muerte celular se igualan y la concentración bacteriana se mantiene

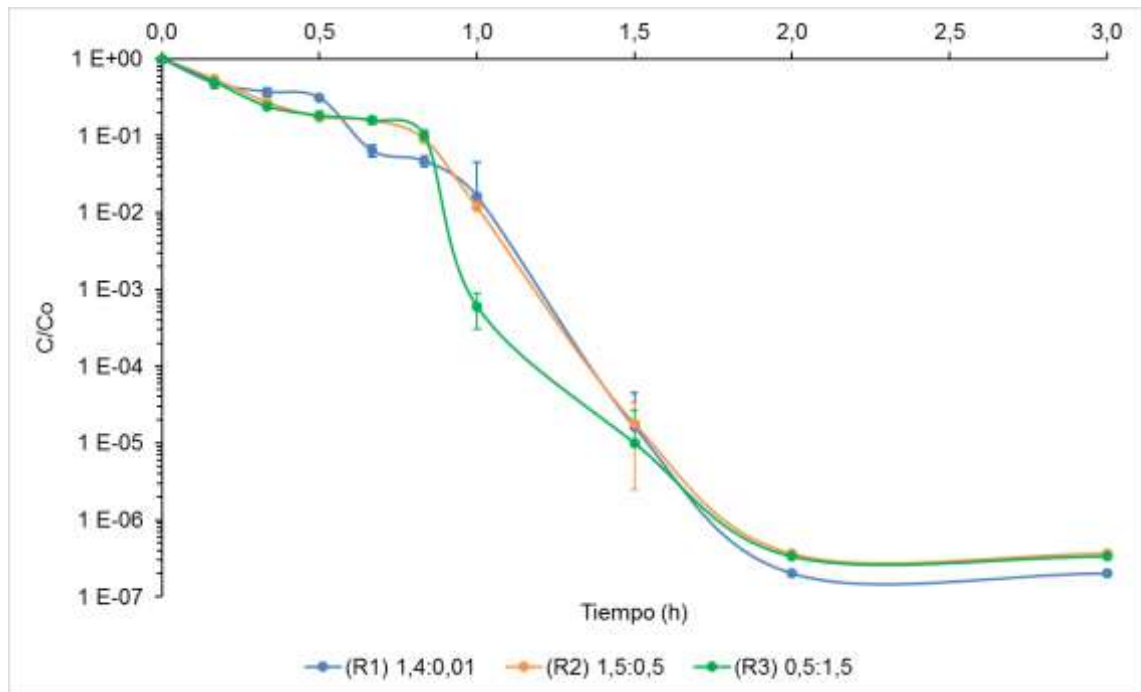
constante⁷⁸; mientras que la inoculación de *E. coli* se realizó a las 24h, tiempo en el que está finalizando la fase estacionaria y por tanto, la bacteria ha agotado casi por completo los nutrientes del medio, por lo que la tasa de muerte empieza a aumentar con respecto a la tasa de crecimiento celular. Esto favorece la desinfección debido a que se disminuye el número de bacterias viables en el medio de crecimiento de *E. coli*.

3.2.2 Fotodesinfección simultánea de los microorganismos. En la

⁷⁸ RIZZO, Luigi Op. Cit.

Figura 10 se presentan los resultados de las pruebas de fotocátalisis del medio de reacción contaminado simultáneamente con ambos MOs a una concentración inicial total de 1×10^7 UFC/mL. De esta manera, se observan 3 curvas correspondientes a cada una de las relaciones de concentración UFC/mL seleccionadas de *Enterobacter aerogenes* y *E. coli*: 1.4:0.01 (R1), 1.5:0.5 (R2) y 0.5:15 (R3). En el Anexo H se puede observar la comparación de los procesos de SODIS, fotocátalisis y oscuridad de cada una de las relaciones.

Figura 10. Efecto de la relación de concentración inicial de ambos microorganismos en la desinfección simultánea de *Enterobacter aerogenes* y *E. coli*, usando un textil inmovilizado con TiO_2 y una potencia de irradiación de 250 W/m^2 .



En la

Figura 10 se observa una desinfección simultánea del 100% del agua contaminada con ambos MOs para las tres relaciones, en un tiempo máximo de reacción de 2h para cada relación, es decir, se alcanza la desinfección simultánea de los MOs sin aumentar el tiempo máximo de desinfección que se requiere para *Enterobacter aerogenes* y *E. coli*, individualmente. La desinfección simultánea total de este tipo de bacterias también es reportada por Rojas Higuera, *et al.* ⁷⁹ a los 30min de irradiación, partiendo de concentraciones iniciales de 10^4 y 10^3 UFC/mL, respectivamente.

Además, se observa un comportamiento similar en la desinfección simultánea de los MOs durante las primeras 0.2h de reacción para cada una de las relaciones estudiadas, momento en el cual se reportan porcentajes de desinfección del 52%, 46% y 50% para R1, R2 y R3, respectivamente. Sin embargo, después de este tiempo, la desinfección de R1 presenta un comportamiento alejado respecto a las relaciones R2 y R3. Además, un acercamiento entre las 1.5h y 2h de reacción, permite observar un menor porcentaje de desinfección para R1 y R2. Estos comportamientos se pueden atribuir a que R1 y R2, poseen una mayor cantidad de *Enterobacter aerogenes* y como se evidenció en los resultados obtenidos en la figura 7, esta bacteria es más resistente a la fotodesinfección que *E. coli*, lo cual puede explicar la disminución en la tasa de inactivación de los MOs.

⁷⁹ ROJAS HIGUERA, Naydú, *et al.*

4. CONCLUSIONES

La fase de crecimiento de *Enterobacter aerogenes* y *E. coli* ATCC 11229 más resistente al estrés oxidativo es la fase estacionaria. Se concluye que la fase de crecimiento representa una variable importante en la eficiencia del proceso de fotocátalisis heterogénea con TiO_2 , cuando se estudia el tiempo de desinfección total. Además, el tipo de bacteria posee un efecto sobre el porcentaje de desinfección durante la reacción.

Las relaciones de concentraciones de las bacterias en el medio de reacción no tienen un efecto directo sobre el proceso de fotodesinfección. Se concluye que la presencia simultánea de las bacterias en el medio de reacción no posee relación directa sobre el tiempo de desinfección total requerido.

Por otro lado, se concluye que el proceso de fotocátalisis heterogénea demuestra ser eficiente en la desinfección simultánea de *Enterobacter aerogenes* y *Escherichia coli*, debido a que, independientemente del tipo de bacteria, la fase de crecimiento o la relación de concentración escogida, no se observó reactivación bacteriana 24h después de finalizada la reacción sin exposición a la radiación. Lo cual se resalta como un avance en el camino hacia la aplicación de un prototipo de desinfección en los puntos de captación y distribución de agua en los sectores rurales que no cuentan con estructuras de potabilización.

.

5. RECOMENDACIONES

- Tener en cuenta los resultados obtenidos en el análisis de parámetros fisicoquímicos de la Resolución 2115 para estudiar el efecto de otros agentes sobre la desinfección y descontaminación mediante la fotocatálisis heterogénea.
- Evaluar la fotodesinfección simultánea de las bacterias presentes en concentraciones iniciales iguales y mayor a la utilizada en nuestro proyecto (1×10^7 UFC/mL).
- Establecer la concentración inicial bacteriana en el medio de reacción como un indicador de avance en la eficiencia de la fotocatálisis heterogénea.

