

Fotocatálisis con TiO_2 /ultravioleta y TiO_2 CuSO_4 /visible como sistemas de desinfección para inactivar *E. coli* proveniente de agua residual doméstica.

Tesis presentada a

Pontificia Universidad Javeriana

Facultad de Ciencias

en cumplimiento de los requisitos para el grado de

Maestra en Ciencias Biológicas

Por

Carolina Villanueva Jaramillo

Microbióloga

Bajo la supervisión de:

Dra. Aura Marina Pedroza

Dr. Juan Carlos Salcedo

Asesores

Ana Karina Carrascal Camacho

Alex Enrique Florido Cuellar

Grupo de Biotecnología Ambiental e Industrial (GBAI)

Grupo de películas delgadas. Departamento de Física

Grupo de investigación de materiales semiconductores seperiónicos.

Pontificia Universidad Javeriana. Universidad del Tolima.

Bogotá, Colombia

Junio 2011

Junio 2011

Artículo 23 de la Resolución No. 13 de julio de 1946

“La Universidad no se hace responsable por los conceptos emitidos por sus alumnos en sus trabajos de tesis. Sólo velará por que no se publique nada contrario al dogma y a la moral católica y por que las tesis no contengan ataques personales contra persona alguna, antes bien se vea en ellas el anhelo de buscar la verdad y la justicia”.

Fotocatálisis con TiO_2 /ultravioleta y TiO_2 CuSO_4 /visible como sistemas de desinfección para inactivar *E. coli* proveniente de agua residual doméstica.

CAROLINA VILLANUEVA JARAMILLO

Dra. Aura Marina Pedroza PhD

Directora

Dr. Juan Carlos Salcedo PhD

Codirector

Dr. Camilo Jiménez

Dra. Refugio Rodríguez

Dra. Nadenka Melo

Fotocatálisis con TiO_2 /ultravioleta y TiO_2 CuSO_4 /visible como sistemas de desinfección para inactivar *E. coli* proveniente de agua residual doméstica.

CAROLINA VILLANUEVA JARAMILLO

Dra. Ingrid Schuler PhD

Decana

Dr. Manuel Antonio Franco MD PhD

Director de Posgrado

A mis padres que hicieron de mí la persona que soy hoy, por el amor, el apoyo y confianza que siempre me han dado. A mis hermanas que me aman tanto y siempre están para escucharme. A Luisda por su amor e infinita paciencia.

Agradecimientos

A la doctora Aura Marina Pedroza, Directora del laboratorio de Microbiología Ambiental y Suelos, por recibirme en su laboratorio y e inculcarme un espíritu investigativo, por sus enseñanzas y confianza.

Al Doctor Juan Carlos Salcedo, Director del Grupo de películas delgadas, por sus clases, charlas y sus orientaciones a nivel profesional.

A la Doctora de Ana Karina Carrascal, Directora del Laboratorio de Microbiología de Alimentos, por sus correcciones y apoyo profesional.

A todas las personas que pasaron por el laboratorio de Microbiología Ambiental y Suelos en este tiempo, por su amistad, enseñanzas y por hacer los días en el lab mas sencillos.

A toda mi familia y amigos por su amor y apoyo incondicional.

A la Pontificia Universidad Javeriana y el proyecto 3404 financiado por la Oficina de fomento a la investigación, por la realización de este proyecto.

Al Doctor Ciro Falcony Guajardo, a las maestras Ana Bertha Gúzman y Marcela Guerrero, del departamento de física del Centro de investigaciones y estudios avanzados del instituto politécnico nacional. México D.F. Por su colaboración en las observaciones en microscopio electrónico de barrido y la caracterización por difracción de rayos X.

Contenido

1. Alcance y definición del problema de Investigación	17
2.Marco Teórico	20
2.1. Generalidades de los semiconductores	20
2.2. Características del TiO ₂	22
2.3. Síntesis del TiO ₂	25
2.4. Fotocatálisis heterogénea	26
2.5. Elaboración de películas	27
2.6. Películas de TiO ₂ modificadas	29
2.7. Factores que afectan el proceso fotocatalítico	30
2.8. Procesos fotocatalíticos que involucran inactivación de <i>Escherichia coli</i>	31
2.9. Desinfección por método químico con cloro	34
2.10. Toxicidad en cuerpos de agua: bioensayos	34
3. Formulación del problema y justificación	36
3.1. Formulación del problema	36
3.2. Justificación	36
4. Objetivo General.....	37
4.1 Objetivos Específicos	37
5. Metodología.....	38
5.1. Organismo control: <i>Escherichia coli</i>	38
5.2. Caracterización de agua residual proveniente del sistema de lagunaje PTAR Subchoque.....	38
5.3. Preparación de películas de TiO ₂ técnica sol-gel acoplada a sedimentación.....	39
5.3.1. Preparación de solución de TiO ₂ USP y preparación de precursor amorfo de titanio.....	39
5.3.2.Crecimiento de películas	40
5.4. Caracterización física.....	40
5.4.1.Microscopia electrónica de Barrido	40
5.4.2. Difracción de rayos X	40
5.4.3.Barrido UV- Vis.....	41

5.5. Ensayos de inactivación para los tratamientos térmicos de las películas TiO ₂ /TiP, TiO ₂ /USP y TiP.	41
5.6. Selección de las condiciones de operación y curvas de inactivación fotocatalítica a dos concentraciones del microorganismo	42
5.6.1. Curvas de inactivación de <i>E. coli</i> en agua residual estéril	43
5.7. Protocolo de modificación para las películas de TiO ₂	44
5.7.1. Protocolos de modificación con urea y tiourea	44
5.7.2. Protocolo modificación CuSO ₄	45
5.8. Desinfección química con hipoclorito de sodio.....	46
5.9. Bioensayos	46
5.10. Ensayos de inactivación muestras no tratadas de cuenca alta, media y baja río Bogotá.....	47
6. Resultados y Discusión.....	48
6.1. Caracterización de Agua residual proveniente del sistema de lagunaje	48
6.2. Caracterización física de las películas TiO ₂ /TiP, TiO ₂ /USP y TiP.....	51
6.2.1 Microscopía electrónica de barrido (MEB).....	52
6.2.3. Difracción de rayos X (XRD)	62
6.2.4. Barrido UV-Vis	66
6.3. Ensayos de inactivación para la selección de la mejor temperatura de sinterizado. 68	
6.4. Diseño factorial 2 ²	74
6.3.1. Curvas de inactivación bajo condiciones seleccionadas y dos concentraciones iniciales de <i>E. coli</i> ATCC 8739.....	80
6.4. Protocolos de modificación	86
6.4.1. Microscopia electronica de barrido EU-ET/PU-PT/CuSO ₄	86
6.4.2. Difracción de rayos X (XRD)	91
6.4.3. Barrido UV-Vis	94
6.4.4. Inactivación de <i>E. coli</i> con protocolos de modificación	96
6.5 Desinfección química con hipoclorito de sodio.....	101
6.6. Bioensayos	102
6.7. Ensayos de inactivación muestras de cuenca alta, media y baja río Bogotá	108
7. Conclusiones.....	110

8. Recomendaciones	111
9. Bibliografía.....	112
10. Anexos	124
10.1 Participación en eventos	124
10.2 Documentos sometidos	124

Índice de Tablas

Tabla 1. Propiedades principales de las fases anatasa y rutilo del TiO ₂	24
Tabla 2. Pruebas físicas-químicas- microbiológicas en agua residual.	38
Tabla 3. Diseño factorial 2 ²	43
Tabla 4. Proporciones molares del TiO ₂ /TIP modificado con CuSO ₄	45
Tabla 5. Parámetros microbiológicos físicos y químicos agua de salida y entrada PTAR Subachoque.....	49
Tabla 6. Compuestos presentes en las películas elaboradas por sol-gel sinterizadas a diferentes temperaturas.	61
Tabla 7. Calculo del tamaño de grano l por el programa MAUD Películas TiP/TiO ₂	65
Tabla 8. Valores de Gap para películas elaboradas por sol-gel y control TiO ₂ USP.	67
Tabla 9. Porcentaje atómico de compuestos presenten en la superficie de películas realizadas con diferentes compuestos, por tres protocolos.....	91
Tabla 10. Bioensayos con <i>L. sativa</i> con diferentes tratamientos complementarios de desinfección para inactivación de <i>E. coli</i>	103
Tabla 11. Bioensayos con <i>Hydra attenueta</i> con diferentes tratamientos complementarios de desinfección para inactivación de <i>E. coli</i>	105
Tabla 12. Parámetros físicos, químicos y microbiológicos de muestras cuenca alta, media y baja río Bogotá.	109
Tabla 13. Inactivación de <i>E. coli</i> y coliformes con tratamientos fotocatalíticos con películas elaboradas por sol-gel y con películas modificadas.	109

Índice de Figuras

Figura 1. Estructura electrónica de bandas del ZnSe. Sobre esta relación de dispersión (típica) se definen algunos conceptos importantes correspondientes a la física de semiconductores (Salcedo-Reyes, 2008).....	21
Figura 2. Diagrama simplificado de energía de un semiconductor. Se muestra el proceso de absorción de un fotón de energía $h\nu$ y la generación de un par electrón-hueco.....	22
Figura 3. Estructura atómica del TiO_2 en fase anatasa. a) Las líneas verdes representan la celda unitaria y las líneas negras representan los enlaces iónicos y se muestran, además, las principales direcciones cristalográficas. b) Detalle de la estructura atómica donde se muestra un átomo de Ti^{4+} rodeado por seis átomos de O^{2-} en la estructura anatasa.	23
Figura 4. Estructura atómica del TiO_2 en fase rutilo. a) Las líneas verdes representan la celda unitaria y las líneas negras representan los enlaces iónicos y se muestran, además, las principales direcciones cristalográficas. b) Detalle de la estructura atómica donde se muestra un átomo de Ti^{4+} rodeado por seis átomos de O^{2-} en la estructura rutilo.....	24
Figura 5. Superficie del semiconductor TiO_2 con absorción directa de fotones con energía igual o superior a la banda ancha de energía prohibida, band gap (Candal <i>et al</i> , 2001; Grupo Tar, 2011).	27
Figura 6. Esquema de formación de películas a partir de técnica sol-gel y controles de la misma.	29
Figura 7. MEB de películas elaboradas por la técnica sol-gel, en aumento de 5000X.	55
Figura 8. MEB de películas elaboradas por la técnica sol-gel/ sedimentación, en aumento de 25000X.	56
Figura 9. MEB de películas elaboradas por la técnica sol-gel/sedimentación, en aumento de 50000X.	57
Figura 10. MEB de películas elaboradas con el control TiO_2 USP, en aumento de 25000X.	58
Figura 11. MEB de películas elaboradas por control con precursor TIP, en aumento de 5000X.	59
Figura 12. MEB de películas elaboradas por control con precursor TIP, en aumento de 20000X.	60

Figura 13. XRD de películas de TiO ₂ elaboradas a partir de la técnica sol-gel/sedimentación y sinterizadas a diferentes temperaturas; con control TIP. TIP.....	64
Figura 14. XRD de películas control con TiO ₂ USP sinterizadas a diferentes temperaturas; con control TIP (Rojas y Sánchez, 2009).....	65
Figura 15. Barrido UV-Vis de a: películas elaboradas pro la técnica sol-gel/sedimentación; b: películas con el control TiO ₂ USP.....	68
Figura 16. Porcentaje de inactivación de <i>E. coli</i> ATCC 8739 con películas TIP/TiO ₂ USP y fotólisis como control.	70
Figura 17. Inactivación de <i>E. coli</i> ATCC 8739 con diferentes tratamientos térmicos. Barras naranjas tratamiento TIP/TiO ₂ USP; barras rosadas representan tratamiento control TIP; barras moradas control con TiO ₂ USP.....	71
Figura 18. Porcentaje de desprendimiento de las películas TIP/TiO ₂ USP y los controles después del proceso fotocatalítico. Barras rojas representan TIP/TiO ₂ USP; barras verdes control TiO ₂ USP; barras azules control TIP.....	72
Figura 19. pH inicial y final de tratamientos fotocatalíticos con películas sinterizadas a diferentes temperaturas y el tratamiento de fotólisis. Barras en rojo representa pH final; Barra en verde pH inicial.....	74
Figura 20. Representación 3D del efecto del longitud de onda y el material del reactor sobre la inactivación de <i>E. coli</i> , con películas TIP/TiO ₂	76
Figura 21. Representación 3D del efecto del longitud de onda y el material del reactor sobre la inactivación de <i>E. coli</i> , con películas control TiO ₂ USP.	76
Figura 22. Porcentaje de inactivación <i>E.coli</i> ATCC 8739 a partir del diseño factorial 2 ² . Barras rojas: tratamientos sol-gel; barras verdes tratamiento control con TiO ₂ USP . Inactivación a 6 horas.	78
Figura 23. Espectro UV-vis a) luz UV; b) luz visible.	79
Figura 24. Espectro de absorción de vidrio cuarzo y pyrex	79
Figura 25. Curvas de inactivación de <i>E. coli</i> en altas y bajas concentraciones de absorción, fotólisis y fotocatalisis con películas TIP/TiO ₂ USP a: curvas altas cargas de absorción (rojo), fotocatalisis (azul), fotolisis; b : curvas bajas cargas de absorción (rojo), fotocatalisis (verde), fotolisis (azul); c: pH de cinéticas altas cargas de absorción (rojo), fotocatalisis (azul), fotolisis; y d: pH de curvas altas cargas de absorción (rojo), fotocatalisis (verde), fotolisis (azul).....	84

Figura 26. Curvas de inactivación de <i>E. coli</i> en altas y bajas concentraciones de absorción, fotólisis y fotocatalisis con películas elaboradas por el control TiO ₂ USP. a: curvas altas cargas de absorción (rojo), fotocatalisis (azul), fotólisis; b : curvas bajas cargas de absorción (rojo), fotocatalisis (verde), fotólisis (azul); c: pH de curvas altas cargas de absorción (rojo), fotocatalisis (azul), fotólisis; y d: pH de curvas altas cargas de absorción (rojo), fotocatalisis (verde), fotólisis (azul).....	86
Figura 27. MEB de películas modificadas EU y ET. a.b.c : películas EU a 5000X, 10000X y 50000X; d.e.f: películas ET a 5000X, 10000X y 50000X	88
Figura 28. MEB de películas modificadas PU y PT. a.b.c : películas EU a 5000X, 10000X y 50000X; d.e.f: películas ET a 5000X, 10000X y 50000X.	89
Figura 29. MEB de películas modificadas con CuSO ₄ . a.b.c: películas con 0.05g CuSO ₄ a 5000X, 20000X y 100000X, d.e.f: películas con 0.0375 g de CuSO ₄ . G.h.i: películas con 0.025g CuSO ₄ a 5000X, 20000X y 100000X.....	90
Figura 30. XRD de películas preliminares modificadas con urea y tiourea. EU: Erin urea; ET: Erin tiourea; PU: Pulgarín urea; PT: Pulgarín tiourea.....	93
Figura 31. XRD de películas modificadas con CuSO ₄ . Baja: (Ti: 0.03, Cu ₂ : 0.0011, S: 0.00032 moles); Intermedia: (Ti: 0.03, Cu ₂ : 0.0018, S: 0.00032 moles); y alta : (Ti: 0.03, Cu ₂ : 0.0025, S: 0.00063 moles).....	94
Figura 32. Barrido UV-Vis protocolo de modificación con CuSO ₄ . Línea azul representa control con película TIP/TiO ₂ USP sinterizada a 450°C, gap 3.28 eV. Línea roja representa concentración molar intermedia (Ti: 0.03, Cu: 0.0018, S: 0.00032 moles) gap 3.08 eV; línea negra concentración molar baja (Ti: 0.03, Cu: 0.0011, S: 0.00032 moles), gap 3.12 eV; línea verde concentración molar alta (Ti: 0.03, Cu: 0.0025, S: 0.00063 moles), gap 3.21 eV.	96
Figura 33. Recuentos iniciales y finales con tratamientos preliminares de dopaje utilizando urea y tiourea.	97
Figura 34. Porcentajes de inactivación de <i>E.coli</i> ATCC 8739 con películas elaboradas a partir de diferentes concentraciones molares de CuSO ₄ y TIP/TiO ₂ USP.....	98
Figura 35. Curva de inactivación de <i>E.coli</i> ATCC 8739, de TiO ₂ modificado con CuSO ₄ .: líneas verdes representan fotocatalisis con TiO ₂ modificado con CuSO ₄ ; líneas rojas representan control de adsorción de TiO ₂ modificado con CuSO ₄	100
Figura 36. Curva de inactivación de desinfección con cloro, comparado con el tratamiento fotocatalítico con películas elaboradas por sol-gel y películas modificadas con CuSO ₄ .	

Líneas rojas representan cloración-, líneas azules tratamiento con películas TIP/USP; líneas verdes tratamiento con películas TiO₂ modificadas con CuSO₄. 102

Resumen

El proceso de interés fue la fotocatalisis heterogénea con TiO_2 . Se elaboraron películas con el TiO_2 sinterizadas a diferentes temperaturas, por la técnica sol-gel/sedimentación. Se realizó una caracterización física mediante: XRD, SEM, barrido UV-Vis y EDS. Por XRD se encontró para películas sol-gel la fase cristalina anatasa con planos (101), (004), (200), (105) y (211) el control TiO_2 USP presentó las fases anatasa y rutilo. La mayor formación de agregados se observó en películas control TiO_2 USP. Para películas sol-gel el gap varió de 3.2 a 3.2 eV y para el control fue de 3.1 eV. Los porcentaje de los compuestos en las películas varió con la temperatura de sinterizado. Se evaluaron los tratamientos fotocatalíticos frente a *E. coli* con las películas sinterizadas a diferentes temperaturas, encontrando la mayor inactivación (70.87%) con las sinterizadas a 450°C. Se realizó una selección de las mejores condiciones de operación del material de reactor (pyrex-cuarzo) y la fuente de luz (UV-Vis) donde se obtuvo la mayor inactivación con la combinación pyrex/UV (p 0.028 y <0.0001). Se realizaron curvas de inactivación fotocatalítica con diferentes concentraciones del microorganismo, logrando reducciones de hasta 6 órdenes de magnitud. Se desarrolló un protocolo para la modificación de las películas de TiO_2 con diferentes compuestos, urea, tiourea y sulfato de cobre, utilizando lámparas fluorescentes; donde la modificación con CuSO_4 (Ti: 0.03; Cu: 0.0018; S: 0.00051 moles) permitió obtener porcentajes hasta del 99.95 % de inactivación de *E.coli* a los 360 minutos. Se comparó la efectividad del tratamiento fotocatalítico con respecto a la desinfección con NaClO , encontrando 99.95 % de inactivación de *E. coli* a los 30 minutos. La toxicidad de los tratamientos se evaluó con los organismos *Lactuca sativa* e *Hydra attenuata*, siendo este último el más sensible frente a los tratamientos evaluados. Se retaron los sistemas a aguas crudas sin tratar, encontrando 100% y 85% de inactivación de *E. coli* con fotocatalisis en películas modificadas y fotocatalisis por sol-gel, respectivamente.

Palabras clave: Fotocatalisis, TiO_2 , *E. coli*, sol-gel, CuSO_4 .

Abstract

Photocatalysis heterogenous with TiO₂ was the process. TiO₂ films were prepared by sol-gel/sedimentation (TIP/TiO₂ USP) and were annealing at different temperatures. Later, the films were characterized by XRD, SEM, UV-Vis scanning and EDS. The XRD of the films TIP/TiO₂ USP showed anatase as the only crystallographic phase with planes (101), (004), (200), (105) y (211), control films with TiO₂ USP showed anatase and rutile phases; the same control had the highest aggregates formation. The gap values for films TIP/TiO₂USP and control were 3.1-3.2 and 3.1 eV, respectively. The percentages of compounds in the films varied according to the annealing temperature. Photocatalytic treatments included films annealing at different temperatures and *E. coli* as answer; the greatest percentage to inactivation (70.87%) was with the films annealing to 450 °C. The best conditions of reactor and light source were selected from pyrex/quartz and UV/visible spectrum, respectively; highest inactivation was achieved pyrex/UV (p 0.028 and <0.0001). inactivation curves were carried out with different concentration of *E. coli*, reduction were achieved up 6 magnitude orders. One modification protocol was carried out with different compounds (urea, thiourea and copper sulphate) and fluorescent light; modification with CuSO₄ (Ti: 0.03; Cu: 0.0018; S: 0.00051 moles) yield 99.95 % *E. coli* inactivation in 360 minutes. The effectiveness of the photocatalitic treatment was compared with NaClO disinfection, this one showing up to 99.95% *E.coli* inactivation at 30 minutes. The toxicity of the treatment was evaluated with the use of *Lactuca sativa* e *Hydra attenuate* organisms, the most sensitive to the treatments was *Hydra attenuate*. The photocatalytic systems were put to test in waste water; it was found that 100% and 85% of *E .coli* inactivation with modified films and sol-gel films respectively.

Key words: Photocatalysis, TiO₂, *E. coli*, sol-gel, CuSO₄.

1. Alcance y definición del problema de Investigación

El río Bogotá recorre aproximadamente 336 Km, desde su nacimiento en la población de Villapinzón hasta su desembocadura en el río Magdalena (CAR, 2006). En sus orígenes la calidad hídrica es buena en cuanto a carga microbiana, contaminación por procesos de eutricación, pero conforme se acerca a los municipios de la cuenca alta, la calidad empieza a disminuir, por gran cantidad de agentes contaminantes de origen químico y biológico que son vertidos en su cauce (CAR, 2009).