BIBLIOGRAFÍA

ACEVEDO ZABALETA, Jose Daniel. Proceso fotocatalítico como alternativa para la potabilización de agua. Trabajo de investigación para optar al título de Magíster en Ingeniería. Medellín: Universidad EAFIT. Escuela de Ingeniería. Departamento de Ingeniería de Procesos, 2012.

ACOSTA, Sebastian Ricardo y BAREÑO, Leidy Carolina. Estudio de estrategias para el aumento de la vida útil de textiles fotobactericidas TiO_2 /algodón utilizados en la desinfección de aguas contaminadas con *E. coli*. Trabajo de grado Ingeniero Químico. Bucaramanga: Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ingenierías Fisicoquímicas. Escuela de Ingeniería Química, En desarrollo.

CABALLERO ESPARZA, Mónica Patricia y MARTÍNEZ RUGELES, Deisy Milena. Incremento de la vida útil de fibras textiles modificadas con TiO_2 en la desinfección de aguas contaminadas con *E. coli* en un reactor captador parabólico compuesto. Trabajo de grado Ingeniero Químico. Bucaramanga: Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ingenierías Fisicoquímicas. Escuela de Ingeniería Química, 2017.

CAI, Yanling; STROMME, Maria y WELCH, Ken. Disinfection Kinetics and Contribution of Reactive Oxygen Species When Eliminating Bacteria with TiO_2 Induced Photocatalysis. En: Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology. 2014. vol. 5, no. 3, p. 200-209.

CAMARGO HOLGUÍN, Andrea Stephanie y ORÓSTEGUI CALDERÓN, Daniel Fernando. Fotodesinfección de agua contaminada mediante TiO_2 inmovilizado sobre fibras textiles en un reactor CPC. Trabajo de grado Ingeniero Químico.

Bucaramanga: Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ingenierías Fisicoquímicas. Escuela de Ingeniería Química, 2017

COLOMBIA, MINISTERIO DE LA PROTECCIÓN SOCIAL MINISTERIO DE AMBIENTE, VIVIENDA Y DESARROLLO TERRITORIAL. Resolución N.º 2115. (22, junio, 2007). Por medio de la cual se señalan características, instrumentos básicos y frecuencias del sistema de control y vigilancia para la calidad del agua para consumo humano. Bogotá.

COLOMBIA, MINISTERIO DE LA PROTECCIÓN SOCIAL. Decreto Número 1575. (9, mayo, 2007). Por el cual se establece el Sistema para la Protección y Control de la Calidad del Agua para Consumo Humano. Bogotá.

CORPORACIÓN AUTÓNOMA REGIONAL PARA LA DEFENSA DE LA MESETA DE BUCARAMANGA. Informe Estado de los Recursos Naturales. Bucaramanga: 2018. p. 6-38.

DANE. Colombia. Proyecciones de población municipales por área. [en línea]. DANE, 2005 [Citado 15 sep, 2018]. Disponible en: https://www.dane.gov.co/files/.../poblacion/...20/ProyeccionMunicipios2005_2020.xls.

DANE. Estimaciones de población 1985 - 2005 y proyecciones de población 2005 - 2020 total departamental por área. [en línea]. DANE, 2005 [Citado 15 sep, 2018]. Disponible en: https://www.dane.gov.co/files/.../poblacion/...20/Municipal_area_1985-2020.xls.

DÍAZ DELGADO, Carlos, *et al.* Agua potable para comunidades rurales, reúso y tratamientos avanzados de aguas residuales domésticas. Capítulo 20. Indicadores de contaminación fecal en aguas. México D.F: RIPDA-CYTED, 2003. p. 224 - 229.

DOMÈNECH, Xavier; JARDIM, Wilson F. y LITTER, Marta I. Procesos avanzados de oxidación para la eliminación de contaminantes. En: ResearchGate. Ene, 2004.

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

FLOREZ SARMIENTO, Diego Armando y SUÁREZ RINCÓN, Milena Carolina. Modificación del pH y la concentración de TiO_2 en suspensión para el estudio de la distribución de catalizador inmovilizado sobre fibras de algodón crudo y su efecto en la actividad fotocatalítica. Trabajo de grado Ingeniero Químico. Bucaramanga: Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ingenierías Fisicoquímicas. Escuela de Ingeniería Química, 2016.

FORERO, Jorge Enrique; ORTIZ, Olga Patricia y RIOS, Fabian. Aplicación de procesos de oxidación avanzada como tratamiento de fenol en aguas residuales industriales de refinería. En: Ciencia, Tecnología y Futuro. Jun, 2005. vol. 3, no. 1, p. 97-109.

GIRALDO, Sonia Azucena; RINCÓN, Angela Guiovana y PULGARIN, Cesar. Desinfección de agua por fotocatálisis. Aspectos Básicos. En: Solar Safe Water. p. 203-226.

HU, Q., *et al.* Photodegradation of methyl tert-butyl ether (MTBE) by $\text{UV}/\text{H}_2\text{O}_2$ and UV/TiO_2 . En: J Hazard Mater. Jun, 2008. vol.154, no. 1, p. 795-803.

LABORATORIO DE AGUAS Y SUELOS DEL CEIAM - UIS. Formato informe de resultados. Bucaramanga: Yaneth Quintero, 2018.

LEBRIJA, CONCEJO MUNICIPAL DE LEBRIJA. Acuerdo N.º 009. (29, mayo, 2016). Por el cual se Adopta el plan de desarrollo del Municipio de Lebrija, para el periodo 2016 - 2019 y se dictan otras disposiciones. Plan de Desarrollo 2016 - 2019. Ambiente, Vida y Desarrollo. Lebrija, 2, junio, 2016.

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

MANESS, Pin-Ching, *et al.* Bactericidal Activity of Photocatalytic TiO₂ Reaction: toward an Understanding of Its Killing Mechanism. En: Applied and Environmental Microbiology. Sep, 1999. vol. 65, no. 9, p. 4094-4098

MINISTERIO DE SALUD Y PROTECCIÓN SOCIAL. INSTITUCIÓN DE SALUD. Estado de la vigilancia de la calidad del agua para consumo humano (V informe). Bogotá, D.C, 2015. p. 5-170.

MORA VENTURA, Maria Teresa y QUINTO FERNÁNDEZ, Maria Teresa. Estudio del Comportamiento Cinético de Microorganismos de Interés en Seguridad Alimentaria con Modelos Matemáticos. Título de Doctor en Veterinaria, corresponde al programa de Doctorado en Ciencia de los Alimentos de la UAB. Barcelona: Universidad Autónoma de Barcelona. Facultad de veterinaria. Departamento de Ciencia Animal y de los Alimentos. 2007.

MORA, Darner, *et al.* El grupo coliforme: importancia como indicador sanitario en los abastecimientos de aguas de consumo humano. En: Tecnología en marcha. 1990. vol. 10, no. 1, p. 68-77.