La Corporación Autónoma Regional (CAR) ha mostrado la importancia de la recuperación del río Bogotá, iniciando diferentes obras que involucran la descontaminación y tratamiento de aguas residuales que son conducidas a este. Las fuentes domésticas, las actividades industriales, las comerciales y las agrícolas conforman este tipo de aguas residuales, que aportan de manera significativa diferentes compuestos inorgánicos, orgánicos y microorganismos de origen fecal (Alarcón *et. Al.*, 2005).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha establecido que la calidad del agua se puede evaluar a través de diversos microorganismos que son indicadores de contaminación fecal debido a que estos conservan una relación directa con microorganismos patógenos que se pueden encontrar en aguas residuales difíciles de identificar y cuantificar (Campos., *et al.* 2008). *Escherichia coli* es una de las bacterias claves para establecer parámetros microbiológicos de calidad de agua, siendo un indicador de contaminación fecal, ya que cumple con diferentes características, como hacer parte de la carga intestinal de organismos sanos, estar presente cuando hay patógenos intestinales lo están y siendo un agente es fácil de cuantificar (Campos., *et al.* 2008; Camacho *et al.*, 2009).

Esta bacteria se encuentra en el tracto intestinal de animales de sangre caliente; adicionalmente, presenta diversas serotipos que son patógenas y son causantes de diversas infecciones desarrolladas en el hombre (Nataro y Kaper, 1998).

La presencia de *E. coli*, como agente indicador de otros patógenos de origen fecal, puede limitar el uso de aguas residuales provenientes de plantas de tratamiento que son vertidas a

cuencas que utilizan poblaciones aledañas; ya que este tipo de agua es usada para sistemas de regadío y para fines agrícolas (Castillo *et al.*, 2003). En el caso de Colombia para aguas de uso agrícola (con restricciones) con tratamiento convencional, la presencia de coliformes totales no puede exceder 20000 NMP/100 ml, y para frutas que se consuman con cascara y hortalizas de tallo corto este valor se restringe a 5000 NMP/100 ml para estos mismo microorganismo y a 1000 NMP/100 ml para coliformes fecales (CAR, 2006).

Estudios previos realizados a lo largo del río Bogotá reportaron la presencia de coliformes totales por encima de los parámetros establecidos por la CAR (2006) para agua con uso agrícola; por lo tanto se deben implementar métodos para reducir la presencia de este tipo de microorganismos, ya que *E. coli* se relaciona directamente con otros patógenos, y es una bacteria que permite evaluar la eficiencia de un proceso o un tratamiento en sistemas de desinfección.

Dentro de las alternativas en tratamientos para la desinfección de agua se encuentran los procesos de oxidación avanzada (POAs), los cuales representan una opción novedosa para la eliminación de compuestos orgánicos e inorgánicos de una manera eficiente. Así mismo presentan características que favorecen la descontaminación tales como: el tiempo reducido en la inactivación de microorganismos, la menor generación de lodos, menor efecto residual toxicológico, mineralización completa de compuestos, tratamiento de contaminantes en baja concentración, la mínima formación de subproductos que permiten el uso de luz solar como fuente de energía (Urkiaga *et al.*, 2011; Aqua Latina, 2010).

Los POAs son procesos de desinfección y se definen como “procesos fisicoquímicos que producen cambios profundos en la estructura química de un contaminante o microorganismo” (Aqua latina, 2010), en donde se da la formación de diferentes especies reactivas, con poder oxidante y reductor, siendo de especial interés los radicales hidroxilo (OH°), los cuales tienen un potencial de oxidación de 2.8 V y una velocidad de reacción entre 10^6 o 10^{12} , superior a la velocidad de otros especies (Jaramillo y Taborda, 2006). Los POAs se pueden dividir en dos clases: los procesos en los que se necesita una excitación fotónica dentro de los cuales se encuentran la fotólisis, ozonización

fotocatalítica (O_3/UV), Fotofenton ($Fe_2^+/H_2O_2/UV$), H_2O_2/UV y fotocátalisis (TiO_2/UV , $TiO_2/UV/O_3$, $TiO_2/UV/Fenton$) y los procesos en los que no se requiere una excitación fotónica como la ozonización (O_3/H_2O), Fenton (Fe_2/H_2O_2) y oxidación electroquímica; y (Garcés *et al.*, 2004).

A su vez, para los procesos con la excitación fotónica se definen dos tipos de procesos: la fotocátalisis homogénea, en la cual se presenta un consumo del oxidante (tipo fentón); y la fotocátalisis heterogénea, en la que se usa un semiconductor fotocatalítico que “se mantiene activo durante largos periodos de tiempo” (Ede, 2006). En esta última se permite la recuperación del material, lo cual permite su manipulación y la optimización del proceso en cuanto a la producción de radicales OH° , mejorando así la degradación de compuestos tanto orgánicos como inorgánicos (Sarria, 2005). Por otro lado se espera que con este tipo de procesos de desinfección haya una reducción microorganismos de al menos dos órdenes de magnitud.

Debido a la posibilidad de funcionalización y/o modificación del TiO_2 , recientemente gran parte de la investigación básica en el área de la fotocátalisis se ha centrado en la posibilidad de que la foto-excitación se lleve a cabo con radiación visible acuñando, de esta manera, el término de fotocátalisis de segunda generación, fotocátalisis/VIS (visible) o fotocátalisis solar, debido a la posibilidad de llevar a cabo procesos de fotocátalisis usando la radiación electromagnética proveniente del sol. De esta manera, la síntesis de TiO_2 meso y nano-estructurado y el dopamiento de TiO_2 con materiales no metálicos, con metales de transición o con gases nobles abre la posibilidad de optimizar las características del TiO_2 y hacer más eficiente el proceso de fotocátalisis lo cual puede permitir su desarrollo a gran escala con plantas de tratamiento a gran escala en las que la luz solar será la fuente principal de radiación disminuyendo de esta manera los costos operativos de la tecnología y estableciéndose como una alternativa en procesos de desinfección dentro del concepto de tecnología limpia y segura.

2.Marco Teórico

2.1. Generalidades de los semiconductores

La descripción mecánico-cuántica de las propiedades ópticas y electrónicas de los sólidos cristalinos se hace mediante la teoría de la estructura electrónica de bandas del material. A partir de esta estructura de bandas, que no es otra cosa que la relación de dispersión entre la energía de un electrón (aproximación uni-electrónica) que se propaga en el interior del sólido cristalino y su correspondiente vector de onda y es fuertemente dependiente de la estructura cristalina del material, se definen conceptos básicos tales como: Bandas de energía, brecha de energía prohibida, pares electrón-hueco, diagrama simplificado de energía.

Con el fin de introducir dichos conceptos básicos en la física de materiales, en la figura 1 se muestra la estructura electrónica de bandas de un material típico (ZnSe, con estructura cristalina zincblenda). Se puede observar que existen ciertos intervalos de energía que el electrón puede adquirir (las bandas permitidas), mientras que existen otros intervalos de energía que, independientemente del valor del vector de onda que tenga (el eje horizontal), el electrón no puede adquirir (las bandas prohibidas). La banda menos negativa, en la que el electrón está ligado al núcleo, se define como la banda de valencia, y la banda de menor energía positiva, en la que el electrón no está ligado al núcleo, se define como la banda de conducción. El valor de energía menos negativo de la banda de valencia se designa con E_v y el menor valor de energía de la banda de conducción se denota como E_c . La diferencia de energía $E_g = E_c - E_v$ se conoce como la brecha de energía prohibida o simplemente el gap de energía, por su nombre en inglés: energy band gap. En función del valor de la brecha de energía, los sólidos cristalinos se pueden clasificar en: *i*) aislantes, cuando el valor de la brecha de energía es del orden de entre 3.5 eV y 6 eV, *ii*) conductores, cuando E_g es menor de 1 eV, *iii*) semiconductores, cuando el valor de la brecha de energía está entre 1 eV y 3.5 eV. A su vez los semiconductores con $2 \text{ eV} < E_g < 3.5 \text{ eV}$ se conocen como semiconductores de banda ancha (wide band gap semiconductors).

En el estado base del material ($T = 0\text{K}$) todos los materiales se comportan como aislantes, de modo que todos los electrones del material, siguiendo el principio de exclusión de Pauli, tienen energías que corresponden a las bandas de valencia y no hay ningún electrón con una energía que corresponda a las bandas de conducción. A medida que se aumenta la temperatura, de acuerdo a la función de probabilidades de Fermi-Dirac, algunos electrones pueden adquirir la suficiente energía como para que se puedan desligar del núcleo y, por lo tanto, su energía corresponde a un estado dentro de la banda de conducción, denotado generalmente como e^- . Cuando el electrón se desliga del núcleo, se genera un átomo ionizado y, por lo tanto, se observa la ausencia de un enlace covalente, asociado a la ausencia de un electrón en la banda de valencia, que se puede modelar como una pseudo-partícula con carga positiva llamada un hueco y, generalmente, denotado como h^+ . De esta manera, cuando un electrón en la banda de valencia recibe energía del medio, por ejemplo por la absorción de un fotón de cierta longitud de onda, y pasa (desde el punto de vista energético) a la banda de conducción se habla de la generación de un par electrón-hueco.

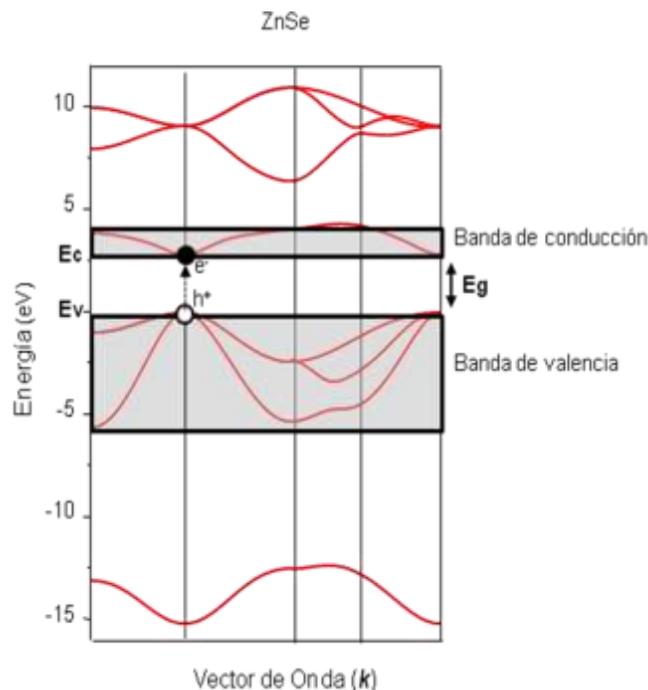


Figura 1. Estructura electrónica de bandas del ZnSe. Sobre esta relación de dispersión (típica) se definen algunos conceptos importantes correspondientes a la física de semiconductores (Salcedo-Reyes, 2008).

Se llama un semiconductor de gap directo cuando a E_c y E_v les corresponde un mismo valor de vector de onda, mientras que un semiconductor de gap indirecto es un semiconductor en el los valore de E_c y E_v no están en el mismo valor del vector de onda.

Dado que las principales propiedades ópticas y electrónicas de los semiconductores dependen principalmente de los valores específicos de E_c y E_v , frecuentemente la estructura electrónica de bandas de un semiconductor es simplificada por medio del diagrama simplificado de bandas, como se muestra en la figura 2. El eje vertical representa un eje de energía y las bandas de valencia y conducción se integran respecto al vector de onda. En la figura 2 se muestra, además, el proceso de generación de un par electrón-hueco cuando un fotón, de energía $h\nu > E_g$, interactúa con el semiconductor, donde h es la constante de planck y ν es la frecuencia.

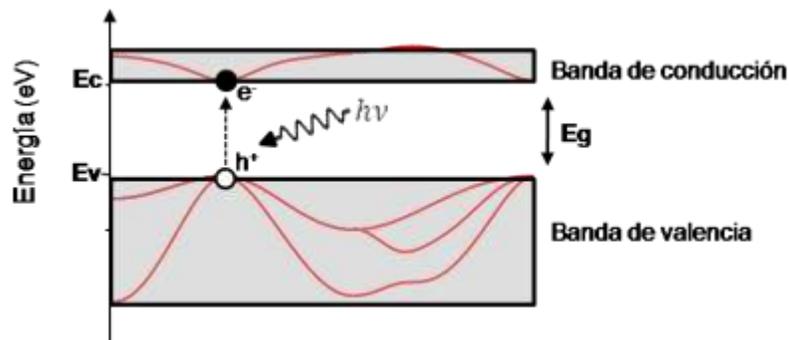


Figura 2. Diagrama simplificado de energía de un semiconductor. Se muestra el proceso de absorción de un fotón de energía $h\nu$ y la generación de un par electrón-hueco.

2.2. Características del TiO_2

Desde el punto de vista estructural el TiO_2 presenta, principalmente, dos fases: la fase anatasa (tetragonal, $a = 3.7842 \text{ \AA}$, $c = 9.5146 \text{ \AA}$) (figura 3) y la fase Rutilo (tetragonal, $a = 4.5845 \text{ \AA}$, $c = 2.9533 \text{ \AA}$) (figura 4), siendo la fase anatasa la más estable. Se ha encontrado, además, que en la fase anatasa la conversión de energía es más eficiente que en la fase rutilo (Mo, S. D. y Ching, W. Y. (1995).

El TiO_2 es un semiconductor altamente iónico, es decir no covalente, en el cuál las fuerzas electrostaticas atractivas entre el catión (Ti^{4+}) y el anión (O^{2-}) determinan la estabilidad del

crystal, in the sense that the system tends to maximize the number of first neighbors of charge opposite minimizing the energy of the structure. In the anatase phase, the Ti (oxidation number +4) tends to have 6 oxygen neighbors (oxidation number -2) and, in addition, tends to repel the Ti ions so that it has 4 second Ti neighbors. At the same time, each oxygen ion, due to its lower oxidation number, is surrounded by 3 first Ti neighbors (figure 3b). Due to the charge transfer between Ti and O in the anatase phase of TiO₂, the equatorial and axial ionic bonds are slightly different. In figure 4 the atomic configuration corresponding to the rutile phase is shown.

Theoretical calculations of the electronic band structure (Burdet *et al.*, 1987), show that TiO₂ in the anatase phase is an indirect band semiconductor with a band gap energy of (3.18 - 2.20) eV, while in the rutile phase it is a direct band semiconductor with a band gap energy of 3.0 eV (table 1). Unlike other wide band semiconductors, TiO₂ is very stable in the photo-excited state (electron-hole pair generation) and recombination occurs slowly, which makes it very suitable as a photocatalyst.

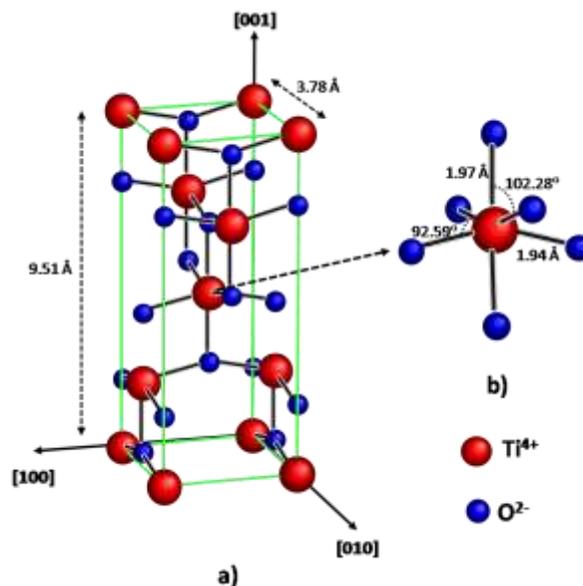


Figura 3. Estructura atómica del TiO₂ en fase anatasa. a) Las líneas verdes representan la celda unitaria y las líneas negras representan los enlaces iónicos y se muestran, además, las principales direcciones cristalográficas. b) Detalle de la estructura atómica donde se muestra un átomo de Ti⁴⁺ rodeado por seis átomos de O²⁻ en la estructura anatasa.

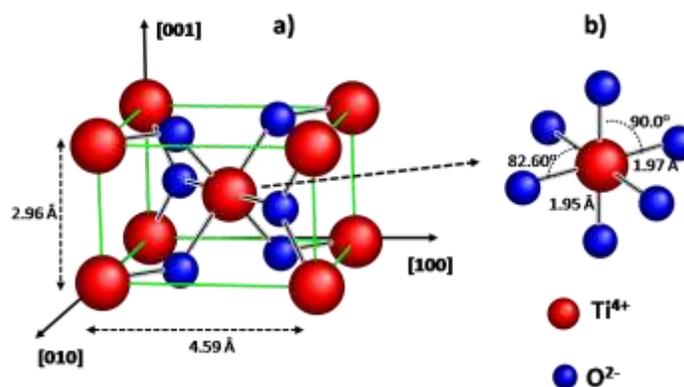


Figura 4. Estructura atómica del TiO_2 en fase rutilo. a) Las líneas verdes representan la celda unitaria y las líneas negras representan los enlaces iónicos y se muestran, además, las principales direcciones cristalográficas. b) Detalle de la estructura atómica donde se muestra un átomo de Ti^{4+} rodeado por seis átomos de O^{2-} en la estructura rutilo.

No obstante, por ser un semiconductor de gap indirecto, la fase anatasa presenta una mayor actividad fotocatalítica y absorbe radiación de mayor longitud de onda. Se ha reportado, sin embargo, la actividad fotocatalítica/VIS de TiO_2 en fase rutilo dopado con V, Cr, o N (Lu *et al.*, 2004). En la tabla 1 se resumen las principales propiedades físicas de las fases anatasa y rutilo del TiO_2 .

Tabla 1. Propiedades principales de las fases anatasa y rutilo del TiO_2 .

	Rutilo	Anatasa
E_g (eV)	3.0 (Asahi, 2001)	3.18 (Asahi, 2001)
	3.03 (Tang, 1995)	3.2 (Tang, 1995)
Índice de refracción n	2.60	2.48
Punto de fusión ($^{\circ}\text{C}$)	1850	1855
Densidad (g/cm^3)	4.27	3.89

En el caso del semiconductor TiO_2 su E_g cae dentro del espectro de luz ultravioleta, y dependiendo de la estructura cristalográfica que predomine, ya sea rutilo o anatasa, hay una leve variación de esta energía o longitud de onda, siendo de 3.0 eV y 3.2 eV

respectivamente (Ohno *et al.*, 2004); las cuales son las mínimas o suficientes energías para que se de la excitación y formación de pares e^-/h^+ (Zhao *et al.*, 2008; Kääriäinen *et al.*, 2009).

2.3. Síntesis del TiO_2

El compuesto TiO_2 se sintetiza a partir de diferentes técnicas que comprenden métodos en fase vapor o métodos en solución. Dentro de los métodos en fase vapor hay diferentes técnicas reportadas, siendo la oxidación en llama es la más frecuente por los bajos costos en producción.

En esta hay una “combustión del oxígeno (O_2) a partir de la mezcla de hidrógeno (H_2) y tetracloruro de titanio ($TiCl_4$)”, los tiempos en llama definen el tamaño de la partícula. Otros métodos en fase vapor son: plasma, haz de electrones, láser y aerosoles. Los métodos en solución son menos utilizados debido a sus altos costos, sin embargo se aplica en casos más específicos de experimentación en donde el material requiere de una alta caracterización (Candal *et al.*, 2004).

Diferentes casas comerciales son distribuidores de este compuesto, las cuales lo producen con características diferentes en cuanto a diámetro de las partículas individuales como agregados y superficie específica. El TiO_2 Degussa P-25 es el más reportado en procesos fotocatalíticos; se utilizan el TiO_2 de casas comerciales como Aldrich, Merck, Fischer, Fluka y Hombikat.

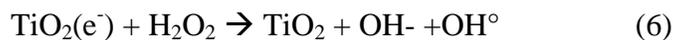
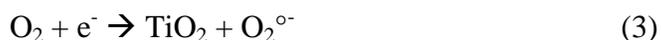
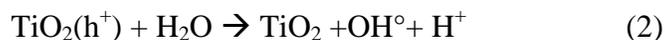
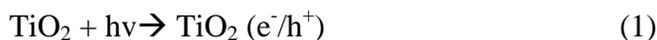
Dentro de las aplicaciones de TiO_2 esta la posibilidad de su uso en la degradación foto asistida de moléculas orgánicas e inactivación de microorganismos y estructuras de resistencia, ya que sus propiedades de semiconductor permiten que bajo la irradiación de luz UV se de la formación de pares electrón-hueco (e^-/h^+) en la superficie del compuesto, los cuales reaccionan con agua y oxígeno llevando a la producción de especies radicales. En este mecanismo los electrones (e^-) reaccionan con el oxígeno y de esta manera producen aniones superóxidos ($O_2^{\bullet-}$) y los huecos (h^+) reaccionan con el agua produciendo radicales

hidroxilos (OH*) que se encargaran de degradar los compuestos orgánicos (Diebold, 2003; Hafizah y Sopyan, 2009; Alrousan *et al.*, 2009). Adicionalmente, otras especies reactivas se generan a partir de estas reacciones como perxido de hidrógeno (H₂O₂) o ion hidrógeno (H⁺) (Sobczyński y Dobosz, 2001).

2.4. Fotocatálisis heterogénea

Como se mencionó en el numeral 2.1 el TiO₂ se usa en procesos fotocatalíticos por sus propiedades como semiconductor, en donde se da una excitación primaria, provocada por la fuente de luz generadora de fotones con una energía que iguala o supera el valor de la *E_g*, trayendo como consecuencia la liberación un electrón (e⁻_{BC}) a la banda de conducción (BC) y la formación de un hueco (h⁺_{BV}) en la banda de valencia (BV), este par electrón-hueco reducen y oxidan un adsorbato, como consecuencia se forma un “donador de electrón oxidado y un aceptor de electrón reducido” (Diebold, 2003) proceso que ocurre en la superficie del catalizador (figura 5) sin conducir a un cambio en la estructura del material.

La reacción del catalizador TiO₂, en medio acuoso, irradiado con una fuente de luz UV se detalla a continuación con las formulas (1), (2), (3) (4), (5) y (6):



En donde la reacción (1) representa la superficie del material irradiado por una fuente de luz y la formación de los pares e^-/h^+ sin cambio en el material; y las siguientes reacciones representan la interacción de las especies formadas con especies circundantes, llevando a la formación de radicales (Addamo *et al.*, 2008; Srinivasan y Somasundaram, 2003).

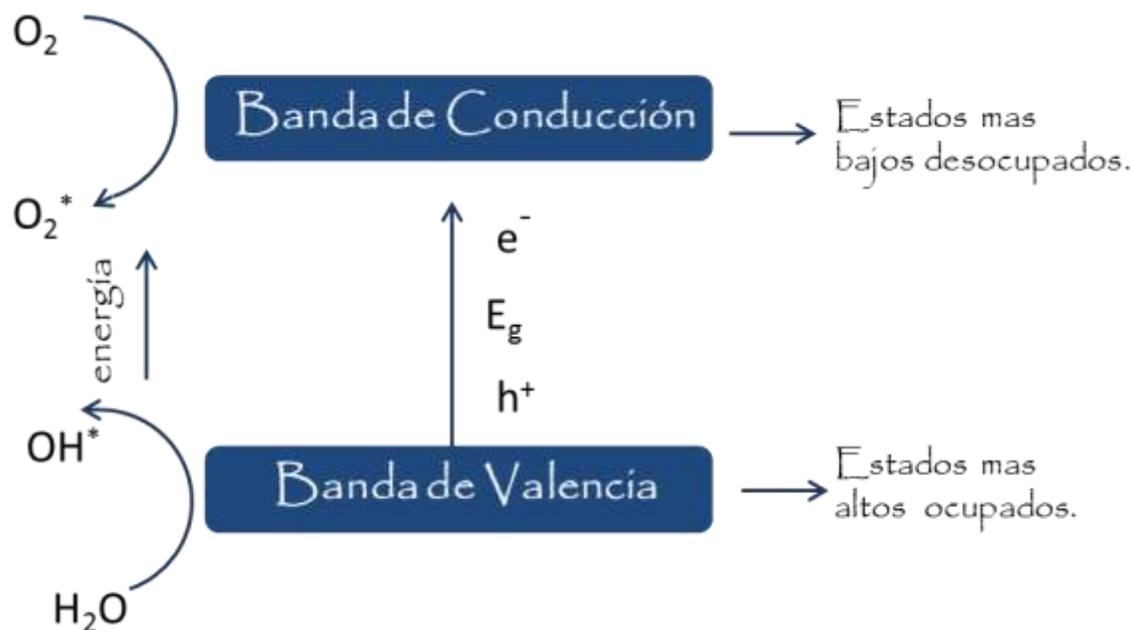


Figura 5. Superficie del semiconductor TiO_2 con absorción directa de fotones con energía igual o superior a la banda ancha de energía prohibida, band gap (Candal *et al.*, 2001; Grupo Tar, 2011).

2.5. Elaboración de películas

Se ha evaluado la elaboración de películas de TiO_2 con diferentes métodos, con el fin de encontrar mayor eficiencia en el proceso fotocatalítico. De esta manera se ha reportado que la elaboración de películas de TiO_2 sobre un soporte o sustrato permite una mejor manipulación del material, involucrando en este tipo de procesos precipitación, métodos difusivos, métodos físicos o métodos químicos que involucran agentes ligantes como sol-gel (Granda *et al.*, 2007).

Este último método es uno de los más reportados en la literatura por su fácil manipulación, bajos costos, y por proporcionar mejores propiedades ópticas al material, generando

películas homogéneas y delgadas, cuyo espesor varía dependiendo del precursor y TiO_2 empleados, reportado entre 120 y 158 nm (Sonawane *et al.*, 2002; Hamid y Rahman, 2003; Mai *et al.*, 2009). Esta técnica consiste en la formación de un sol (estado líquido) a un gel (estado sólido). En este caso el primer paso involucra la formación de un sol, por la reacción de la mezcla de TiO_2 USP-ácido nítrico (el cual baja el pH del material alrededor de 1.3)-agua (como solvente), con la mezcla del precursor ortotitanato de tetraisopropilo, un solvente ($\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-OH}$) y un catalizador (H_2O_2) que actúa como agente que previene la precipitación y la condensación de ciertos materiales (Terabe *et al.*, 1994).

El paso siguiente involucra la deposición de la reacción en un soporte adecuado, seguido de la evaporación de un solvente y otros compuestos para la formación del gel y la solidificación de la película, así como la pirólisis de residuos orgánicos, y la cristalización de la red inorgánica Ti-O-Ti; finalmente el material seco se somete a un tratamiento térmico para la cristalización del material lo cual favorecerá la formación de planos propios de la superficie cristalográfica (Innocenzi *et al.*, 2008). Diversos estudios han mostrado que esta técnica proporciona mayor eficiencia en el proceso fotocatalítico, puesto que permite la cristalización o transformación del TiO_2 debido a la presencia de un precursor en la mayoría de los casos amorfo, el cual proporciona una estructura deseada (Terabe *et al.*, 1994).

Previo a la formación de la película, el sustrato en el cual se realiza la deposición de la red, debe pasar por un proceso de limpieza que garantice la remoción de residuos orgánicos o sustancias que afecten el proceso de fijación, los lavados previos se reportan con diferentes sustancias, dentro de las más comunes son el etanol y la acetona (Barati *et al.*, 2009).

Seguido a esto el sustrato, en este caso cuarzo (SiO_2), debe pasar por un proceso adicional que permita la formación de una superficie hidrofílica. Esto se realiza a través de procesos agresivos como lo son el paso por una solución piraña (proporción 3:1 de ácido sulfúrico y peróxido de hidrógeno). Esto garantiza la mayor proporción de grupos silano del SiO_2 , conduciendo a un cambio a carga negativa del sustrato, lo que permite la interacción del TiO_2 cargado positivamente, conllevando finalmente a la mejor adherencia del compuesto hacia el sustrato por la atracción de ambos (Mirji *et al.*, 2006; Pizen *et al.*, 2002). El

proceso de lavado, la formación de la superficie hidrofílica y la formación de sol gel se resume en la figura 6.

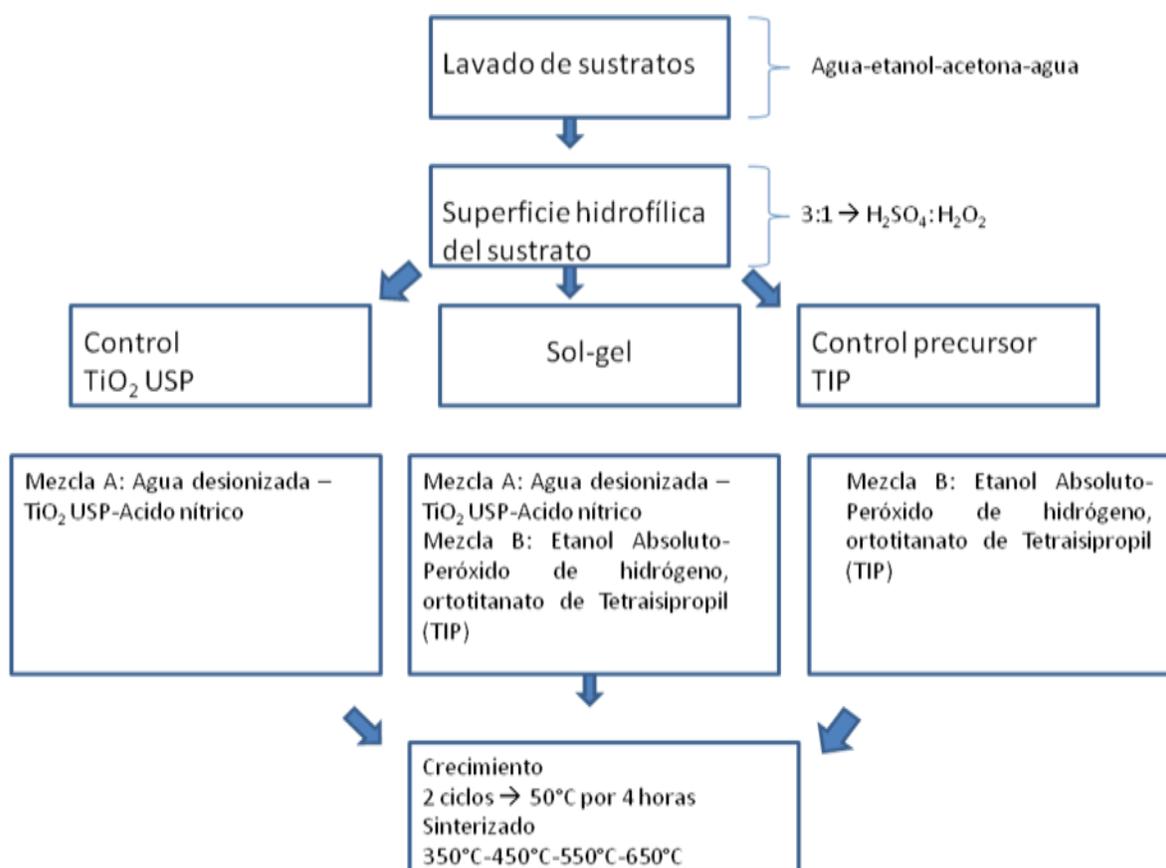


Figura 6. Esquema de formación de películas a partir de técnica sol-gel y controles de la misma.

2.6. Películas de TiO₂ modificadas

Investigaciones recientes se han enfocado en la modificación o dopaje de TiO₂, con el fin de hacer uso con fuentes de luz dentro del espectro visible como fuente de energía, concediéndole mejores propiedades físicas al material. Estos procesos consisten en la adición de átomos de elementos no metálicos, como de nitrógeno (N), azufre (S), y metálicos como cobre (Cu) (entre muchos otros), siendo estos frecuentemente reportados en este tipo de semiconductores (Rockafellow *et al.*, 2009; Rengifo y Pulgarín, 2010; Karunakaran *et al.*, 2010). En el caso de los metales, estos se puedan difundir por la red de TiO₂, incrustándose dentro de esta, lo cual permite la formación de un nuevo nivel de energía entre la banda de valencia y la banda de conducción del semiconductor; así mismo

el metal puede actuar como una trampa de electrones evitando la recombinación de estos (Zaleska, 2008). Y en el caso de los átomos no metales, estos se encargan de conceder características al material puesto que permiten “reducir la banda de energía prohibida” y generar “vacancias de oxígeno” (Zaleska, 2008).

Dependiendo del tipo de átomos o impurezas introducidos en la red del semiconductor se puede hablar de un semiconductor de tipo p, cuando los nuevos átomos generan niveles de energía cercano a la banda de valencia y reciben los electrones próximos a esta, generando una mayor cantidad de h^+ en dicha banda; o de los semiconductores de tipo n, en donde los átomos nuevos se ubican más cerca a la banda de conducción y se oxidan permitiendo la formación de e^- en dicha banda (Candal *et al.*, 2004).

La razón para efectuar este tipo de experimentación está enfocada en la posibilidad de uso de energía o longitudes de onda que se encuentren dentro del espectro de luz visible; de esta manera mejorar la eficiencia con el uso de lámparas de luz blanca o luz solar como fuente de radiación en tratamientos fotocatalíticos (Liu *et al.*, 2005; Liu *et al.*, 2009), logrando la disminución de costos de producción, así como una fácil manipulación del proceso.

2.7. Factores que afectan el proceso fotocatalítico

Dentro de los factores que afectan el proceso se ha reportado que el tamaño del cristal y el área superficial del TiO_2 influyen de manera significativa la desinfección fotocatalítica. (Suk y Kwak, 2008). Diferentes casas comerciales producen TiO_2 nanoparticulado, con tamaños de partícula menores a 100 nm, los cuales permiten obtener una mayor área superficial, siendo esta característica importante puesto que genera una mayor área de contacto entre las especies generadas en un proceso fotocatalítico con las moléculas que se pretende degradar (Hashimoto *et al.*, 2007; Tian *et al.*, 2009; Candal *et al.*, 2001).

Adicionalmente, para la optimización de este tipo de procesos es necesario tener en cuenta parámetros como oxígeno, temperatura, tiempo de catálisis, energía de fuente de radiación, pH, así como los compuestos orgánico e inorgánicos y cantidad de estos (Diebold, 2003; Hafizah & Sopyan, 2009).

La presencia del oxígeno es necesaria, debido a que hay una reacción directa del e^- con este, formado en la banda de conducción que lleva la formación de diferentes especies reactivas de este compuesto, que finalmente permiten la degradación o descomposición de compuestos (Srinivasan y Somasundaram, 2003).

La temperatura es importante en el momento en el que se realiza la calcinación o sinterizado del TiO_2 sobre un determinado sustrato, puesto que esta favorecerá la formación de la estructura cristalográfica rutilo o anatasa, siendo esta última metaestable, por lo tanto su transformación además de depender de la temperatura dependerá del grado de impurezas del polvo, tamaño de grano, área superficial, tamaño de la partícula, así como de la técnica de crecimiento que se emplee y el uso de diferentes precursores (Mathews *et al.*, 2009; Gennari y Pasquevich, 1997).

El tiempo de fotocatalisis dependerá del tipo de compuesto o material a degradar, o de los microorganismos a inactivar, así como el volumen en el que se encuentren. La inactivación de estos está directamente relacionado con el aumento de tiempos de irradiación sobre el catalizador (Mathews *et al.*, 2009; Lonnen *et al.*, 2005).

Como se describió en el numeral 2.5 para la formación de pares e^-/h^+ en la superficie del semiconductor TiO_2 se requiere de una energía suficiente o superior a la banda gap ya sea de 3 o 3.2 eV, dependiendo de la estructura cristalográfica en la que se encuentre, por lo tanto se necesita de una irradiación de tipo UV, que en el caso de material modificados o dopados cambia a irradiación de tipo visible (Ohtani, 2010).

El punto isoeléctrico del TiO_2 es 6.5 por lo tanto pH por debajo de este valor, cargan el compuesto positivamente, teniendo a los h^+ fotogenerados como especie dominante o con mayor “poder oxidativo” (Manrique, 2006), lo cual permitirá la atracción de compuestos o microorganismo de carga opuesta facilitando su descomposición e inactivación (Cohen-Yaniv *et al.*, 2008). Mientras que bajo condiciones de alcalinidad la superficie del TiO_2 se carga negativamente proporcionando repulsión entre ambos (Rincón y Pulgarín, 2004).

Finalmente la cantidad de materia orgánica afecta negativamente el proceso en cuanto a la inactivación de microorganismos, puesto que hay una competencia de ambos hacia las especies formadas en la superficie del catalizador (Rincón y Pulgarín, 2004).

2.8. Procesos fotocatalíticos que involucran inactivación de *Escherichia coli*

E. coli es una bacteria Gram negativa, móvil, facultativa, taxonómicamente es una Enterobacteria y hace parte del grupo de coliformes totales, sub-grupo coliformes fecales; se encuentra en el intestino de animales de sangre caliente, haciendo parte de la carga intestinal normal de este. Esta y otras bacterias como *Clostridium perfringens* o *Enterococcus faecalis*, se caracterizan por ser indicadores de contaminación fecal de agua, ya que su presencia informa una contaminación fecal reciente, antigua o contaminación por heces de animales homotermos, respectivamente. Las principales fuentes de contaminación son la escorrentía agrícola, las descargas de aguas residuales e infiltración de materia fecal de animales domésticos o salvajes. Normalmente se encuentran en el tracto intestinal de animales de sangre caliente sin causar algún tipo de daño (Washtenaw County Environmental Health, 2004). Sin embargo, algunos serotipos sí son patógenos conformando el grupo de *E. coli* verotoxigénicos (ECVT), haciendo parte de este grupo el serotipo altamente virulento O157:H7 (EHEC), cepas enterotoxigénica ETEC, cepas enteropatógena (EPEC) y cepas enteroinvasivas (EIEC) (Madigan *et al.*, 2003); estos patógenos son considerados emergentes y causan graves patologías en el ser humano, “los rumiantes son el principal reservorio”. Diferentes investigaciones se han enfocado en el estudio y aislamiento de estos microorganismos, principalmente en la carne de ganado vacuno, importante vía de transmisión; adicionalmente, se ha reportado su aislamiento en otros animales domésticos (cerdos, gatos y perros), así como en productos lácteos, vegetales y agua (Mora *et al.*, 2003; Margall *et al.*, 1997). El agua constituye un vehículo importante de transmisión, se ha documentado la presencia del serotipo *E. coli* O157:H7 en este tipo de recurso, siendo introducido por el riego en cultivos con agua contaminada con heces del ganado o que estuvo en contacto previo con superficie contaminadas (Ethan *et al.*, 2002)

Muchas de las investigaciones que involucran procesos fotocatalíticos con TiO₂ se han focalizado en la inactivación de *E. coli*, debido a su función como indicador de patógenos que se encuentran en recursos hídricos. Diversos autores reportan la importancia de procesos que involucren luz UV, así como la presencia de un catalizador a la hora de actuar frente a este microorganismo (Kim y Kwak 2009; Rincón y Pulgarín., 2003). La luz UV es de gran importancia, ya que la pirimidina del ADN absorbe esta luz y forma dímeros de pirimidina, cambiando así la estructura del ADN e interfiriendo con su duplicación, lo que

puede ocasionar su muerte “ (Li *et al.*, 2003) Sin embargo, este tipo de procedimientos es más útil cuando se combina con procesos catalíticos, dado que los costos disminuyen significativamente, siempre y cuando se haga uso de fuentes de energía que se encuentren dentro del espectro visible o se haga uso de fuentes naturales como lo es la luz solar (Gelover *et al.*, 2006).

La literatura reporta que los efectos de inactivación varían de acuerdo a la intensidad de la luz proporcionada, se reporta que una intensidad 1000 W/m^2 proporciona un flujo mayor de fotones, que en presencia del catalizador TiO_2 conduce al aumento de radicales como OH° , y llevan a la inactivación de microorganismos como *E. coli* en menores tiempos de exposición; a diferencia de intensidades de 400 W/m^2 , en donde estos tiempos de exposición aumentan; sin ser esto una relación lineal entre la intensidad de la luz y la inactivación de la bacteria (Rincón y Pulgarín, 2004). De forma adicional se ha reportado que la desinfección con procesos que solo involucran fotólisis proporcionan menor inactivación que procesos fotocatalíticos (Kim & Kwak, 2009).

Rincón y Pulgarin (2003) reportan la inactivación de una cepa de *E. coli* usando TiO_2 Degusa P-25 y luz UV como fuente de radiación en agua residual; en el estudio variaron algunas condiciones del tratamiento (irradiación, intensidad de la luz, concentración y temperatura) encontrando efectos muy positivos en el proceso de inactivación.

Por otro lado, se reporta la desinfección del agua, con un tratamiento fotocatalítico a partir de películas de TiO_2 en agua superficiales, encontrando una reducción hasta de 100% de *E. coli* después del tratamiento, sin embargo resaltan que la presencia de contenido orgánico e inorgánico en este tipo de agua reduce las tasas de desinfección del microorganismo (Alrousan *et al.*, 2009).

Así mismo, diversos estudios mencionan la luz solar como fuente de radiación en tratamientos fotocatalíticos con TiO_2 , reportando que este material mejora la eficiencia en procesos de desinfección de *E. coli* en aguas superficiales (Salih, 2002).

2.9. Desinfección por método químico con cloro

Actualmente, los procesos de desinfección en el tratamiento de aguas residuales, así como la desinfección que se realiza en tuberías que conducen agua potable involucran principalmente compuestos clorados como “gas de cloro, soluciones de hipoclorito y compuestos clorinados en forma sólida o líquida” (EPA, 1999). El uso de este tipo de desinfectantes está relacionado directamente con los bajos costos que estos ofrecen, la eliminación efectiva de microorganismos patógenos y su fácil manejo. Sin embargo, su uso también proporciona desventajas que se relacionan directamente con la generación de efectos adversos en la salud por la formación de sub-productos como trihalometanos (THMs), cuando hay contacto del producto con materia orgánica; además genera sabores y olores poco agradables, cuando los niveles son altos. La literatura reporta que este tipo de desinfectante no es efectivo en la inactivación *Giardia* y *Cryptosporidium*, cuando se aplican dosis bajas. A pesar de esto es el método más popular y de acceso más fácil (Drinking –water ORG, 2008) (Solsona y Méndez, 2002).