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

NAVARRO LLORENS, Juana María; TORMO, Antonio y MARTÍNEZ GARCÍA, Esteban. Stationary phase in gram-negative bacteria. En: FEMS Microbiol. Mar, 2010. vol. 34. p. 476-495.

POLO LOPEZ, M.I, *et al.* Elimination of water pathogens with solar radiation using an automated sequential batch CPC reactor. En: Journal of Hazardous Materials. Nov, 2011. vol. 196. p. 16-21.

RAMÍREZ SANTOS, Jesús; CONTRERAS FERRAT, Gabriel y GÓMEZ EICHELMANN, M. Carmen. La fase estacionaria en la bacteria *Escherichia coli*. En: Revista Latinoamericana de Microbiología. Jul-Dic, 2005. vol. 45, no. 3 y 4, p. 92 - 101

RINCÓN, Angela Guiovana y PULGARIN, Cesar. Effect of pH, inorganic ions, organic matter and H₂O₂ on *E. coli* K12 photocatalytic inactivation by TiO₂. Implications in solar water disinfection. En: Applied Catalysis B: Environmental. Abr, 2004. vol. 51, p. 283 - 302.

RINCÓN, Angela Guiovana y PULGARIN, Cesar. Solar Photolytic and Photocatalytic Disinfection of Water at Laboratory and Field Scale. Effect of the Chemical Composition of Water and Study of the Postirradiation Events. En: Journal of Solar Energy Engineering. Feb, 2007. vol. 129, p. 100-110.

RIZZO, Luigi. Inactivation and injury of total coliform bacteria after primary disinfection of drinking water by TiO₂ photocatalysis. En: Journal of Hazard Materials. Sep, 2009. vol. 165, no. 1 - 3, p. 48-51.

ROBERT PULLÉS, Marlen. Microorganismos indicadores de la calidad del agua potable en cuba. En: Revista CENIC. Ciencias Biológicas. 2014. vol. 45, no. 1, p. 25-36.

ROJAS HIGUERA, Naydú, *et al.* Evaluación de tres métodos para la inactivación de coliformes y *Escherichia coli* presentes en agua residual doméstica, empleada para riego. En: Universitas Scientiarum. 2010. vol. 15, no. 2, p. 139 -149.

TSYDENOVA, Oyuna; BATOEV, Valeriy y BATOEVA, Agniya. Solar-enhanced advanced oxidation processes for water treatment: simultaneous removal of pathogens and chemical pollutants. En: International Journal of Environmental Research and Public Health. 2015. vol. 12, no. 8, p. 9542-9561.

UNIVERSIDAD DE ANTIOQUIA, Edimeco. Apéndice 2: Medios, reactivos y control de calidad. En: Medicina & Laboratorio. 2009. vol. 15, no. 11-12.

VELASCO ROZO, Edwing Alexander. Estudio de la inmovilización de TiO₂ en poliéster funcionalizado para el desarrollo de textiles fotobactericidas. Trabajo de investigación para optar al título de Magíster en Ingeniería Química. Bucaramanga: Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ingenierías Fisicoquímicas. Escuela de Ingeniería Química, 2014.

VELASCO, Edwing; MORENO, Andrea L. y GIRALDO, Sonia A. Efecto de la presencia de sales inorgánicas sobre la inactivación fotocatalítica de *E. coli* en agua. En: Ingeniería y Ciencia. Mar, 2013. vol. 9, no. 17, p.193-208.

WIEGAND, Irith; HILPERT, Kai y HANCOCK, Robert E W. Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances. En: Nature Protocols. 2008. vol.3, no.2, p.163 - 175.

ZHANG, Beibei, *et al.* Evaluation of DBPs formation from SMPs exposed to chlorine, chloramine and ozone. En: Journal of Water and Health. Abr, 2017. vol. 15, no. 2, p. 185-195.

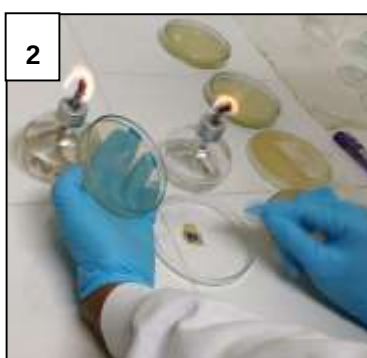
ANEXOS

Anexo A. Procedimiento para la preparación del inóculo



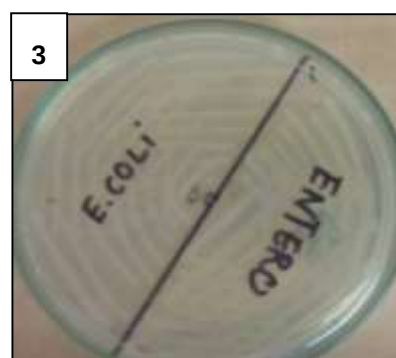
1

Retirar las bacterias conservadas en el freezer del CINTROP.



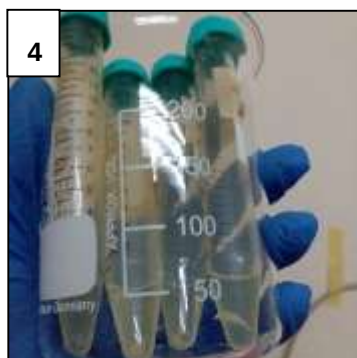
2

Sembrar las bacterias en agar Plate Count por estría.



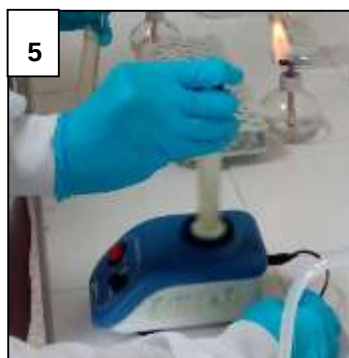
3

Incubar por 18h a 37°C, para finalizar la reactivación.



4

Inocular 10mL de solución salina estéril con las bacterias reactivadas.



5

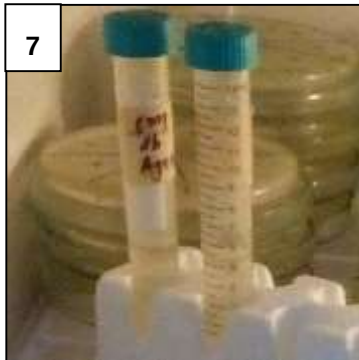
Agitar con el vórtex para homogeneizar la solución.



6

Medir en el espectrofotómetro la absorbancia de la solución a

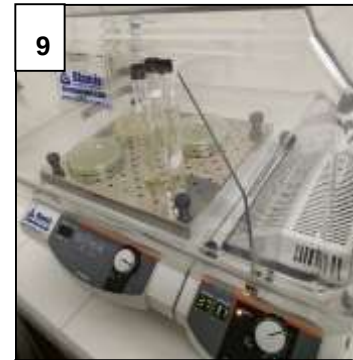
Se debe alcanzar un valor de absorbancia de 0.13 el cual representa la densidad óptica estándar del patrón 0.5 de la escala de Mc Farland y equivale a una concentración bacteriana de 10^8 UFC/mL para ello se debe añadir colonias o solución salina estéril según se necesite.