2.10. Toxicidad en cuerpos de agua: bioensayos

La toxicidad o efecto tóxico es una medida de la contaminación provocada por la combinación de diferentes sustancias químicas nocivas que se encuentren en un medio, las cuales afectan las propiedades físicas o químicas del mismo desencadenando consecuencias sobre un ecosistema. Para realizar la medición de esta toxicidad o potencial tóxico se reporta ampliamente el uso de bioensayos lo cual incluye una batería de organismos a diferentes niveles tróficos (Bohórquez y Campos, 2007); esto con el fin de establecer criterios de calidad de aguas y evaluar la sensibilidad relativa de organismos acuáticos, y posiblemente predecir el “impacto en animales, vegetales y el hombre” (García *et al.*, 2009).

Dentro de los organismos empleados en bioensayos se encuentran *Lactuca sativa*, *Selenastrum capricornatum* (vegetales), *Hydra attenuata*, *Daphnia magna* (animales), *Vibrio fischeri* (bacteria), entre otros.

Dependiendo del organismo evaluado, se determina al final del bioensayo, una concentración letal (CL₅₀), la cual hace referencia a la concentración a la que el 50% de la

población muere (*H. attenuata*, *D. magna*); concentración inhibitoria, que es la concentración a la cual se inhibe la germinación o crecimiento de la semilla (*L. sativa*, *S. capricornatum*); o concentración efectiva la cual, en el caso de la bacteria, se define como la concentración a la cual se produce una reducción de luminiscencia (*Vibrio fischeri*) (García *et al.*, 2011).

Para la realización de estos bioensayos se deben cumplir con ciertas condiciones, diferentes dependiendo del organismo, lo cual va a garantizar la reproducibilidad del proceso. Cada ensayo es avalado por la EPA.

De acuerdo a lo encontrado en la literatura, en cuanto a bioensayos con el organismo *D. magna* en exposición al compuesto TiO_2 no presenta toxicidad con partículas del compuesto con tamaños por encima de 100 nm, sin embargo con partículas de menor tamaño se presenta toxicidad del organismo, generando la inmovilización de este; la causa de este efecto es la posible penetración de partículas dentro de la célula (EPA, 2007; Kim *et al.*, 2010).

3. Formulación del problema y justificación

3.1. Formulación del problema

¿Es efectiva la fotocatalisis con TiO_2 y la modificación de este en la inactivación de *Escherichia coli* presente en aguas residuales tratadas y no tratadas ?

3.2. Justificación

Es necesario lograr establecer parámetros en un proceso alternativo, como es la fotocatalisis con TiO_2 , para la desinfección de aguas residuales domésticas pre tratadas y crudas. Con el fin de optimizar las características del mismo y hacer más eficiente el proceso, lo cual podrá permitir el establecimiento de este tipo de tratamiento como sistema complementario de desinfección.

4. Objetivo General

Evaluar la fotocatalisis heterogénea con TiO_2 como sistema desinfección para inactivar *E. coli* en aguas domésticas tratadas y no tratadas.

4.1 Objetivos Específicos

- Elaborar y caracterizar películas de TiO_2 por medio de la técnica de sol-gel/sedimentación, a través de la evaluación de diferentes temperaturas de sinterizado del material, como el uso de diferentes reactores y fuentes de luz, teniendo como respuesta la inactivación de *E. coli* ATCC 8739.
- Desarrollar un protocolo para la modificación de las películas de TiO_2 valorando un material del reactor y una fuente de radiación.
- Comparar la efectividad del tratamiento fotocatalítico con respecto a la desinfección química de NaClO .
- Realizar pruebas de toxicidad de las aguas tratadas empleando organismos a dos niveles tróficos: *Lactuca sativa* e *Hydra attenuata*.

5. Metodología

5.1. Organismo control: *Escherichia coli*

La cepa utilizada fue *E. coli* ATCC 8739 la cual se obtuvo del cepario de la Pontificia Universidad Javeriana, se llevó a cabo la elaboración del banco de células primarias, siguiendo la metodología de Rojas y Sánchez (2009).

5.2. Caracterización de agua residual proveniente del sistema de lagunaje PTAR Subachoque

Se realizó un análisis microbiológico, físico y químico del agua residual recolectada. Los parámetros que se determinaron se resumen en la tabla 2.

Tabla 2. Pruebas físicas-químicas- microbiológicas en agua residual.

Parámetro	Método	Nombre del método y la referencias
pH (Unidades)	Potenciométrico	Potenciométrico
Temperatura (°C)	Termometría	Termómetro
Unidades de color	Espectofotométrico	Espectofotométrico APHA
Sólidos suspendidos (mg/l)	Gravimétrico	APHA, 2000
Sólidos sedimentables (ml/l)	Cono Imhoff	APHA, 2005
DQO (mg/l)	Reflujo cerrado	Reflujo cerrado, APHA 2005
Conductividad μSm	Conductímetro	Conductivímetro
Recuentos de <i>E. coli</i> y coliformes	Microgota	Dohile
Recuento heterótrofos	Siembra profundidad	APHA, 2004

5.3. Preparación de películas de TiO₂ técnica sol-gel acoplada a sedimentación.

Para la elaboración de las películas de TiO₂ se utilizaron láminas de cuarzo de 20x26 mm. Estos sustratos se lavaron y pasaron por un proceso de modificación para volverlos hidrofílicos.

El lavado de los sustratos consistió en diferentes procesos de sonicado con diferentes compuestos. Cada proceso de sonicado se realizó por 15 minutos y el orden del protocolo del lavado de sustratos fue el siguiente: Agua-etanol-acetona-agua (Pedroza *et al.*, 2007).

El proceso de hidrofilización consistió en poner cada sustrato en una solución 3:1 de ácido sulfúrico (H₂SO₄) y peróxido de hidrógeno (H₂O₂) por 20 minutos. Transcurrido este tiempo cada sustrato se sometió a un lavado con agua desionizada, para la remoción de ácido. Finalmente las láminas se dejaron secar a temperatura ambiente para su posterior uso (Pizem *et al.*, 2002).

5.3.1. Preparación de solución de TiO₂ USP y preparación de precursor amorfo de titanio

La solución de TiO₂ USP se obtuvo a partir de una mezcla de 0.5 mg de TiO₂ USP (previamente macerado y pasado por un tamiz de apertura de 850 μm), 25 ml de agua desionizada y 360 μl de ácido nítrico concentrado al 70 % (HNO₃). Esta solución se llevó al sonicador por 15 minutos.

El precursor amorfo se obtuvo de la mezcla de: 209 μl de titanio (IV) tetraisopróxido ((C₂H₅)₂N)₄Ti (TIP), 25 ml de etanol absoluto (C₂H₅OH) y 70 μl de peróxido de hidrógeno (H₂O₂ al 30 % v/v) para un volumen final de aproximadamente 25 ml, el cual se llevó al sonicador con un volumen de agua de 150 ml, por 15 minutos. El TIP se mantuvo en diferentes viales de 1 ml a 4 °C previo a su uso, en el momento de este, se dejó descongelar a temperatura ambiente.

Teniendo estas dos soluciones se mezclaron dejando en el fondo la primera solución y sobre esta la segunda, posteriormente se llevaron al sonicador por 15 minutos. La solución fue utilizada antes de 24 horas de preparación. Todos los reactivos empleados fueron mantenidos en refrigeración previamente y posterior a su uso.

5.3.2. Crecimiento de películas

La formación de las películas se realizó a partir de la mezcla del precursor amorfo TIP/TiO₂ USP (sol-gel). El sustrato fue inmerso en la solución en cajas de Petri de 25 mm; el crecimiento se llevó a cabo a 50°C por 4 horas. Luego de la evaporación del solvente, peróxido y ácidos se agregó una segunda alícuota de la solución y se llevó de nuevo a 50°C por 4 h (gel). Seguido a este proceso las películas se llevaron a mufla para la calcinación o sinterizado del material. Evaluando diferentes temperaturas de sinterizado: 50°C, 350°C, 450°C, 550°C y 650°C. Así mismo, se realizaron películas control de TiO₂ USP y el control TIP teniendo en cuenta las mismas temperaturas de sinterizado. Después de obtener las películas calcinadas se pesaron, de esta forma se obtuvo cuanto TiO₂ titanio se agregó (mg TiO₂-TIP/SiO₂) en cada lámina desde el peso inicial del sustrato y el peso final con la formación de la película desde las fórmulas (7) y (8):

$$\text{TiO}_2\text{-TIP} = (\text{SiO}_2(\text{sustrato}) + \text{TiO}_2\text{-TIP}(\text{película})) - \text{SiO}_2 \quad (7)$$

$$\text{Película adherida al sustrato} = \text{TiO}_2\text{-TIP} / \text{SiO}_2 \quad (8)$$

5.4. Caracterización física

5.4.1. Microscopia electrónica de Barrido

Esta técnica permitió el análisis morfológico de las películas o sus características superficiales. Se empleó un microscopio electrónico de barrido de emisión de campo JEOL (FESEM) JSM-7401F, con el cual se realizaron micrografías en aumentos de 5000X-50000X. Este análisis se realizó en el centro de investigaciones y estudios avanzados del Instituto Politécnico Nacional de México y en el MEB de la Universidad de los Andes (Bernardi *et al.*, 2001).

5.4.2. Difracción de rayos X

Para determinar la estructura cristalina de las películas previamente elaboradas se llevó a cabo una difracción de rayos x en un difractómetro Siemens D-5000 (CuKalfa = 1.5418 Å), con la cual se determinó si la película tenía características de un material cristalino, así como

los planos que predominaban en dicha estructura (Pihosh *et al.*, 2009). Este análisis se realizó en el Centro de Investigaciones y Estudios avanzados del Instituto Politécnico Nacional de México. El tamaño del cristal se determinó mediante el programa MAUD, tomando los picos de máxima intensidad para la fase anatasa y rutilo. Los valores obtenidos fueron expresados en Armstrong.

5.4.3. Barrido UV- Vis

Se empleó un espectrofotómetro UV-Vis con el fin de determinar la transmitancia y absorbancia de las películas elaboradas, y de esta manera establecer la banda gap del material (Pihosh *et al.*, 2009). El montaje consistió de una lámpara de tungsteno-halógena (Newport 6333 lampara Quartz Halogen con espectro continuo entre 240-800 nm), un monocromador (Acton Research spectral pro 775, port RS3232, rango de 200-1500 nm y resolution de 0.1 nm), un tubo multiplicador (Side-on Photo-multiplier tubo Oriel 77342), suministro de alto voltaje (Oriel 70705 2000 VDC, 2 mA), un amplificador Lock-in (Lock-in Amplifier Stanford Research SR839), y la interface Labview. Con este montaje se determinó la intensidad inicial del sustrato, sin formación de películas, y una intensidad final correspondiente a la muestra (películas sol-gel y controles sinterizadas a diferentes controles) como se describe en la formula:

$$T = \frac{I_0}{I} \quad (9)$$

En donde T es la transmitancia, I_0 es la intensidad inicial e I es la intensidad de la muestra. Con este valor fue posible encontrar E_g desde la gráfica de T versus $h\nu$, en donde esta última corresponde a la energía de los fotones o al eje de la energía; con interpolación de la región lineal a $h\nu$ (Mathews, 2009).

5.5. Ensayos de inactivación para los tratamientos térmicos de las películas TiO₂/TiP, TiO₂/USP y TiP.

Un inóculo de *E. coli* fue re-suspendido en agua residual estéril, se dejó en crecimiento durante 12 horas a 22 °C en agitación constante a 120 rpm. Posterior a esto se obtuvo una concentración conocida de la bacteria, la cual se verificó a través de diluciones seriadas del

inoculo inicial y siembra de este por microgota en agar Chromocult. El tratamiento fotocatalítico se llevó a cabo en cajas de petri de 25 mm con una película, previamente elaborada, sinterizada a diferentes temperaturas, y un suspensión de 8 ml de inoculo inicial. Se dejaron treinta minutos en oscuridad, y posteriormente se encendió la lámpara de mercurio de baja presión (luz UV, pico de máxima absorción 254 nm), en agitación constante (45 rpm).. Se realizó un muestreo a las 6 horas de tratamiento. Se evaluó la inactivación a través de recuento en placa, en agar Chromocult, por microgota (Rojas y Sánchez, 2009). Adicionalmente se evaluaron las películas elaboradas con solo TiO₂ USP pertenecientes al estudio de Rojas y Sánchez, 2009 y las crecidas con el precursor amorfo TiP, las cuales también fueron calcinadas a las mismas temperaturas. Cada tratamiento se realizó por triplicado y como análisis estadístico se realizó un análisis de varianza (ANOVA) para la comparación de las temperaturas evaluadas con todas las películas (TiP/TiO₂ USP, TiO₂ USP y TiP). El pH fue medido previamente y posteriormente a cada tratamiento.

5.6. Selección de las condiciones de operación y curvas de inactivación fotocatalítica a dos concentraciones del microorganismo

Se evaluaron 4 tratamientos por medio de un diseño factorial 2², los factores evaluados fueron la fuente de luz, UV y fluorescente (blanca); y material del reactor, borosilicato sódico (pyrex) y dióxido de silicio (cuarzo). Los tratamientos y niveles se observan en la tabla 3. Cada experimento se realizó por triplicado utilizando como fotorreactores vasos de cuarzo con un volumen de 100 ml de la suspensión de *E. coli* de concentración conocida (10⁷-10⁹ UFC/ ml). Las películas evaluadas fueron: TiO₂ USP y TiO₂/TiP, se colocaron paralelas a las paredes del vaso suspendidas con un aditamento de fibra y pinzas metálicas (4 por cada replica) y la iluminación con la respectiva lámpara se inicio a los 30 minutos de adsorción en oscuridad, la agitación se mantuvo constante a 45 rpm colocando vasos sobre un agitador horizontal. Cada tratamiento se expuso a las lámparas por 6 horas al cabo del cuales se tomó una alícuota para realizar diluciones decimales y estimar el porcentaje de inactivación. El pH fue medido previamente y posteriormente a cada tratamiento.

Tabla 3. Diseño factorial 2²

Tratamiento	Factor X₁	Factor X₂
	Material del reactor	Tipo de lámpara
1	-1	-1
2	+1	-1
3	-1	+1
4	+1	+1
Valor numérico equivalente a la convención		
Nivel bajo (-1)	Silicato de boro	UV
Nivel alto (+1)	Dióxido de silicio	Fluorescente

El análisis de datos se realizó usando los programas SAS 9.0 ®, Desing Expert 6.0 ® y los resultados fueron tratados con un modelo empírico, el cual relaciona las respuestas cuantificadas con los factores evaluados y sus respectivos niveles. Para un diseño de dos factores el modelo de primer orden fue (ecuación 1);

$$y = b_o + b_1x_1 + b_2x_2 + b_{12}x_1x_2 \quad (10)$$

Donde y , corresponde a la variable dependiente; b_o es el intercepto, b_1 , b_2 , son los coeficientes lineales y X_1 X_2 son los factores ó variables independientes. Como variable dependiente se evaluó la inactivación de *E. coli* en porcentaje

5.6.1. Curvas de inactivación de *E. coli* en agua residual estéril

A partir de los resultados obtenidos en el factorial, se procedió a realizar las curvas de inactivación teniendo en cuenta dos concentraciones del microorganismos, las cuales fueron re inoculadas al agua residual estéril. Las curvas se realizaron tomando muestras cada 30 minutos por dos horas y después cada dos horas por 14 horas. Adicionalmente se realizaron controles como la suspensión de *E. coli* bajo luz UV (fotólisis), adsorción (TiO₂

en la oscuridad elaborado por sol-gel y el control con TiO₂ USP) y la fotocatalisis con el control TiO₂ USP. Todos los controles fueron realizados en altas y bajas cargas de la bacteria y cada tratamiento se realizó por triplicado. El pH fue medido previamente y posteriormente a cada tratamiento.

5.7. Protocolo de modificación para las películas de TiO₂

Para realizar este procedimiento se elaboraron las películas teniendo en cuenta el mismo protocolo de lavado y modificación para volverlos hidrofílicos, descritos en el numeral 5.3.

5.7.1. Protocolos de modificación con urea y tiourea

Se preparó la mezcla del precursor TIP con TiO₂ USP, como en el protocolo inicial. La preparación consistió en la formación de dos soluciones. La primera solución se fabricó a partir de 0.5 mg de TiO₂ USP (previamente macerado y pasado por un tamiz de apertura de 850 μm), 25 ml de agua desionizada y 360 μl de ácido nítrico concentrado. La mezcla de estos productos se llevó al sonicador por 15 minutos. La segunda solución se preparó a partir del siguiente protocolo: 209 μl de titanio (IV) tetraisopropóxido ((C₂H₅)₂N)₄Ti, 25 ml de etanol absoluto y 70 μl de peróxido de hidrógeno (H₂O₂). Teniendo estas dos soluciones se mezclaron dejando en el fondo la primera solución y se llevó al sonicador por 15 minutos.

La solución de urea se preparó a partir de la re-suspensión de 2.42 gramos de urea y 2.34 ml de la mezcla de precursores amorfo y cristalino (obtenido previamente) re-suspendidos 25 ml de etanol. Se procedió de igual forma con la tiourea, bajo las mismas condiciones de la urea, protocolo modificado de Rockafellow *et al.*, (2009) (denominado Erin por su nombre). Teniendo estas dos soluciones se procedió a llevarlas a constante y vigorosa agitación por 48 horas.

Después de obtener la homogeneidad de las soluciones se realizó el crecimiento de las películas a 50 °C por 4 horas depositando la misma cantidad de solución por cada sustrato (5 ml).

El segundo protocolo de dopaje se realizó con modificaciones de Pulgarín y Rengifo (2010). Se preparó la mezcla de precursores igual que el protocolo inicial, duplicando la cantidad de cada compuesto para obtener un volumen final mayor. Teniendo la solución final se llevó al horno a 100°C, para la obtención de un polvo a partir de esta mezcla inicial.

Para la obtención de la solución de urea se re-suspendió 0.2 gramos del polvo obtenido inicial y 0.8 gramos de urea, macerados previamente para la homogenización de ambos polvos, en 25 ml de agua y 25 ml de etanol para un volumen final de 50 ml. Para la obtención de la solución de tiourea se procedió de igual forma. Cada mezcla se llevo al sonicador por 15 minutos.

Después de obtener la homogeneidad de las mezcla se realizó el crecimiento de las películas a 50 °C por 4 horas depositando la misma cantidad de solución por cada sustrato (5 ml)

5.7.2. Protocolo modificación CuSO₄

Como se mencionó en el protocolo con urea y tiourea se realizó la mezcla para las películas elaboradas por sol-gel, después de tener esta mezcla lista se llevó a evaporación a 100°C por 8 horas. A partir de esta evaporación se obtuvo un polvo, del cual se tomó 0.2 gramos, y se maceró con tres cantidades diferentes de CuSO₄: 0.05, 0.025 y 0.0375 g; obteniéndose así tres polvos con diferentes proporciones molares (tabla 4).

Tabla 4. Proporciones molares del TiO₂/TIP modificado con CuSO₄.

REACTIVO (gramos)	Moles Ti	Moles Cu	Moles S
TiO₂ 0.2	0.030	-	-
CuSO₄ 0.05		0.0025	0.00063
CuSO₄ 0.0375		0.0018	0.00051
CuSO₄ 0.025		0.0011	0.00032

Después de homogeneizar los diferentes compuestos por maceración se realizó una re-suspensión en 50 ml de etanol absoluto y agua (proporción 1:1).

Se realizó la deposición de la mezcla en los sustratos previamente lavados y se llevó a 50°C por 4 horas. Después de tener la película crecida se sinterizó a 450°C.

Las películas obtenidas por cada protocolo se evaluaron frente a una concentración conocida de *E. coli*, y como fuente de luz se utilizaron dos lámparas de luz blanca, en un tratamiento inicial de 6 horas. Posteriormente, se determinó la inactivación del microorganismo. A partir de estos resultados se determinó con cual protocolo se logró mayor inactivación. Se procedió a la evaluación en una curva, como se procedió en el numeral 5.6.1, bajo las mismas condiciones nombradas anteriormente. Adicionalmente se realizó una caracterización física de estos nuevos lotes de películas, con las técnicas nombradas en el numeral 5.4.

5.8. Desinfección química con hipoclorito de sodio

Para comparar la efectividad del tratamiento fotocatalítico respecto a la desinfección química con NaClO, se llevó a cabo dos ensayos adicionales a partir de agua residual re-inoculada con *E. coli*.

Para el tratamiento con cloro se empleó NaClO a 200 ppm. Se partió de una solución de cloro al 5.5% (v/v) y se llevó a las ppm establecidas. Para esto se llevaron a 100ml de agua residual estéril re-inoculada con una concentración conocida de *E. coli* como volumen final. El tiempo de desinfección que se empleó fue de 6 horas, como se establecieron en los protocolos de inactivación por sol-gel. Después de esto se realizaron las cinéticas de inactivación a altas y bajas cargas. Se evaluó la inactividad a través de recuento en placa, en agar LB, por microgota. El pH fue medido previamente y posteriormente a cada tratamiento.