Una vez alcanzado el 0.13 se le denomina a la solución “**pre-inóculo**”.



Verter 1mL de pre-inóculo en 9mL de medio de cultivo LB estéril. para formar el



Incubar los 10mL de inóculo por 18h a 37°C.

Figura 11. Procedimiento para la preparación del inóculo.

Anexo B. Cálculos

1. Concentración de bacterias UFC/mL

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

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

Ejemplo:

En la muestra 2 el recuento de la dilución 10^{-5} es de 6, 8 y 12 colonias en cada gota.

$$\frac{6+8+12}{3} = 8,67 \frac{UFC}{10\mu L} \quad (Ec. 1)$$

$$8,67 \frac{UFC}{10\mu L} * \frac{1000\mu L}{1mL} = 8,67 * 10^2 \frac{UFC}{mL} \quad (Ec. 2)$$

$$8,67 * 10^2 \frac{UFC}{mL} * \frac{1}{10^{-5}} = 8,67 * 10^7 \quad (Ec. 3)$$

La dilución 10^{-5} de la muestra 2 tiene una concentración de 8.67×10^7 UFC/mL.

2. Volumen de ácido clorhídrico fumante para regular el pH de la suspensión

A continuación, mediante un ejemplo se presentan los cálculos correspondientes a la cantidad de solución de ácido clorhídrico fumante al 37% necesarios para regular el pH de la suspensión de TiO_2 a un valor de 3.

En este caso, el pH obtenido es 5,9 para 5L de suspensión, y se lleva a cabo el siguiente procedimiento.

1. Calcular la concentración de iones hidrógeno $[H^+]$ de la suspensión.

$$pH = -\text{Log}[H^+] \quad (\text{Ec. 4})$$

$$[H^+] = 10^{-pH} \quad (\text{Ec. 5})$$

$$[H^+] = 10^{-pH} = 10^{-5.9} \quad (\text{Ec. 6})$$

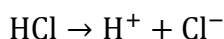
$$[H^+] = 1,25893E - 06 \frac{\text{mol}}{L} * 5L = 6,29463 * 10^{-6} \text{mol} \quad (\text{Ec. 7})$$

2. Calcular $[H^+]$ de la suspensión deseada.

$$[H^+] = 10^{-pH} = 10^{-3} \quad (\text{Ec. 8})$$

$$[H^+] = 0,001 \frac{\text{mol}}{L} * 5L = 0,005 \text{mol} \quad (\text{Ec. 9})$$

3. Teniendo en cuenta que la reacción del ácido clorhídrico es la siguiente, calcular la cantidad de ácido clorhídrico fumante al 37% necesario para llevar la suspensión a un pH de 3.



$$\Delta[H^+] = HCl = 0,005 - (6,29463E - 06) = 0,00499 \text{mol} \quad (\text{Ec. 10})$$

$$0,00499 \text{mol HCl} * \frac{36,5g \text{ HCl}}{1 \text{mol HCl}} * \frac{100g \text{ H}_2\text{O}}{37g \text{ HCl}} * \frac{1 \text{mL Sln}}{1,14g \text{ Sln}} = 0,43 \text{mL} \quad (\text{Ec. 11})$$

4. Sin embargo, por precaución y facilidad de uso, se recomienda preparar una solución de ácido clorhídrico al 13%.

$$\frac{3,3966g \text{ HCl}}{9,18g \text{ Sln} + 16,9477g \text{ H}_2\text{O}} * 100 = 13\% \text{ p/p} \quad (\text{Ec. 12})$$

$$9,18g \text{ Sln} * \frac{1 \text{mL Sln}}{1,14g \text{ Sln}} = 8,05263 \text{mL Sln al } 37\% \quad (\text{Ec. 13})$$

$$16,9477g \text{ H}_2\text{O} * \frac{1 \text{mL H}_2\text{O}}{1g \text{ H}_2\text{O}} = 16,9477 \text{mL H}_2\text{O} \quad (\text{Ec. 14})$$

$$8,05263 \text{mL Sln al } 37\% + 16,9477 \text{mL H}_2\text{O} = 25,0003 \text{mL Sln al } 13 \quad (\text{Ec. 15})$$

5. Calcular la cantidad necesaria de ácido clorhídrico fumante al 13%.

$$0,00499 \text{ mol HCl} * \frac{36,5 \text{ g HCl}}{1 \text{ mol HCl}} * \frac{1 \text{ g H}_2\text{O}}{0,13 \text{ g HCl}} = 1,40 \text{ g Sln al 13\% (Ec. 16)}$$

Se supone que la densidad es aproximadamente 1g/mL, por lo que se estima que debemos agregar 1,4mL de solución de ácido clorhídrico fumante al 13%.

Anexo C. Procedimiento para la realización de la curva de crecimiento de los microorganismos