5.9. Bioensayos

Se llevaron cabo dos bioensayos empleando dos organismos, *Lactuca sativa* e *hydra attenuata*. Esto se realizó con el fin de determinar el efecto tóxico del agua tratada previamente con fotocatalisis heterogénea con películas elaboradas por sol-gel con lámparas de luz UV; con las películas modificadas con CuSO₄ con lámparas de luz blanca,

y fotólisis (luz UV), como control. De igual forma se comparó este efecto tóxico con el producido por los tratamientos de desinfección química, evaluados previamente, y el agua residual o efluente producto del sistema de lagunaje de la planta de tratamiento de Subachoque.

En el caso de *L. sativa* los ensayos se efectuaron según Mcinnis (1989) avalado por la Agencia de protección ambiental EPA, evaluando la inhibición en la germinación y la inhibición en la elongación de la radícula y del hipoclorito en un periodo de 120 horas ($CI_{50\ 120h}$).

Los ensayos con *H. attenuata* se realizaron por el protocolo establecido por Trottier *et al.*, (1997) avalado por la Agencia de protección ambiental EPA. Se evaluaron el número de neonatos (menores de 24 horas) muertos, en un periodo de 96 horas de exposición al agua tratada (CL_{50-96h}).

Los resultados de toxicidad aguda fueron determinados con el programa estadístico Probit, si en algunos casos este programa no arroja una CL_{50-96h} (*Hydra attenuata*) y $CI_{50\ 120h}$ (*Lactuca sativa*), se reporta como porcentaje de letalidad, en el primer caso, que es la mínima concentración en la que se empieza a presentar un efecto de letalidad sobre la población; y en el segundo caso se reporta como porcentaje de inhibición volumen a volumen o porcentaje de crecimiento cuando supera el crecimiento del control negativo (Laboratorio de calidad en aguas y lodos, Pontificia Universidad Javeriana).

5.10. Ensayos de inactivación muestras no tratadas de cuenca alta, media y baja río Bogotá.

Con el fin de retar el sistema fotocatalítico tanto con películas elaboradas por sol-gel bajo lámparas de luz UV, y modificadas con $CuSO_4$ bajo lámparas de luz blanca, se tomaron tres muestras puntuales de cuenca alta, media y baja del río Bogotá, Funza (flores del río), brazo de salitre el cual no entra a la PTAR salitre, y salto del Tequendama, respectivamente.

A cada muestra se le realizaron análisis microbiológicos, físicos y químicos y finalmente se sometieron al proceso fotocatalítico con las películas modificadas y no modificadas bajo dos longitudes de onda diferente, como se mencionó anteriormente. El proceso se realizó en

cajas de petri con 8 ml de muestra, y una película por caja (proceso que se describe en el numeral 5.3, 5.5, 5.7.2) con un tiempo de tratamiento de 6 horas. Pos-tratamiento se cuantificaron los coliformes fecales y *E. coli*, por microgota en agar chromocult, con el fin de determinar el porcentaje de inactivación.

6. Resultados y Discusión

6.1. Caracterización de Agua residual proveniente del sistema de lagunaje

El área de estudio fue la planta de tratamiento (PTAR) de agua residual doméstica, ubicada en el municipio de Subachoque, Cundinamarca, Colombia; adicionalmente, como se describirá más adelante, se tuvieron en cuenta tres zonas de muestreo diferentes del río Bogotá con el fin de valorar si las películas de TiO₂ más efectivas eran funcionales bajo diferentes cargas de materia orgánica y sin que el agua hubiese pasado por un sistema de tratamiento previo.

La PTAR de Subachoque tiene un sistema de pre-tratamiento y tratamiento primario el cual consta de diferentes rejillas de cribado para la retención de sólidos grandes y basuras de gran tamaño, ligado a trampas de arena o des-arenadores, así como trampas de grasas y aceites. Después de pasar por esto el agua es dirigida a un sistema biológico que consta de diferentes lagunas de estabilización, aeróbica, anaeróbica y de maduración, para el tratamiento de materia orgánica y eliminación de patógenos. Finalmente el agua de la laguna es directamente vertida a la cuenca alta-media del río Bogotá, en donde la población aledaña se beneficia del recurso para agricultura.

Las muestras de agua residual fueron recolectadas tomando una alícuota de 3 litros a la salida de la laguna de maduración, para probar los diferentes tratamientos fotocatalíticos como sistemas complementarios. Se realizaron dos muestreos: el primero el 25 de febrero de 2010 y el segundo el 5 de diciembre de 2010, en este último se tomó una muestra adicional del agua de entrada a la PTAR, sin pasar por ningún tratamiento.

Los parámetros que se midieron fueron de tipo: Microbiológicos, físicos y químicos. Los resultados se resumen en la tabla 5.

Tabla 5. Parámetros microbiológicos físicos y químicos agua de salida y entrada PTAR Subachoque.

Parámetro	Resultado Entrada (5/12/10)	Resultado Salida Muestra 2 (5/12/10)	Salida muestreo 1 (25/2/10)	Unidades
Heterótrofos totales	30x10 ⁷	30x10 ⁵	27x10 ⁵	UFC/ml
Coliformes fecales	80x10 ⁴	50x10 ²	72x10 ²	UFC/ml
<i>E. coli</i>	10x10 ⁴	30x10 ¹	30x10 ¹	UFC/ml
pH	6.75	7.14	8.01	
Unidades de color	159	49		
Conductividad	0.432	0.435		mS/cm
Oxígeno disuelto	6.1	8.6		
Sólidos sedimentables	0.4	0.1	1.2	ml/L
Sólidos suspendidos totales	220	267	117	mg/L
Sólidos disueltos	244	206		mg/L
Sólidos totales	405	296	302	mg/L

Se encontraron diferencias entre los recuentos microbiológicos del agua de entrada y salida de la PTAR. La población de heterótrofos, fue superior en dos órdenes de magnitud con respecto a los recuento en el agua de salida. En cuanto a la presencia de *E. coli* y coliformes fecales, se evidenció que las poblaciones iniciales de los sistemas estaba por encima de dos o tres órdenes de magnitud a los encontrados en el agua de salida. Esta información indicó que el sistema primario y secundario, propios de la PTAR, están

disminuyendo la carga de este tipo de microorganismos, no hay una eliminación total de los microorganismos, y los valores finales en el caso de *E. coli* están por encima de 1000 UFC/ 100 ml valor para sistemas convencionales de tratamiento (OMS, 2011).

Los tratamientos posteriores de fotocátalisis se evaluaron con poblaciones más altas de *E. coli* ATCC 8739 con el fin de valorar si dichas concentraciones podrían afectar negativamente la efectividad de los tratamientos, de manera adicional las muestras sin algún tipo de tratamiento de las tres zonas del río Bogotá con cargas diferentes de *E. coli* también fueron evaluadas sin realizar modificaciones de las cargas.

La conductividad no varió entre agua tratada y no tratada, por lo tanto este tipo de aguas se pueden clasificar para riego de salinidad media, con valores entre 250-750 $\mu\text{mhos/cm}$ (0.250-0.750mS/cm) (Medrano, 2001); el pH tuvo variaciones en los tres muestreos realizados, no se encontró similitud entre las dos muestras de agua de salida (7.14-8.01), y con respecto al agua de entrada este valor es menor (6.75); sin embargo los valores se encontraron entre el rango establecido por la corporación autónoma regional (CAR) para agua de clase II, la cual es para “consumo humano y domestico con tratamiento convencional, uso agrícola con restricciones y uso pecuario”, en donde el tratamiento convencional enmarca procesos y operaciones tales como coagulación, floculación, sedimentación, filtración y desinfección. A su vez los valores de oxígeno disuelto obtenido en las muestras fueron de 6.1 y 8.6, los cuales estuvieron por encima del valor mínimo (> 4 mg/l) al que deben estar estos tipos de aguas (CAR, 2006). En cuanto al análisis de sólidos suspendidos, este arrojó valores por encima del valor máximo restrictivo establecido por la CAR (10 mg/L), en aguas de esta misma clase. Los demás sólidos no se mencionan en este acuerdo de la CAR, pero lo que se encontró en estudio es que los sólidos totales y sedimentables se encontraron en mayor cantidad; siendo más altos en el agua de salida del muestreo 1 que en el agua de muestreo de la salida 2, lo cual puede estar relacionado con la mayor precipitación que se dió en esta la época del año. El valor de DBO_5 fue de 274 mg/l, el cual estaba por encima 7 mg/l estipulado (CAR) para agua de uso agrícola con restricciones; este valor se encuentra relacionado con una carga de materia orgánica alta al final de los tratamientos aplicados haciendo referencia a un grado alto de contaminación. El valor de DQO obtenido en el agua de salida del muestreo 2 fue de 510 mg/l, parámetro que no esta estipulado como medida en aguas de esta clase; sin embargo este valor es alto y

puede estar relacionado con sistemas de tratamiento secundarios, que incluyen lagunas de estabilización con contenido de algas; estos sistemas pueden no ser eficientes en la remoción de este parámetro (Maynard *et al.*, 1999). Las unidades de color disminuyen enormemente del agua de entrada y salida, estas últimas estas por debajo a de las establecidas en la norma (75 UC) (CAR, 2006). Finalmente el nitrógeno total obtenido fue de 40 mg/l, valor estuvo por encima de la concentración de nitratos y nitritos estipulados en este mismo artículo (10 mg/l). Tanto el fósforo (2.06 mg/l, valor encontrado en agua de salida), como el nitrógeno, son de difícil remoción y en grandes cantidades pueden tener efectos tóxicos sobre organismos de vida acuática y causar eutroficación del cuerpo de agua (Kim *et al.*, 2009). De acuerdo con los valores encontrados en agua de salida de la planta de tratamiento, que es el agua que finalmente es vertida al río Bogotá, al compararse a los establecidos por la CAR para el río Bogotá, algunos parámetros están por encima del valor máximo restrictivo para aguas de clase II por lo tanto, pueden generar riesgos en la salud pública, limitando por ende su uso en la agricultura.

6.2. Caracterización física de las películas TiO₂/TiP, TiO₂/USP y TiP

Se realizó un proceso o tratamiento químico que permitió cambiar la superficie del sustrato y a su vez favoreció la remoción de residuos orgánicos que pudieran estar adheridos al sustrato. El tratamiento químico que se realizó consistió en modificar la superficie hidrofóbica del SiO₂ empleando una mezcla de ácido sulfúrico concentrado (98% v/v) y peróxido de hidrógeno al 30% v/v en una proporción de 3:1, respectivamente por 20 minutos. Esto permitió convertir a hidrofílica la superficie del sustrato. Esta superficie adquirió una carga negativa a partir de la formación de dos radicales hidroxilo (OH⁻) desde la solución H₂SO₄ y H₂O₂ los cuales se unen por atracción de cargas al SiO₂ (sustrato), esto permitió que la superficie del sustrato adquiriera un mayor número de grupos silanoles Si-OH, los cuales tienden a hidratarse al formar enlaces de hidrógeno con el agua. Esta superficie hidrófila favoreció el proceso de deposición del óxido semiconductor TiO₂ cargado positivamente (pH 1.3), puesto que se generó atracción de este hacia el sustrato (Castañeda *et al.*, 2010; Ben *et al.*, 2003; Mirji *et al.*, 2006).

Después de obtener un sustrato libre de impurezas de origen orgánico, así como una superficie hidrófila, el siguiente paso comprendió la elaboración de películas a través de la técnica sol-gel acoplada (TIP/TiO₂ USP) a sedimentación y dos controles, uno de ellos del óxido semiconductor TiO₂ y el segundo del precursor TIP. La técnica de sedimentación, del TiO₂ protonizado permitió lograr una deposición de partículas más homogénea, puesto que un pH extremo como lo es 1.3 permitió que el proceso estuviera regulado a través de la disminución de la velocidad de sedimentación (Fernández C.P, 2011).

La técnica sol-gel acoplada a este ofreció una gran ventaja en cuanto a la relativa homogeneidad de la película que se formó. Adicionalmente, definió a la anatasa como única fase cristalográfica de las películas sinterizadas a diferentes temperaturas. En la literatura se reporta que los catalizadores que se utilizan en este tipo de procesos definen la transición a la fase cristalina del semiconductor TiO₂ (Jin *et al.*, 2002). Básicamente lo que ocurrió en el proceso inicialmente fue la hidrólisis del precursor amorfo lo que llevó a la formación de redes, en donde los poros que se formaron permitieron la inclusión de la mezcla de TiO₂ USP-agua desionizada-acido nítrico (Mejía *et al.*, 2007; Rodríguez y Matousek, 2004) formando un película homogénea.

6.2.1 Microscopía electrónica de barrido (MEB)

Las imágenes MEB a 5000X (figura 7) muestran las películas sol-gel/sedimentación (TIP/TiO₂ USP) sinterizadas a diferentes temperaturas. En estas fotografías se pudo apreciar una capa homogénea del óxido semiconductor; sin presentarse diferencias cualitativas en cuanto a la uniformidad de la capa de TiO₂, con respecto a las temperaturas evaluadas.

En el aumento de 25000X (figura 8), se observaron agregados de TiO₂, los cuales se encuentran reportados al realizar esta técnica cuando se utilizan ciertas cantidades de solvente, puesto que este favorece una mejor polimerización del gel permitiendo dicho aumento de agregados de TiO₂ (Marin *et al.*, 2007). Las fotografías en este aumento permitieron determinar que la homogeneidad y uniformidad en la sedimentación del material no es tan controlada como se observó a un menor aumento; la uniformidad de la película puede estar relacionada con la velocidad de sedimentación del material que puede

variar según el pH al que se tenga la solución, en este caso el pH de 1.3 permitió que el TiO_2 se cargara positivamente y generó repulsión de cargas entre el compuesto, por lo tanto se favoreció un proceso o deposición mas regular; sin embargo, en la zona de influencia del sustrato, el cual estuvo cargado negativamente, se favoreció la sedimentación mas acelerada lo que condujo a que las partículas de tamaños mayores arrastrar a las mas pequeñas lo cual determinó que se generen variaciones superficiales (Fernández , 2011).

A un aumento de 50000X (figura 9) fue posible apreciar la forma y tamaño de grano; en donde la primera característica hace referencia a una forma esférica para la mayoría de los granos y en cuanto a la segunda, este presenta diferentes tamaños en todas las temperaturas.

Las imágenes que se obtuvieron de las películas control TiO_2 USP (figura 10), sinterizadas a las mismas temperaturas, mostraron que las películas calcinadas por encima de 450 °C presentaron diversas fracturas, las cuales no fueron observadas en las laminas TIP/ TiO_2 USP; de acuerdo con algunos autores el incremento en la temperatura genera tamaños de agregados mayores lo cual conduce a la formación de dichas fracturas (Xu *et al.*, 2004; Miki *et al.*, 2009). Así mismo los defectos que se reportaron en estas películas pudieron estar relacionados con diferentes parámetros experimentales como lo son la humedad relativa; como describen algunos autores un aumento (80 %) de esta permite la disminución de las fracturas de las películas, mientras que humedades relativas bajas proporcionan mayores fracturas; así mismo la ausencia de compuestos químicos utilizados en los soles, como catalizadores, generan la formación de mayores defectos de la película, como se describió anteriormente este control se realizó en ausencia de un precursor-solvente-catalizador, los cuales fueron claves para la obtención de películas más homogéneas. (Bockmeyer y Löbmann, 2007).

Las películas del control TIP que se sinterizaron a las mismas temperaturas mostraron diferencias claras respecto a las demás películas evaluadas. En un aumento de 5000X (figura 11), se observó la formación de pequeños agregados amorfos en películas sinterizadas a 50 y 350°C, sin embargo estos agregados a temperaturas superiores, 450, 550 y 650°C no se observaron. En aumentos mayores de 20000X (figura 12), se pudo

diferenciar capas fragmentadas o fracturadas, lo que hace que la película se vea poco homogénea.

La literatura reporta que películas elaboradas por sol-gel/inmersión usando solo el precursor, el catalizador y solvente, sin hacer uso de TiO_2 comercial, presentan homogeneidad o uniformidad sin algún tipo de fracturas (Hamid y Rahman, 2003), o las estructuras que se presentan tienen un tamaño regular y pequeño (Sreemany y Sen, 2004); desde que se cumplan varios ciclos de estos.

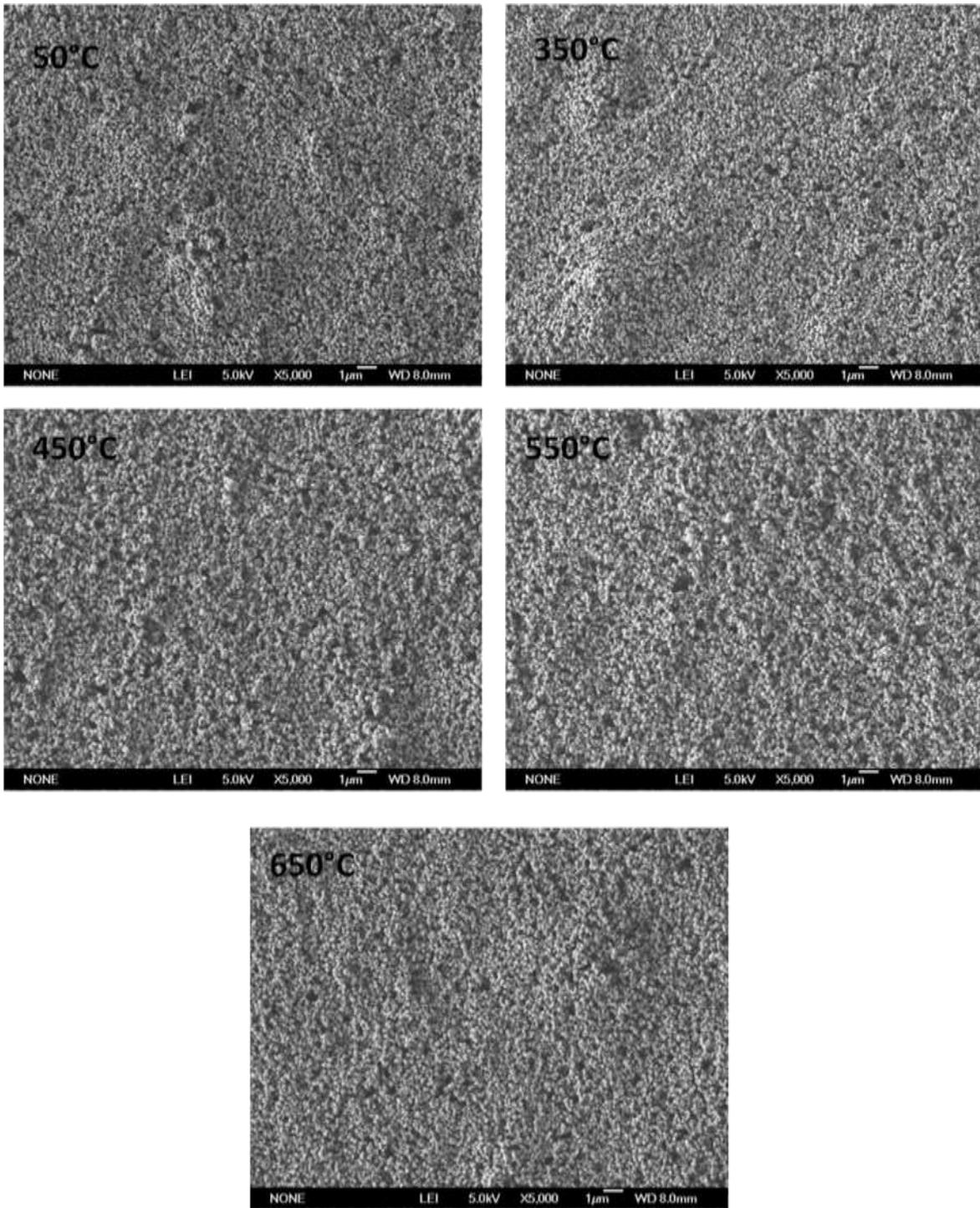


Figura 7. MEB de películas elaboradas por la técnica sol-gel, en aumento de 5000X.

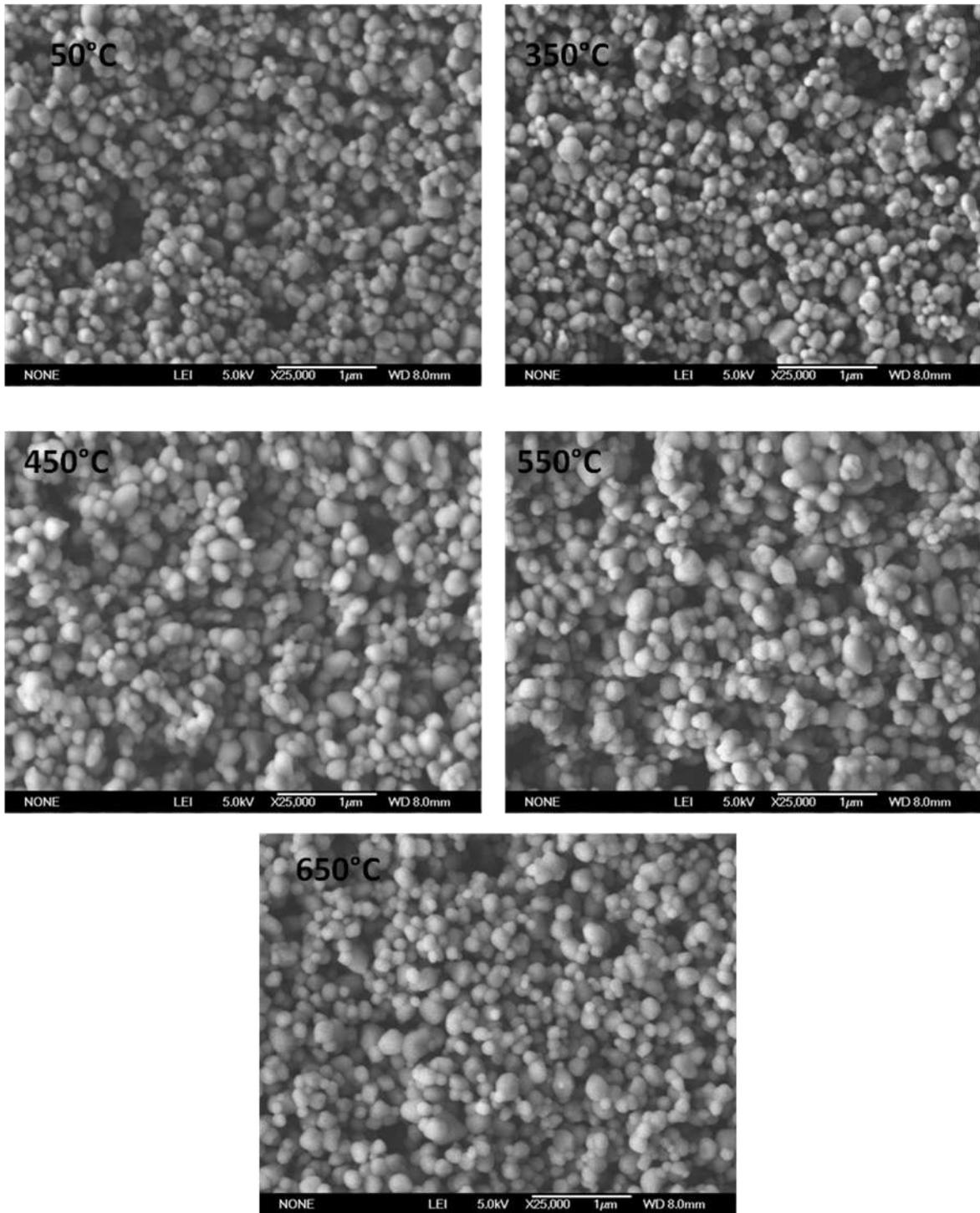


Figura 8. MEB de películas elaboradas por la técnica sol-gel/ sedimentación, en aumento de 25000X.

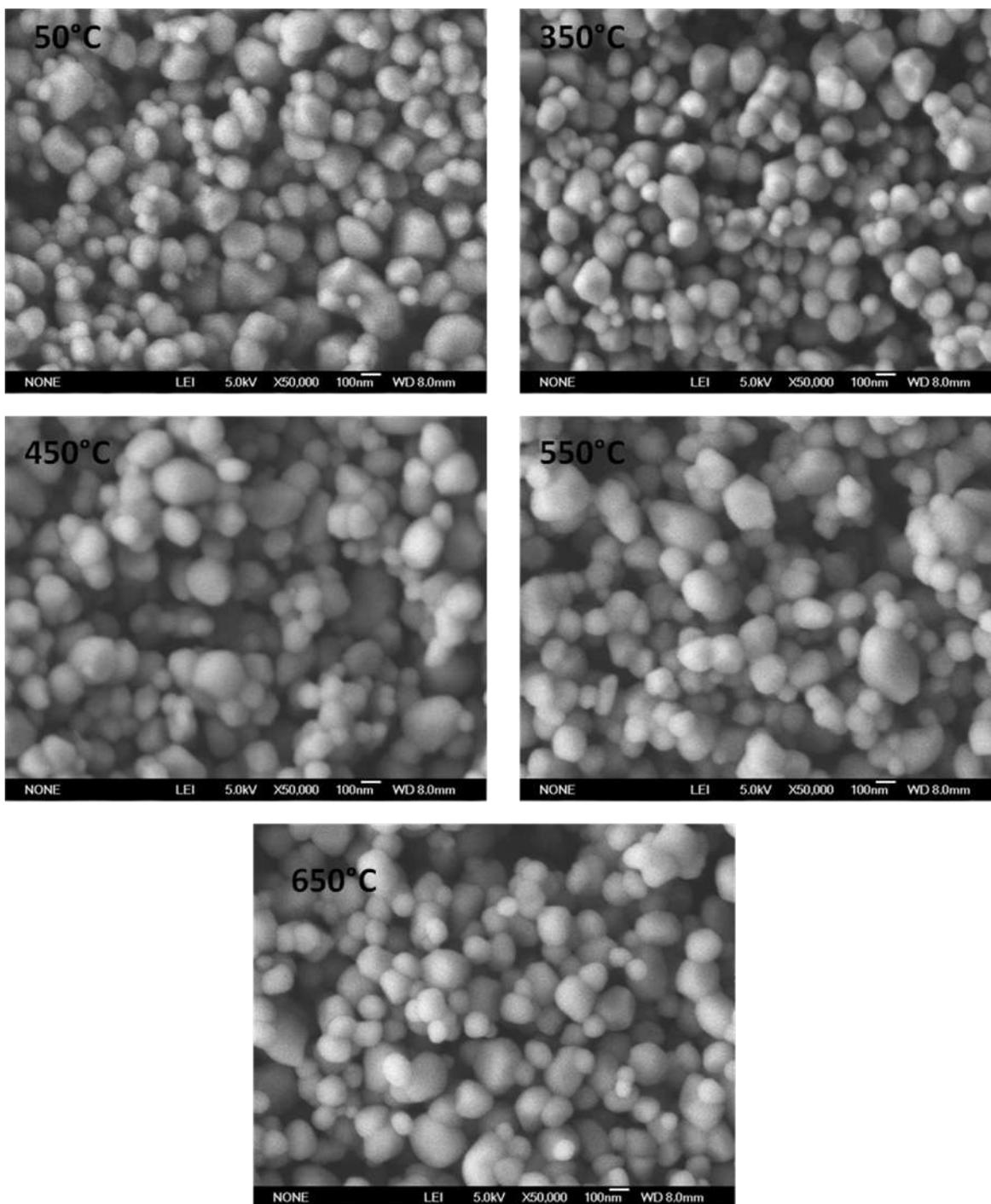


Figura 9. MEB de películas elaboradas por la técnica sol-gel/sedimentación, en aumento de 50000X.

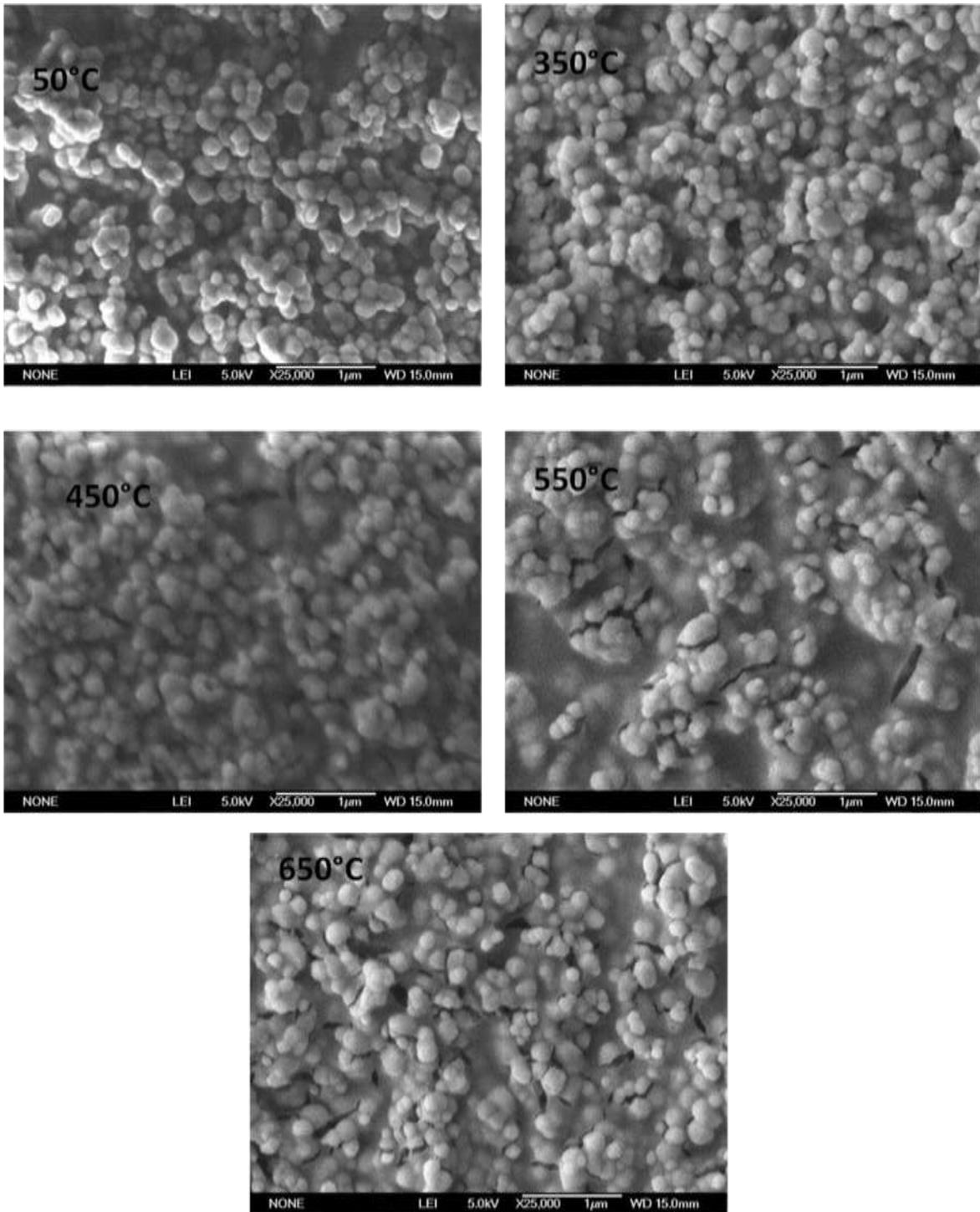


Figura 10. MEB de películas elaboradas con el control TiO₂ USP, en aumento de 25000X.

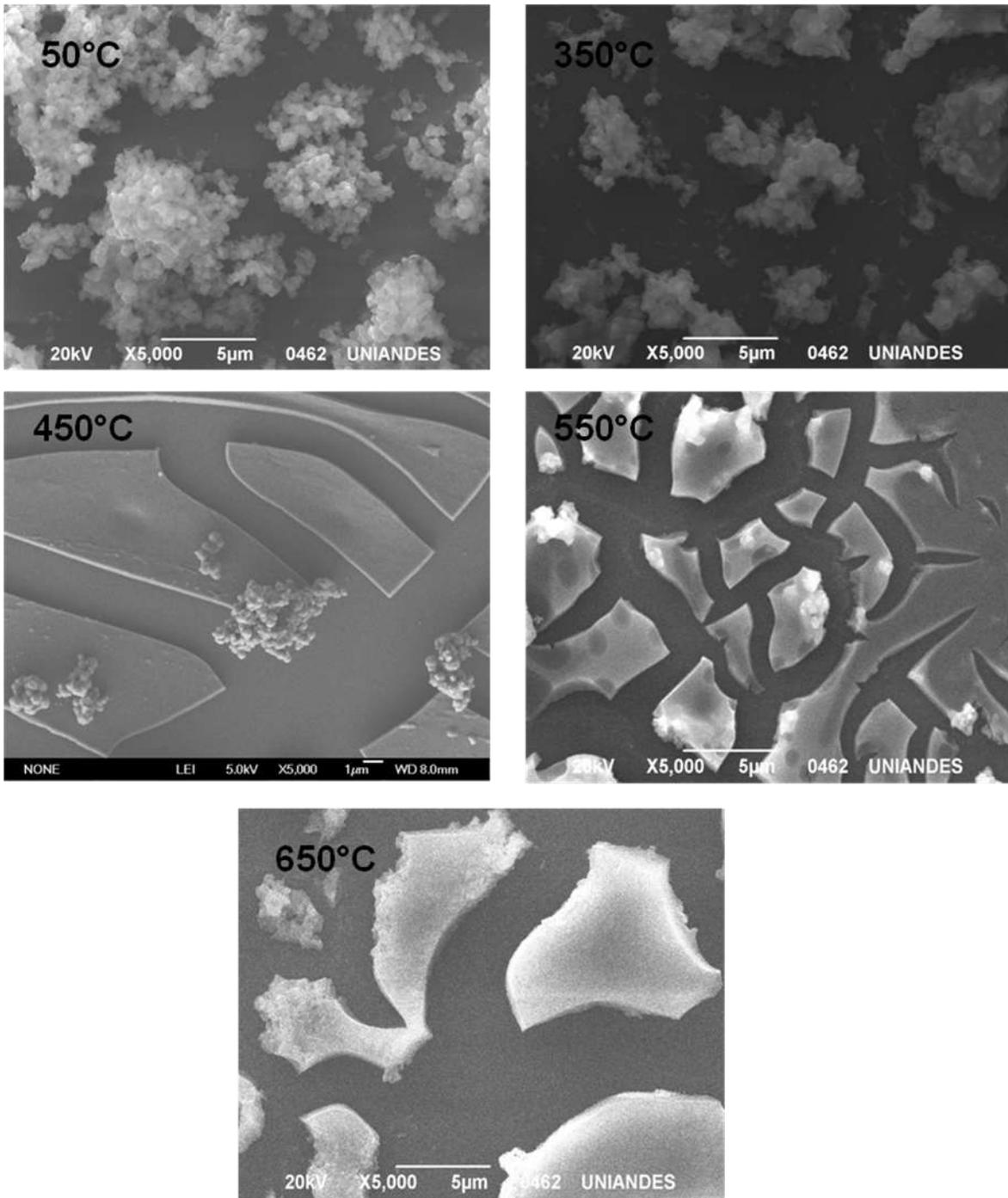


Figura 11. MEB de películas elaboradas por control con precursor TIP, en aumento de 5000X.

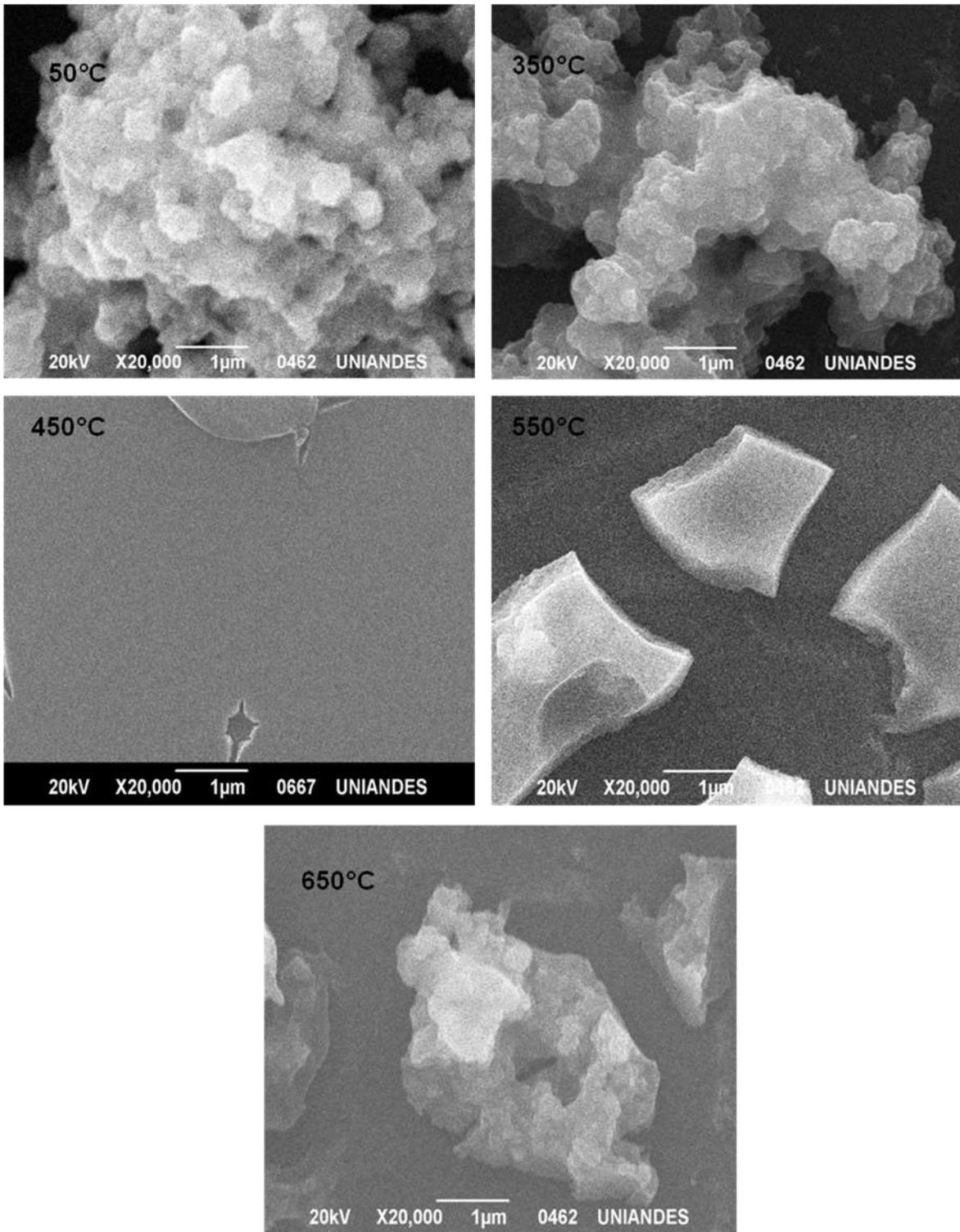


Figura 12. MEB de películas elaboradas por control con precursor TIP, en aumento de 20000X.

6.2.2. Espectro EDS películas elaboradas por sol-gel/sedimentación

Este tipo de análisis permitió verificar o evidenció que el compuesto TiO_2 se encontró sobre el sustrato o en la película formada, en las diferentes temperaturas de sinterizado evaluadas (tabla 6). Los compuestos presentes con mayor prevalencia fueron el titanio y el oxígeno, este último en mayor proporción. En temperaturas bajas (50 y 350 °C) esta proporción de oxígeno superó el 90 % de presencia del compuesto, mientras que en las películas sinterizadas a temperaturas superiores presentaron este compuesto en porcentajes menor, aumentando directamente el porcentaje de titanio. Adicionalmente, este análisis proporcionó información de trazas de otros compuestos que estuvieron presentes en las películas, los cuales posiblemente estuvieron asociados a contaminantes generados en la técnica de crecimiento o las materias primas utilizadas en el proceso; sin embargo, el espectro solo evidenció la presencia de carbono (peso no reportado), esto pudo presentarse por hacer parte de la composición del precursor usado TIP ($\text{Ti}[\text{OCH}(\text{CH}_3)_2]_4$). No se evidenció la presencia de otros elementos; como si es reportado en la literatura, en donde compuestos propios del sustrato como son el silicio se hacen presentes en este tipo de análisis (Mejía *et al.*, 2007), o en algunos casos se presentan trazas de potasio o fósforo, en donde este último se utiliza en la manufactura del TiO_2 (Folli *et al.*, 2010).

Tabla 6. Compuestos presentes en las películas elaboradas por sol-gel sinterizadas a diferentes temperaturas.

Temperatura °C	Titanio % atómico	Oxígeno % atómico
50	3.37	96.63
350	2.62	97.38
450	23.99	76.01
550	22.72	77.28
650	25.79	74.21

6.2.3. Difracción de rayos X (XRD)

A partir de este análisis fue posible encontrar que en las películas TIP/TiO₂ USP, en las diferentes temperaturas de sinterizado, así como en la temperatura control, la fase anatasa es predominante (figura 13). Algunos autores reportan que esta fase solo se obtiene con temperaturas de sinterizado superiores a los 400 °C puesto que esta favorece una mejor cristalización, pero esto claramente no se evidencia en este tipo de películas evaluadas (Ge *et al.*, 2006; Mathews *et al.*, 2009; Acosta *et al.*, 2005). Lo mismo se presentó en la difracción obtenida a partir de las películas con el control TiO₂ USP (figura 14), en estas, la fase anatasa también aparece desde las temperaturas bajas evaluadas (Rojas y Sánchez, 2009; Ge *et al.*, 2006), pero a diferencia de las películas TIP/TiO₂ USP también se presentó la fase rutilo desde temperatura bajas (350 °C).