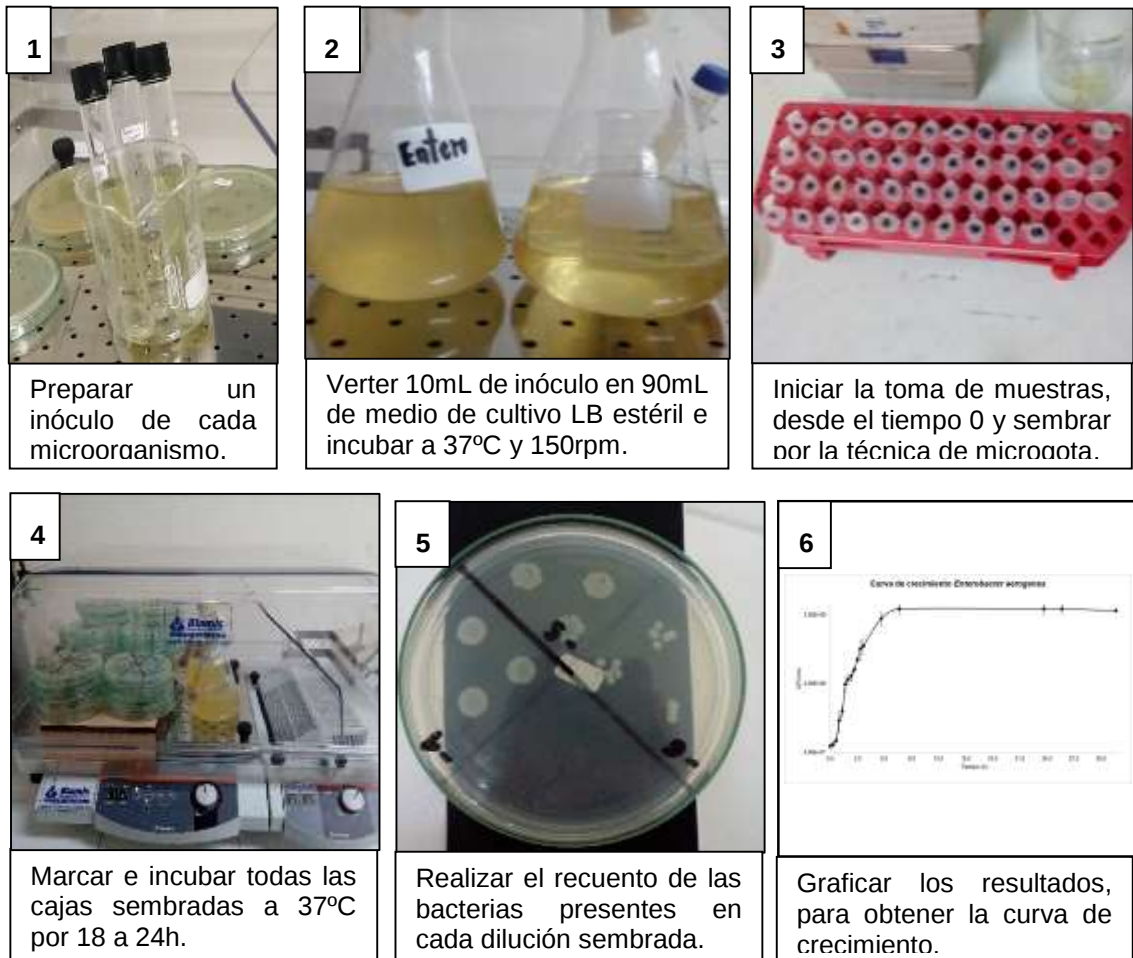


Figura 12. Procedimiento para la realización de las curvas de crecimiento.

Anexo D. Proceso de inmovilización de textiles con TiO_2

			LAVADO DE LOS TEXTILES														
1 			2 Lavar los textiles en una solución de NaOH, al 0.2M, 600rpm para retirar los aditivos del textil, en tres soluciones diferentes, cada una por 2 min.			3 											
Pesar cada textil de 3x3cm, por triplicado.						Secar en el horno a 100°C por 1h y pesar cada textil por triplicado. nuevamente.											
PREPARACIÓN SUSPENSIÓN																	
4 						5 						6 					
Preparar una suspensión 0.4gTiO₂/L, con base en la relación: 65mL por un textil.						Homogeneizar la suspensión en el Ultra Turrax por 30min a						Regular el pH de la suspensión a un valor 3 con una solución de HCl.					

7 	8 	9 
Distribuir los textiles de tal forma que no se rocen entre ellos y realizar la inmersión.	Realizar la inmersión por 1h en agitación y con fotoactivación.	Secar a 100°C por 1h y llevar a choque térmico a 120°C por 10min en el
10 	INMOVILIZACIÓN CON TiO₂	
Realizar un baño ultrasónico a los textiles durante 15min.	11 Repetir los pasos de: - Regulación del pH de la suspensión. - Inmersión de los textiles por 1h con agitación y fotoactivación. - Secado y choque térmico. - Baño ultrasónico.	
12 	Secar los textiles al aire libre y pesar cada uno por triplicado.	

Figura 13. Proceso detallado de la inmovilización de textiles 3x3cm con TiO₂.

Anexo E. Procedimiento de diluciones seriadas y siembra por microgota

Las diluciones seriadas consisten en llenar cierta cantidad de tubos Eppendorf con 900µL de solución salina estéril al 0.85% cada uno. Inicialmente, se toma una muestra de 100µL de la solución a analizar y se añade al primer tubo (dilución 10^{-1}), luego de este tubo se toma nuevamente una muestra de 100µL y se añade al segundo tubo (dilución 10^{-2}). Este paso se repite hasta alcanzar la dilución deseada. Finalmente, de cada dilución se siembran 3 gotas de 10µL en agar Plate Count, esta técnica se conoce como microgota y se usa para disminuir el volumen de las muestras. En la Figura 14 y Figura 15 se puede observar gráficamente el procedimiento.

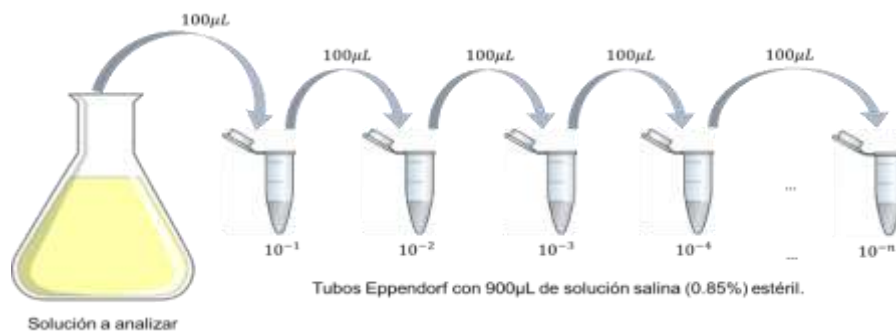


Figura 14. Diluciones seriadas.

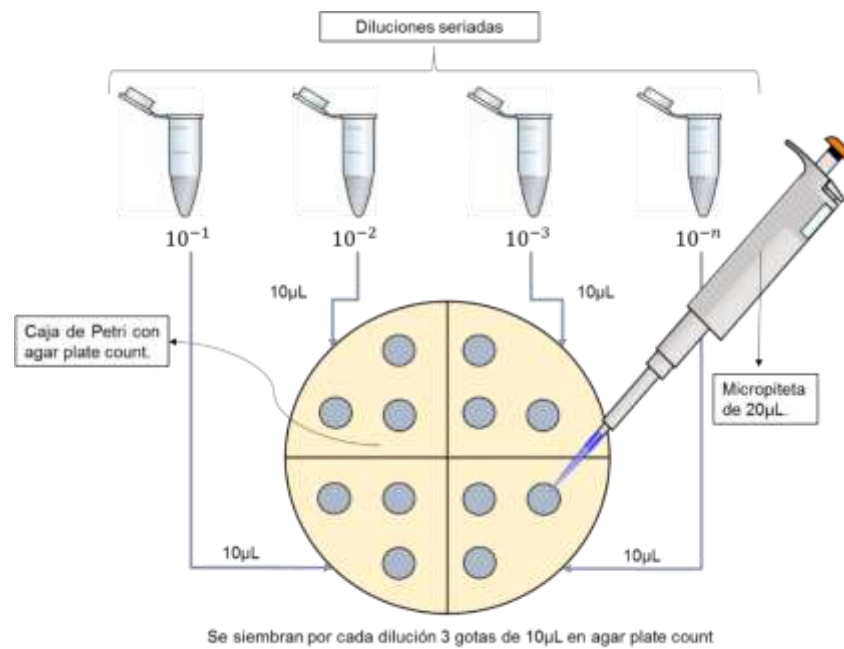


Figura 15. Siembra por técnica de microgota.

Anexo F. Pruebas de fotodesinfección del agua contaminada con coliformes

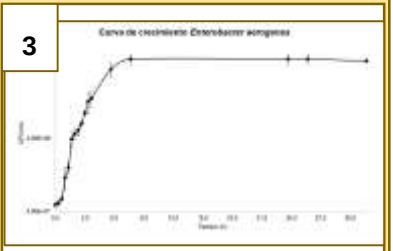
1  Preparar un inóculo de cada microorganismo.	2  Verter 5mL de inóculo en 45mL de medio de cultivo LB estéril e incubar a 37°C y 150rpm.	3  Tomar en el tiempo correspondiente a la fase a evaluar en cada uno de los microorganismos, cuatro (4) volúmenes de 1mL de medio de cultivo LB inoculado en tubos Eppendorf.
4  Centrifugar a 1300rpm por 15min para formar un pellet de la bacteria.	5  Retirar el sobrenadante, añadir 1mL de solución salina estéril y agitar	6 Los pasos 4 y 5 se repiten una vez más, y esta es la solución bacteriana. PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN BACTERIANA



Figura 16. Procedimiento para llevar a cabo las pruebas de desinfección del agua contaminada con coliformes.