La fase anatasa en las películas TIP/TiO₂ USP se diferencia con planos tales como (101), presentándose este plano con el pico de mayor intensidad en todas las temperaturas evaluadas; indicando que esta es la “orientación de crecimiento dominante” en este tipo de semiconductor, a pesar de que haya diferencias respecto a la técnica de deposición y sustrato (Alhomoudi *et al.*, 2007; Negishi y Takeuchi, 2001). Adicionalmente aparecen picos propios de esta fase como (004), (200), (105) y (211) con intensidades menores, pero concordantes con los reportados por literatura (Ge *et al.*, 2006). Por otro lado, por estas mismas películas, la fase rutilo no apareció en ninguna de las temperaturas evaluadas, en contraste con lo reportado por Mardare y Rusi (2002), estos autores mencionan que a temperaturas por encima de 650°C la fase anatasa completa su transformación a la fase rutilo; a pesar de esto, otros autores reportan (Kim *et al.*, 2002) que la “temperatura de transición de la fase cristalina depende del catalizador utilizado en sol-gel”; que en el caso de la actual investigación fue peróxido de hidrógeno (H₂O₂). Evidentemente este tipo de técnicas influyen claramente las propiedades de la película, reflejado en la ausencia de rutilo en las películas sinterizadas a temperaturas altas (Jin *et al.*, 2002). Estos reportes son acordes con los resultados obtenidos por el control TiO₂ USP (figura 11), el cual presentó la fase rutilo, con menor intensidad, en todos los tratamientos menos el control (50 °C) con planos característicos propios de dicha fase (110) (101).

La cristalización de la fase rutilo posiblemente puede ser verificada a temperaturas superiores a 650 °C, lo cual no se realizó en el curso de esta investigación, por lo tanto se recomienda en futuros proyectos.

La formación de un solo tipo de estructura cristalográfica, como lo es la anatasa, favorece los procesos fotocatalíticos, puesto que está reportado que en dicha fase alrededor del nivel de Fermi hay una mayor densidad de estados, la cual incrementa la probabilidad de que los electrones sean emitidos, de esta manera tanto estos electrones como los huecos formados reaccionen formando diferentes radicales con alto poder oxidante (Young *et al.*, 2009; Maness *et al.*, 1999). Puesto que hay una relación directa de la fase anatasa con la habilidad de absorber agua (con los h^+ generados) y formar grupos hidroxilo, así como su habilidad en la foto oxidación del O_2 a través del e^- excitado (Kääriäinen *et al.*, 2009; Diebold, 2003).

La difracción que se realizó al control TIP no presentó ningún tipo de fase cristalográfica del material, puesto que es un tipo de precursor amorfo inicialmente solo hay una formación de la red tridimensional por parte de precursor, solvente y catalizador sin la inclusión del TiO_2 que en este caso es USP (figura 13 y 14) (Mejía *et al.*, 2007).

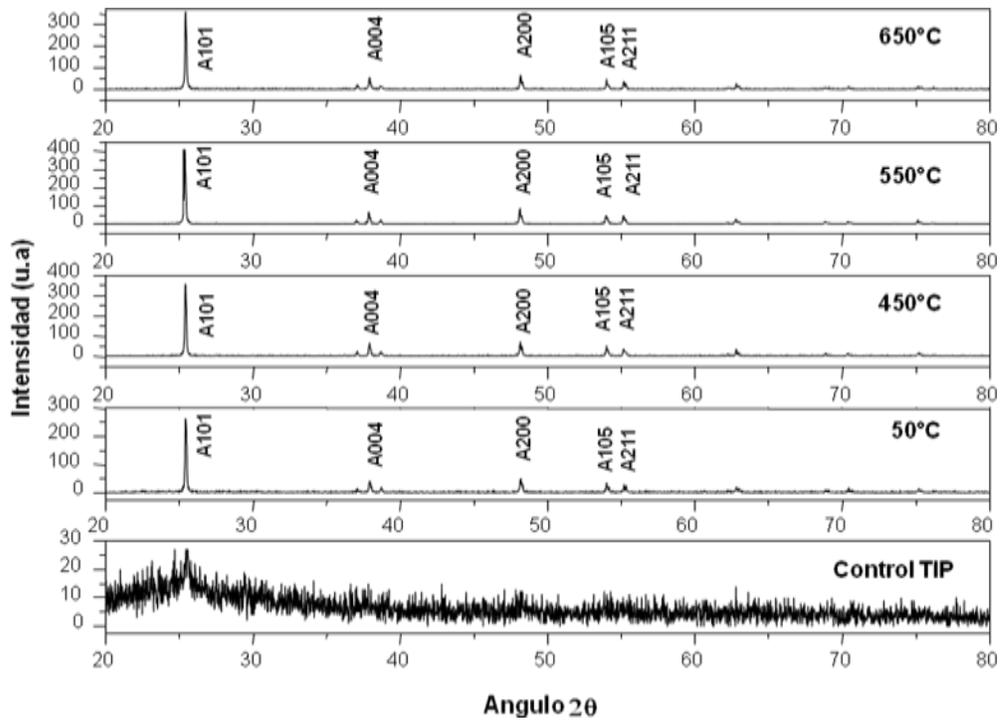


Figura 13. XRD de películas de TiO₂ elaboradas a partir de la técnica sol-gel/sedimentación y sinterizadas a diferentes temperaturas; con control TIP. TIP.

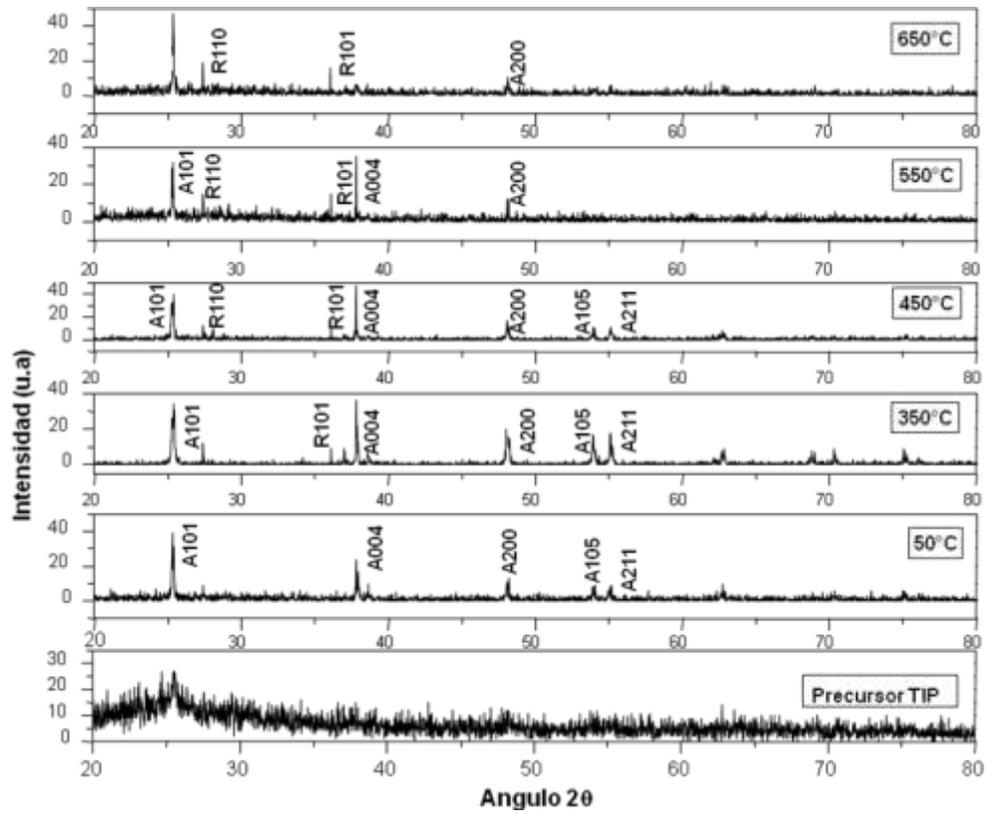


Figura 14. XRD de películas control con TiO₂ USP sinterizadas a diferentes temperaturas; con control TIP (Rojas y Sánchez, 2009).

El tamaño del cristal de las películas TIP/TiO₂ USP se presenta en la tabla 7. No hay un patrón de tamaño cristal uniforme para las temperaturas evaluadas, el menor tamaño lo presentaron las películas sinterizadas a 650 °C.

Tabla 7. Calculo del tamaño de grano l por el programa MAUD Películas TiP/TiO₂

Muestra por tratamientos térmicos	Fase	Parámetros de red		Tamaño del grano (nm)
		a (angstrom)	c (angstrom)	
50	Anatasa TiO ₂	3.7	9.5	361.85
450	Anatasa TiO ₂	3.7	9.5	370.96

650	Anatasa TiO₂	3.7	9.5	192.50
------------	------------------------------------	------------	------------	---------------

6.2.4. Barrido UV-Vis

Los valores experimentales de las películas con el tratamiento sol-gel presentaron un E_g entre 3.1 y 3.23 eV (figura 15a); mientras que las películas del tratamiento control con TiO₂ USP, presentaron valores de gap que oscilaron entre 3.1 y 3.11 eV (figura 15b); los valores encontrados fueron similares a los reportados por la literatura (3.0 eV rutilo y 3.2 anatasa) (Zhao *et al.*, 2008). Estos valores de energía corresponden a longitudes de onda que caen en espectro de luz UV. Lo cual demostró el uso de luz UV como única fuente de energía para la formación de radicales libres desde su incidencia sobre el sólido.

Las películas sinterizadas a diferentes temperaturas, por ambos tratamientos, no presentaron cambios drásticos en cuanto al valor del gap (tabla 8). En cuanto a las películas sol-gel sinterizadas a 450 y 550 °C, comenzaron a transmitir desde 3.1 eV, mientras que en las demás películas este valor estuvo alrededor de 3.2 eV; este último valor concordante con la literatura para la fase anatasa, y estrechamente relacionado con la difracción de rayos X que se realizó para dichas películas.

Los valores del gap que se encontraron para el control TiO₂ USP difieren un poco al reportado, lo cual pudo estar relacionado con la mezcla de fases cristalográficas (anatasa y rutilo) que presentó la caracterización de estas películas.

Adicionalmente, estas diferencias en el valor del gap, para ambos tratamientos, pueden estar asociadas al grosor de la película que depende del proceso de sedimentación, así como de la técnica que se empleó; dicho valor no fue calculado. Los autores que tienen en cuenta este grosor en los cálculos del gap reportan cambios drásticos en E_g cuando son sinterizados a temperaturas superiores a los 1000 °C (Mechiakha *et al.*, 2010), y en otros casos a partir de los 600°C, que son las temperaturas en donde hay una transformación de la fase anatasa a la fase rutilo; así como un cambio en el tamaño de grano que conducen a la

disminución de este valor (Mathews *et al.*, 2009). En algunas investigaciones que emplearon la técnica sol-gel/sedimentación reportaron valores del Gap que superan los 3.5 eV, los cuales difieren un poco de los valores encontrados en el presente estudio. Estos valores están asociados con el incremento o disminución del espesor de la película formada (110 -150 nm), en donde un espesor mayor genera un disminución del Gap; a su vez estos valores están asociados a los tamaños de granos y a las temperaturas de sinterizado, cuando hay un incremento del tamaño de grano hay una disminución de este valor del gap, y cuando hay un incremento de la temperatura también hay una disminución de dicho valor (González y Santiago, 2007; Ge *et al.*, 2006).

Tabla 8. Valores de Gap para películas elaboradas por sol-gel y control TiO₂ USP.

Temperatura °C	Valor de gap USP eV	Valor de gap sol-gel eV
50	3.11	3.21
350	3.10	3.23
450	3.10	3.18
550	3.10	3.10
650	3.11	3.18

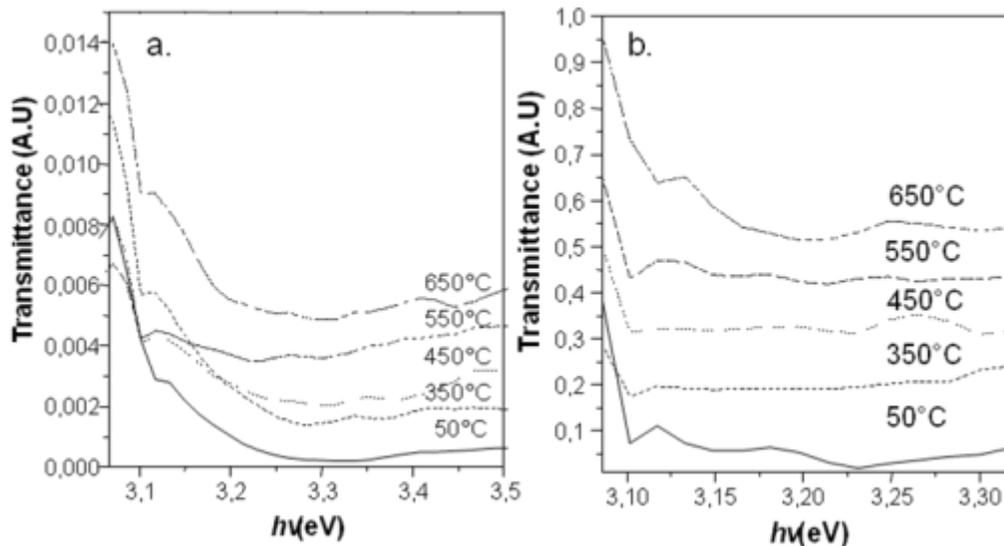


Figura 15. Barrido UV-Vis de a: películas elaboradas pro la técnica sol-gel/sedimentación; b: películas con el control TiO₂ USP.

6.3. Ensayos de inactivación para la selección de la mejor temperatura de sinterizado

El primero ensayo de inactivación fotocatalítica se llevó a cabo con las láminas sol-gel/sedimentación (TIP/TiO₂ USP). Este ensayo se realizó en dos etapas: la primera con las películas control a 50°C y las sinterizadas a 350°C, y un recuento inicial de *E. coli* de 12×10^6 UFC/ml; el segundo ensayo se realizó con las películas sinterizadas a 450°C, 550°C y 650 °C. Adicionalmente fue realizado un ensayo de fotólisis como control, con un recuento inicial de *E. coli* fue de 83×10^6 UFC/ml. Después del proceso de fotocátalisis y fotólisis, realizado por 6 horas, se determinó la inhibición bacteriana por dichos procesos arrojando diversos resultados los cuales se presentan en la figura 16.

Se tomó la temperatura inicial y final del reactor después del proceso de fotocátalisis, para cada ensayo. Esta temperatura no varió entre ensayos, pero si hubo una variación en cuanto a inicio del proceso y al final de este. Se registró para el primer ensayo una temperatura inicial de 20°C y final de 41°C, y para el segundo ensayo se registró una temperatura inicial de 21°C y una temperatura final de 45 °C, este aumento de temperatura estuvo relacionado con el hecho de que este proceso fotocatalítico es de tipo exotérmico

(Linsebigler *et al.*, 1995). Por otro lado, las temperaturas finales que se alcanzaron en el reactor, las cuales estuvieron por encima de 40 °C podrían causar la inactivación de la bacteria, sin embargo se reporta que el rango máximo de tolerancia de la bacteria es de 44-46 °C, por lo tanto la inactivación del microorganismo esta relacionada con otros parámetros dentro del proceso fotocatalítico (Michanie, 2003).

Con los resultados obtenidos de inactivación con las películas TIP/TiO₂ USP se realizó un análisis de varianza para determinar las diferencias entre las temperaturas evaluadas. Este ANOVA arrojó, con un nivel de significancia del 95% y un p igual a 0.001, que se presentaron diferencias significativas entre las temperaturas de sinterizado evaluadas. Adicionalmente fue realizada una prueba Tukey con la cual fue posible establecer que el tratamiento fotocatalítico con las películas control crecidas a 50°C, difiere de los demás tratamientos (figura 16). A pesar de que no hubo diferencia en la fotocatalisis con las películas de diferentes tratamientos térmicos, el mayor porcentaje de inactivación se logró con las películas sinterizadas a 450°C (70.87%). La inactivación de *E. coli* por fotocatalisis estuvo directamente asociada con el proceso de excitación primaria provocada por una fuente de luz en donde se da la formación de pares e⁻/h⁺ los cuales reaccionan con otras especies que se encuentren en el medio permitiendo la formación de radicales hidroxilo OH[°] y otras especies tales como O₂[°], HO₂[°] y H₂O₂ que actúan produciendo daño celular (Sobczyński y Doboszy, 2001; Rizzo, 2009). Por la caracterización física realizada a las películas, como se describió anteriormente, tanto en la temperatura control como las demás temperaturas de sinterizado, se dió la formación de la fase cristalográfica anatasa de TiO₂, la cual favorece los procesos fotocatalíticos, puesto que esta fase presenta una densidad de estados más alta cerca al nivel de fermi, lo que significa que hay un mayor número de e⁻ en este nivel, que es proporcional a la emisión de e⁻ desde la luz UV, lo cual conducirá a un aumento de pares e⁻/h⁺ en el catalizador y finalmente a una mayor formación de radicales hidroxilo. (Young *et al.*, 2009; Maness *et al.*, 1999; Kääriäinen *et al.*, 2009; Diebold, 2003; Sonawanea *et al.*, 2002; Hamid y Rahman, 2003). Adicionalmente, en esta fase los electrones excitados son más estables en la banda de conducción, con una vida más larga y con una mayor movilidad (Coatingsys, 2011; Park y Kim, 2005).

En cuanto al control que se realizó de fotólisis se encontró un porcentaje de inactivación de 62 %, siendo menor al encontrado por algunos tratamientos fotocatalíticos evaluados con las películas TIP/TiO₂ USP sinterizadas a diferentes temperaturas. La inactivación en este caso también estuvo asociada a la formación de radicales libres y anión superóxido O₂^{•-} (Zhao *et al.*, 2005) así como con la generación de dímeros de la base nitrogenada timina u oxidación de guanina (Baram *et al.*, 2009).

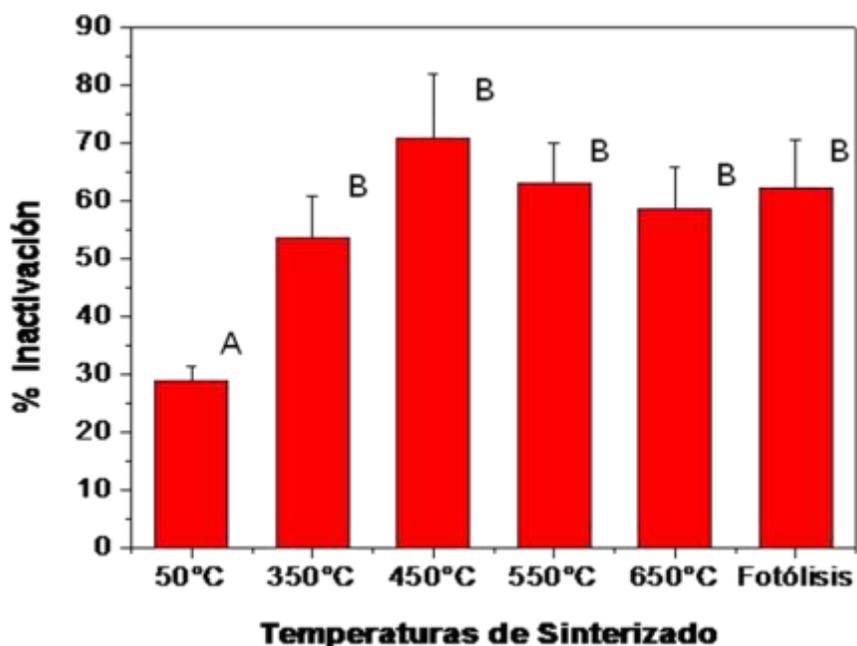


Figura 16. Porcentaje de inactivación de *E. coli* ATCC 8739 con películas TIP/TiO₂ USP y fotólisis como control.

Los controles llevados a cabo con el TiO₂ USP (Rojas y Sánchez, 2009) y el control TIP mostraron diferentes porcentajes de inactivación (figura 17). Los tratamientos fotocatalíticos realizados con el primer control presentaron porcentajes similares de inactivación a los encontrados con los tratamientos llevados a cabo con las películas elaboradas a partir de sol-gel/sedimentación. Sin embargo en este el mayor porcentaje de inactivación se obtuvo con las películas sinterizadas a 550°C. Sin ser significativamente

diferente (p igual 0.021) a los tratamientos con las películas sinterizadas a 50, 350 y 450°C. Con el control realizado con las películas elaboradas a partir del precursor no se encontró diferencias significativas (p igual a 0.762) entre las temperaturas de sinterizado evaluadas respecto a la inactivación de la bacteria, en donde los porcentajes de inactivación oscilaron entre 42 y 48 %.