Anexo G. Informe de resultados. Análisis de agua natural, vereda Santa Rosa, Lebrija.

Tabla 1. Análisis de resultados. Vereda Santa Rosa.

ANÁLISIS DE RESULTADOS				
Vereda Santa Rosa (Punto captación)				
CÓDIGO LAB	PARÁMETRO	MÉTODO	UNIDADES	RESULTADO
18-0215	Carbono orgánico total	Standard Methods 5310B	mg C/L	10
18-0215	**Cromo total	Absorción Atómica - Standard Methods 3030 E y 3111 B	mg Cr/L	<0,05
18-0215	**Mercurio total	Standard Methods 3111 B	mg Hg/L	<0,0005
18-0215	**Plomo total	Absorción atómica Standard Methods 3030 E y 3111 B	mg/L Pb	<0,05
18-0215	**Arsénico total	Standard Methods 3114 C	Mg As/L	<0,005
18-0215	**Cadmio total	Standard Methods 3030 E, 3111 B	Mg Cd/L	<0,005
18-0215	**Níquel total	Absorción atómica Standard Methods 3030 E y 3111 B	Mg Ni/L	<0,05
18-0215	**Selenio total	Standard Methods 3114 B	Mg Se/L	<0,003
18-0215	**Cianuro total	Standard Methods 4500-CNF	Mg/L CN	<0,010
18-0215	**Coliformes totales	Filtración membrana	UFC/100mL	140
18-0215	** <i>E. coli</i>	Filtración membrana	UFC/100mL	0
18-0215	Mesófilos	Filtración membrana	UFC/100mL	11

Tomado de: Formato informe de resultados [31].

Anexo H. Curvas de fotodesinfección de los microorganismos *Enterobacter aerogenes* y *E. coli*

Figura 17. Fotodesinfección de *Enterobacter aerogenes* en su fase de crecimiento exponencial F1, mediante el proceso de fotocátalisis, SODIS y oscuridad.

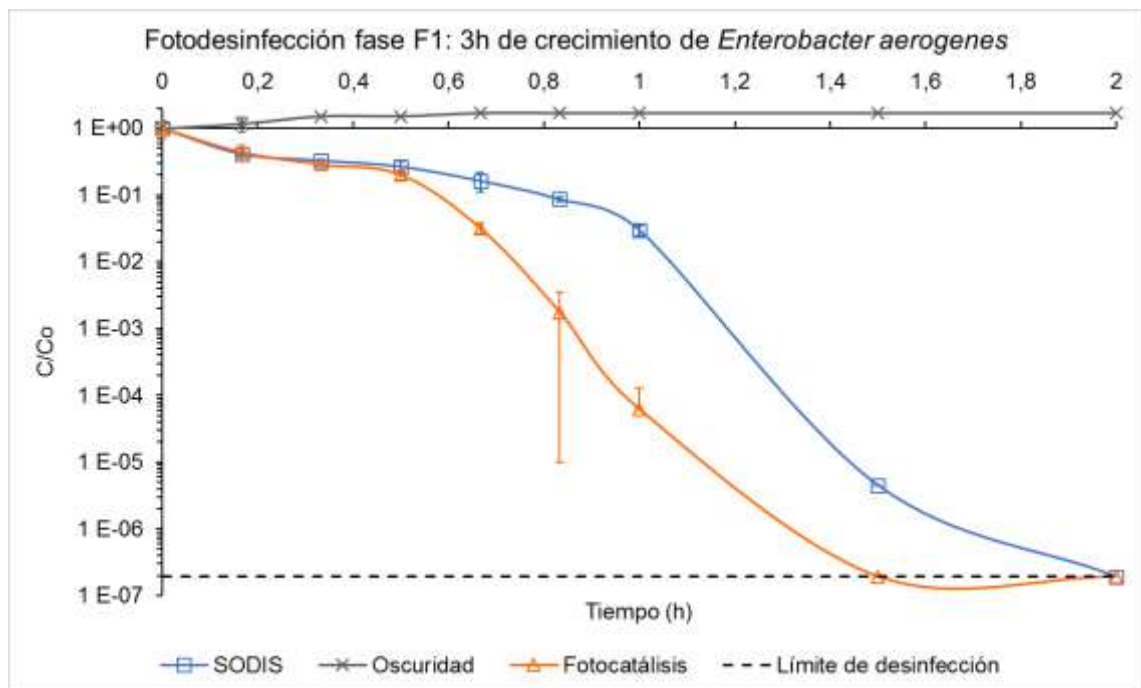


Figura 18. Fotodesinfección de *Enterobacter aerogenes* en su transición de fase de crecimiento exponencial a estacionaria F2, mediante el proceso de fotocátalisis, SODIS y oscuridad.

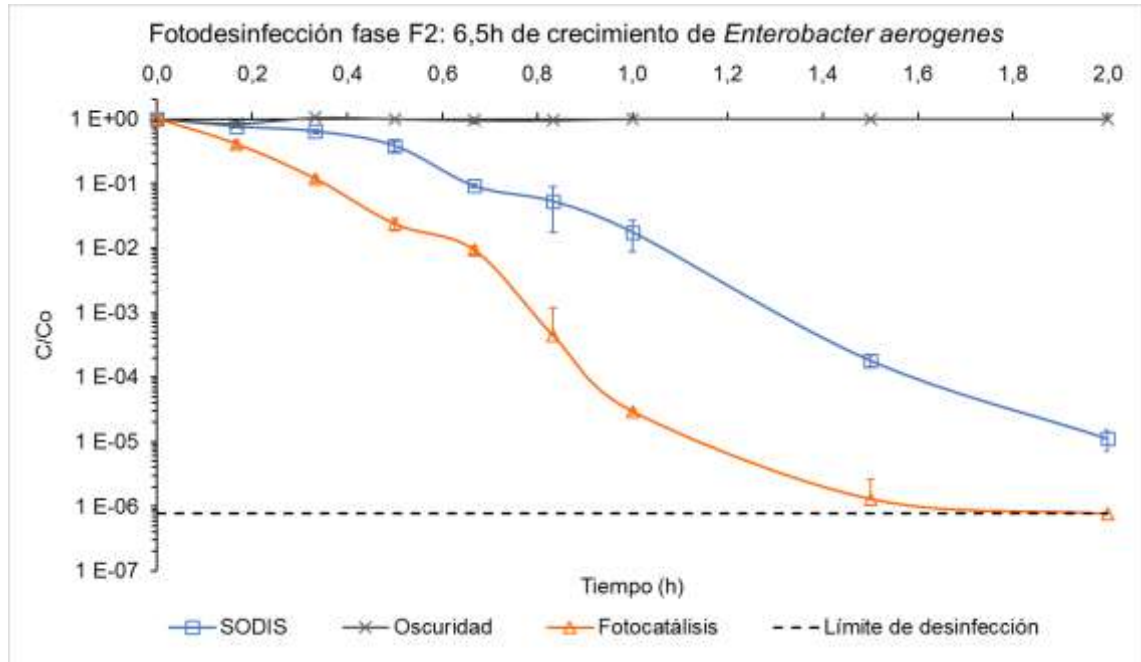


Figura 19. Fotodesinfección de *Enterobacter aerogenes* en su fase de crecimiento estacionaria F4, mediante el proceso de fotocátalisis, SODIS y oscuridad.

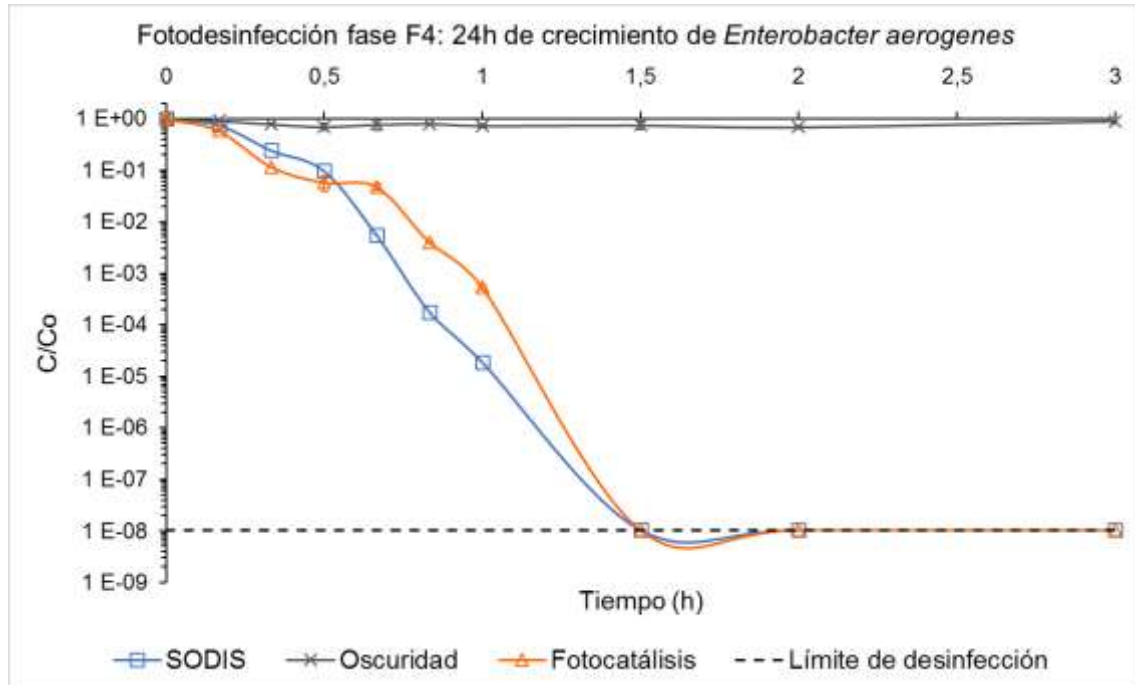


Figura 20. Fotodesinfección de *E. coli* en su fase de crecimiento exponencial F1, mediante el proceso de fotocátalisis, SODIS y oscuridad.

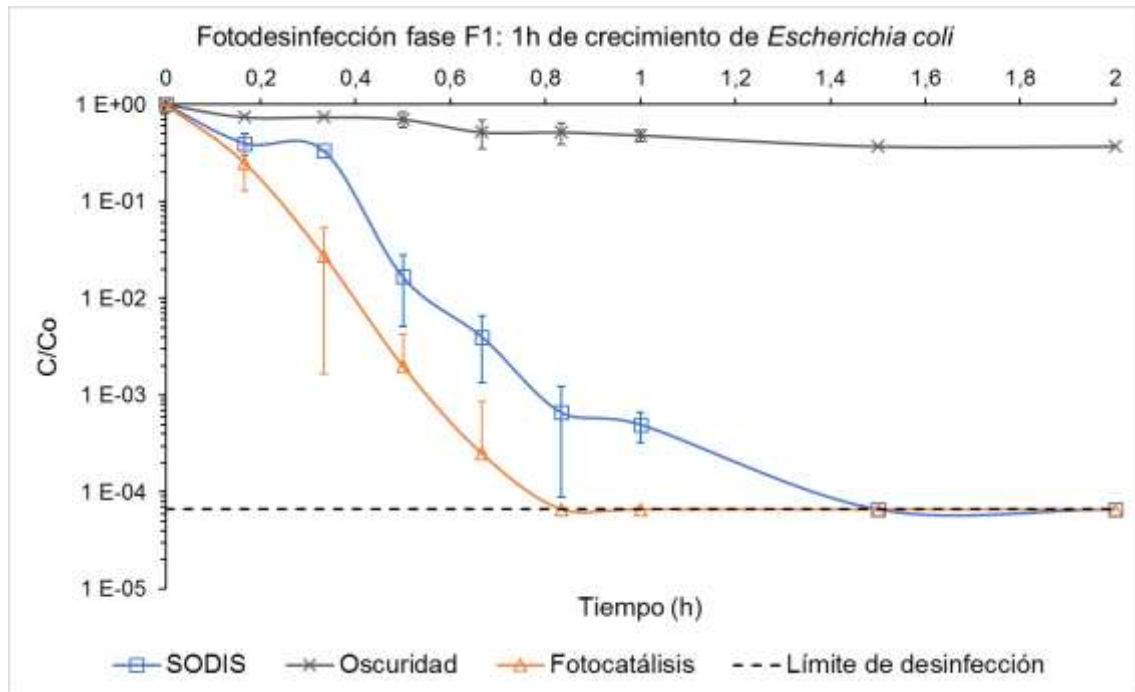


Figura 21. Fotodesinfección de *E. coli* en su fase de crecimiento estacionaria F2, mediante el proceso de fotocátalisis, SODIS y oscuridad.

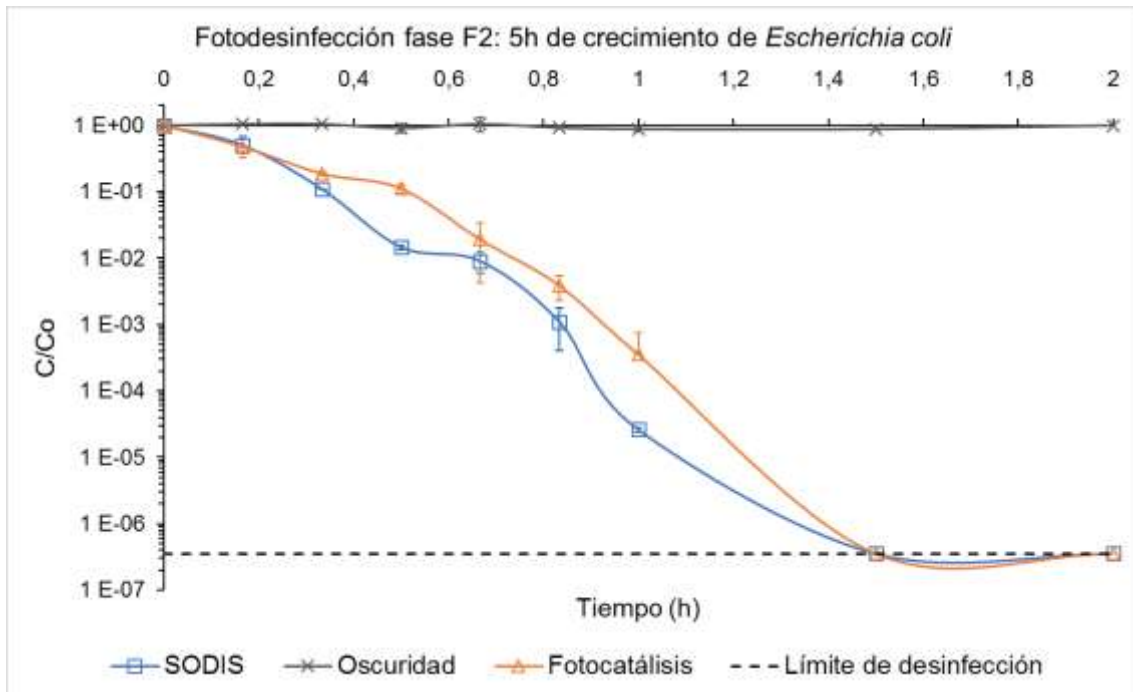


Figura 22. Fotodesinfección de Enterobacter aerogenes - E. coli en su relación R1, mediante el proceso de fotocátalisis, SODIS y oscuridad.

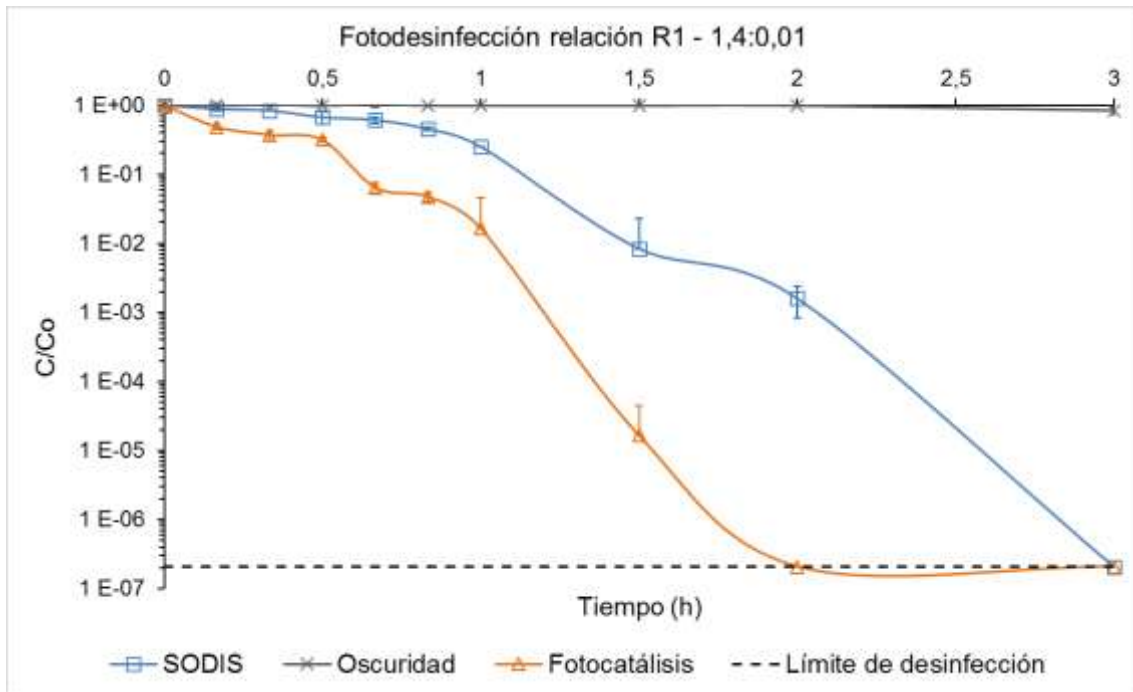


Figura 23. Fotodesinfección de *Enterobacter aerogenes* - *E. coli* en su relación R2, mediante el proceso de fotocátalisis, SODIS y oscuridad.

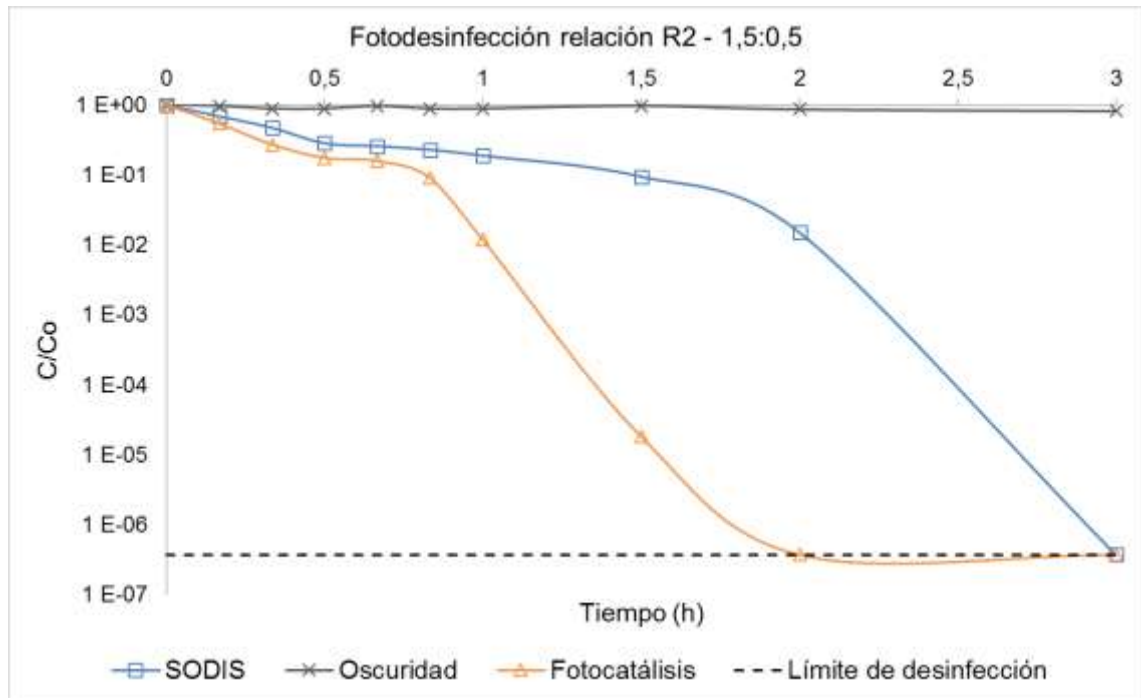


Figura 24. Fotodesinfección de *Enterobacter aerogenes* - *E. coli* en su relación R3, mediante el proceso de fotocátalisis, SODIS y oscuridad.