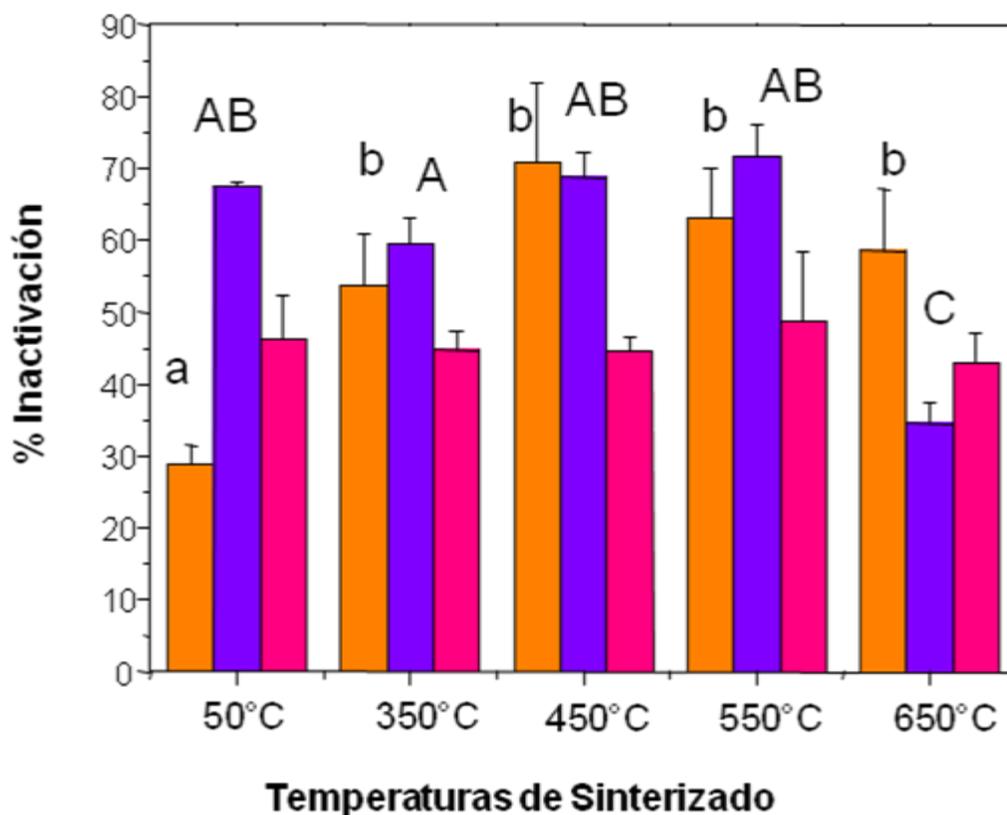


Figura 17. Inactivación de *E. coli* ATCC 8739 con diferentes tratamientos térmicos. Barras naranjas tratamiento TIP/TiO₂ USP; barras rosadas representan tratamiento control TIP; barras moradas control con TiO₂ USP.

Se determinó el desprendimiento de las películas TIP/TiO₂ USP y sus diferentes controles (figura 18). Las películas TIP/TiO₂ USP presentaron los menores porcentajes de desprendimiento, valores entre 4.76 y 2.2 %. Mientras que las películas control de TiO₂ USP (datos de Rojas y Sánchez, 2009), los porcentajes de desprendimiento superaron el 50 % para las películas sinterizadas a 50, 350, 550 y 650 °C, a excepción de las sinterizadas a

450 °C, las cuales solo presentaron un desprendimiento alrededor del 3%. No paso lo mismo con el control de películas TIP, en donde el máximo porcentaje de desprendimiento fue de 10.5 % con la temperatura control 50 °C.

Por otro lado, dentro de las ventajas de la sedimentación acoplada a sol-gel se encuentran la fácil y mejor adherencia del material sobre el sustrato (Sonawanea *et al.*, 2002), así como una mejor calidad de las películas formadas, películas más delgadas teniendo una mayor área y permitiendo la sedimentación no solo en sustratos como cuarzo o vidrio sino también en sustratos con superficies menos homogéneas (Bockmeyer y Löbmann, 2007; Hamid y Rahman, 2003; Sonawanea *et al.*, 2002).

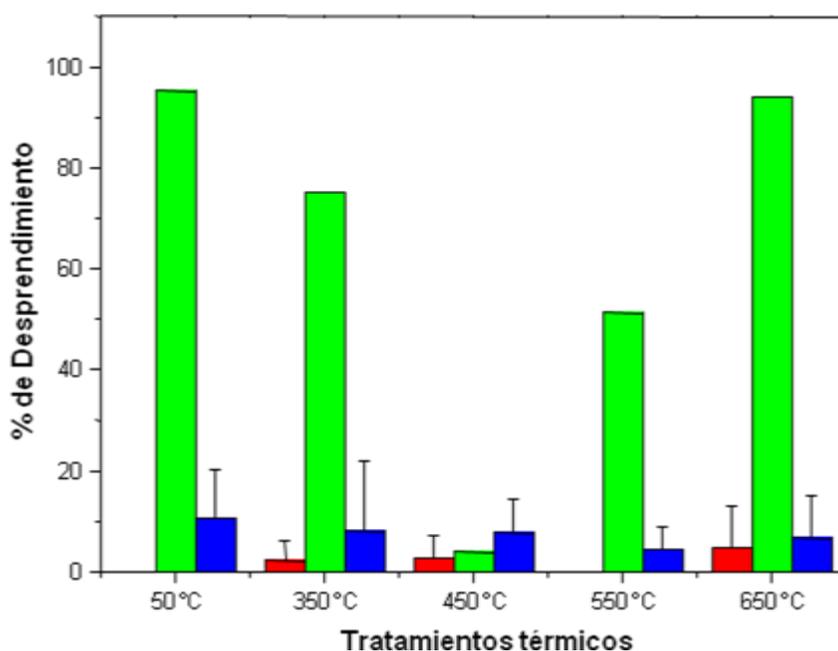


Figura 18. Porcentaje de desprendimiento de las películas TIP/TiO₂ USP y los controles después del proceso fotocatalítico. Barras rojas representan TIP/TiO₂ USP; barras verdes control TiO₂ USP; barras azules control TIP.

Al comparar tanto los porcentajes de inactivación como porcentajes de desprendimiento se concluye que a pesar de que el control con las películas con titanio USP y sinterizadas a 550°C presentó el mayor porcentaje de inactivación, el porcentaje de desprendimiento de estas mismas películas fue superior al 90 %, por lo tanto no se justifica el uso de películas para tratamientos fotocatalíticos calcinadas a esta temperatura. Puesto que la recuperación

del dióxido de titanio no sería fácil; adicionalmente no se podría hacer un re-uso de dicho compuesto, para este tipo de procedimiento; mientras que por este mismo control con las películas sinterizadas a 450°C se obtiene un porcentaje de inactivación cerca al 70% con un mínimo porcentaje de desprendimiento. Así mismo por el método sol-gel se obtiene el mayor porcentaje de inactivación con las películas sinterizadas a 450°C, teniendo desprendimientos mínimos de la película pos-tratamiento. Finalmente la inactivación lograda con las películas con el control TIP, puede estar asociada a la acción de la lámpara UV.

Se llevó un registro del pH inicial y final de cada tratamiento fotocatalíticos en donde se evaluaron las temperaturas de sinterizado de las películas elaboradas por sol-gel/sedimentación (figura 19). Después de 6 horas el pH cae en todos los tratamientos por fotocatalisis, valores que se encuentren entre 4.5 y 6.5, sin embargo no se presentó esta disminución en el tratamiento fotolítico. El pH es un factor que es reportado en la literatura como relevante en los tratamientos fotocatalíticos, puesto que por debajo del punto isoeléctrico (6.5) el TiO₂ adquiere carga positiva, lo cual puede favorecer la atracción entre moléculas orgánicas o microorganismos y de esta manera se facilite la eliminación de estos a través de los productos generados por la radiación UV sobre el sólido (Cohen-Yaniv *et al.*, 2008). Como se observa en los resultados de la figura 19, los pH iniciales de los tratamientos con las película sinterizadas a las temperaturas más altas se encuentran por debajo del punto isoeléctrico, sin embargo estos tratamientos no se vieron más favorecidos por tener un pH mas bajo a este punto, dado que la inactivación a 350°C no es diferente significativamente a los demás tratamientos en cuanto a la inactivación. Rincón y Pulgarín (2004) reportan que el porcentaje de inactivación de *E. coli* es independiente al pH inicial de la suspensión, sin embargo hay mayor inactivación de este si durante el proceso fotocatalítico se agrega algún tipo de ácido al inóculo hasta bajar dicho pH inicial. Algo similar es documentado por Alrousan *et al.*, (2009) en donde los ajustes al pH inicial entre 5.5 y 8.5 no afectaron el proceso de inactivación.

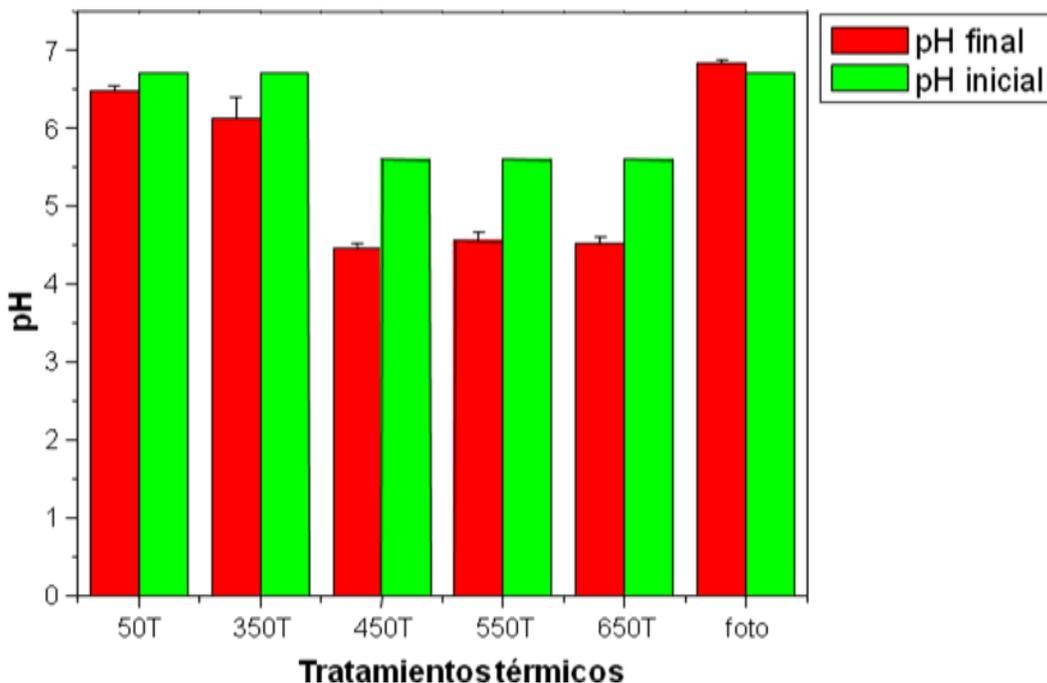


Figura 19. pH inicial y final de tratamientos fotocatalíticos con películas sinterizadas a diferentes temperaturas y el tratamiento de fotólisis. Barras en rojo representa pH final; Barra en verde pH inicial.

6.4. Diseño factorial 2^2

Para evaluar el efecto del material de reactor (X_1 : -1 borosilicato(pyrex); +1 silicato sódico-(cuarzo)) y la longitud de onda de las lámparas (X_2 : -1: 254 nm (UV); +1: 430 nm (blanca)) sobre la actividad fotocatalítica de las películas de TiO_2/TiP y su control TiO_2 USP se realizaron dos diseños factoriales. Estos experimentos se llevaron a cabo con las películas realizadas por la técnica sol-gel (TiP/TiO_2 USP) y sinterizadas a $450^\circ C$; ya que por resultados preliminares (figura 16), con esta temperatura obtuvieron los mayores porcentajes de inactivación. Para las primeras (TiP/TiO_2 USP) se observó, de acuerdo con los resultados de la prueba ANOVA, que X_1 y X_2 (figura 20) en sus niveles bajo y alto tuvieron un efecto significativo (P : 0.028 y <0.0001) obteniendo unos porcentajes de

inactivación de 63.63% (T1: 254/pyrex), 47.25 % (T2: 254/cuarzo), 10.97 % (T3: 430 nm/pyrex) y 8.81 % (430 nm/cuarzo).

Determinando que la ecuación que definió el modelo fue:

$$\text{Inactivación.(\%)} = 48.1 + 5.5x_1 - 2.9x_2 - 2.4x_1x_2 \quad (11)$$

Con respecto al segundo factorial (figura 21) los resultados de la prueba ANOVA indicaron que tanto X_1 , X_2 y su interacción tuvieron un efecto significativo (P: 0.0072, <0.0001 y 0.0225) obteniendo unos porcentajes de inactivación del 69.92% para el tratamiento T1.

Determinando que la ecuación que definió el modelo fue

$$\text{Inactivación.(\%)} = 32.27 - 4.57x_1 - 22.5x_2 + 3.6x_1x_2 \quad (12)$$

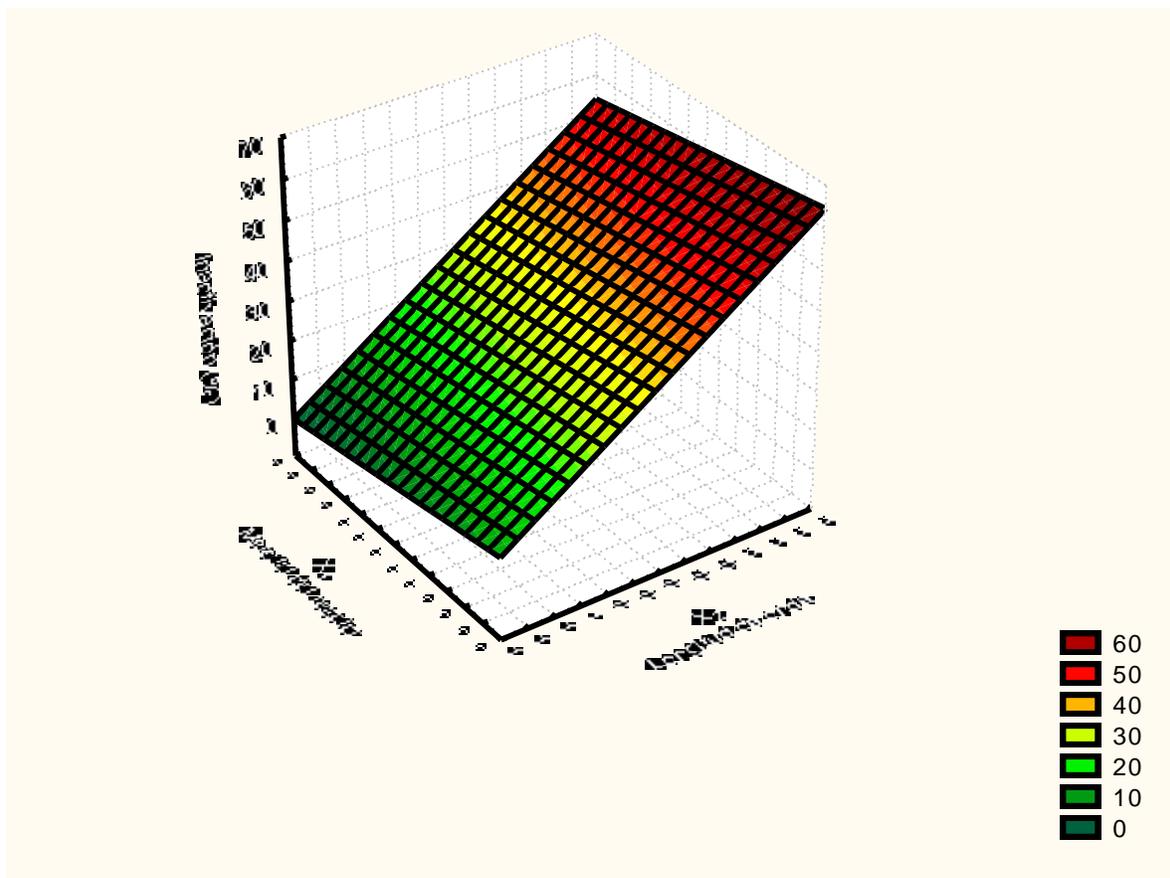


Figura 20. Representación 3D del efecto del longitud de onda y el material del reactor sobre la inactivación de *E. coli*, con películas TIP/TiO₂.

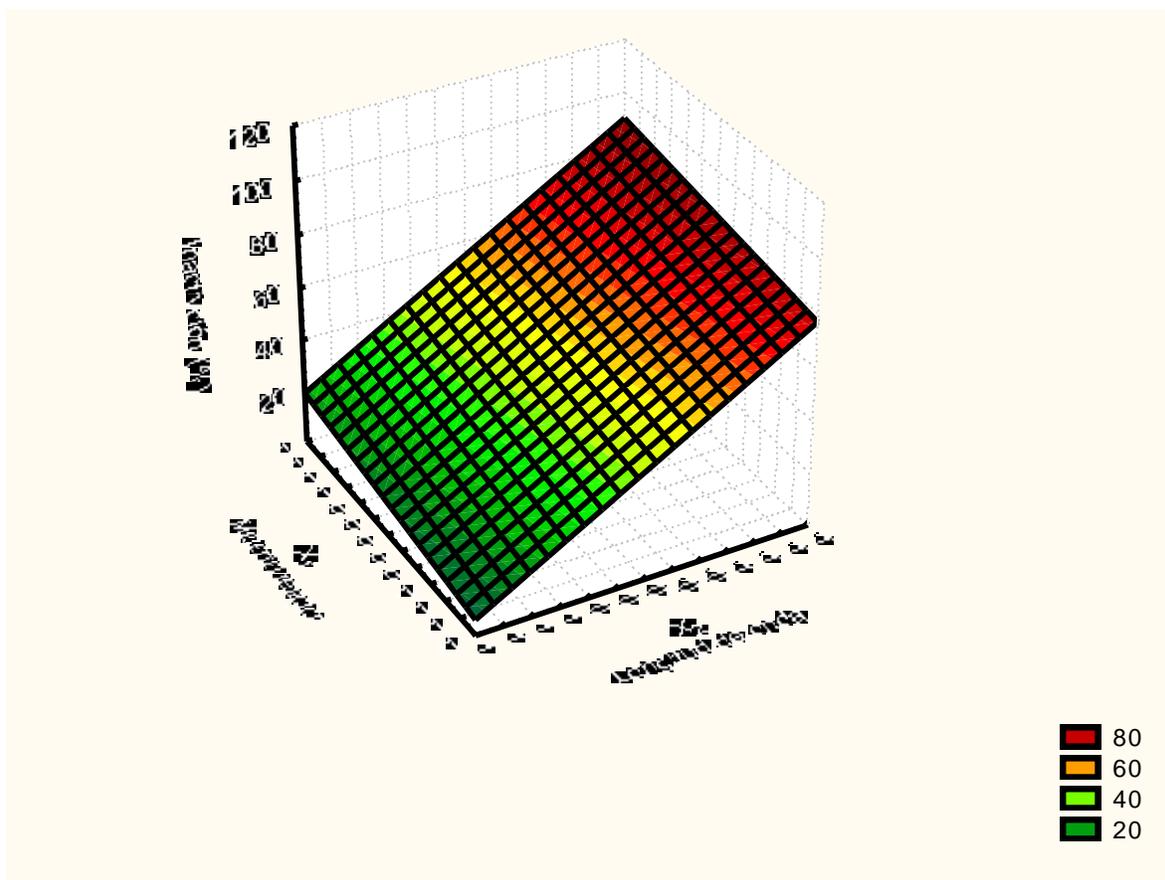


Figura 21. Representación 3D del efecto del longitud de onda y el material del reactor sobre la inactivación de *E. coli*, con películas control TiO₂ USP.

El mayor porcentaje de inactivación con las películas TIP/TiO₂ USP, como su control TiO₂ USP, se presentó con la lámpara de emisión de luz UV (inoculo inicial 10⁸ UFC/ml) (figura 22). Se esperaba que con este tipo de emisión la inactivación de la bacteria fuese mas alta, puesto que la luz presentó su máximo de emisión en 254 nm equivalente a 4.88 eV (figura 23a), energía suficiente que permitió que los electrones de la banda de valencia superaran

el gap, propio del material (3-3.2 eV), y pasaran a la banda de conducción formando pares e^-/h^+ que reaccionaron con las especies que se encontraban en el ambiente líquido formando radicales hidroxilo (OH°) y otro tipo de radicales ($O_2^{\circ-}$, HO_2°) que condujeron a la muerte de las bacterias (Sobczyński y Doboszy, 2001; Rizzo, 2009; Ohno et al., 2004). En contraste, la lámpara de luz blanca la cual tuvo un rango de emisión entre 350 y 650 nm, correspondiente a 3.54 eV y 1.90 eV (figura 23b), en donde su máximo de emisión tuvo un valor en energía de 2.87 eV, por lo tanto esta lámpara no proporcionó la energía suficiente para la excitación de los e^- , inhibiendo la generación de radicales en la superficie del semiconductor TiO_2 . A pesar de esto hay una inactivación con esta lámpara que puede estar asociada a picos de menor intensidad que generen dicha energía (Rojas y Sánchez, 2009; Huang *et al.*, 2000). Con relación al material del reactor utilizado hay diferencia entre la técnica sol-gel (TIP/ TiO_2 USP) y el control con TiO_2 USP. Donde las mejores condiciones de inactivación por sol-gel se lograron con luz UV/pyrex, mientras que con el control TiO_2 USP se logró con luz UV/cuarzo (figura 20 y 21). En la literatura se encuentra que el cuarzo o silicato de sodio presenta mejores propiedades ópticas para la transmisión de rayos UV, cuyo rango de emisión se encuentra entre 240 y 450 nm (figura 24), esto permite la transmisión de longitudes de onda emitidas por la lámparas de luz UV; a diferencia del vidrio, el cual tiene impurezas como trazas de iones metálicos (Fe^{3+}/Fe^{2+} , Pb^{2+}) que no permite que hayan transmisiones de longitudes de onda por debajo de 300 nm (figura 24) (Carp *et al.*, 2004); como consecuencia con materiales de cuarzo se reporta hasta un 100% de inactivación de *E. coli* (10^4 UFC/ml) en tiempos menores a 200 minutos (Belapurkar *et al.*, 2006). El cuarzo es utilizado en procesos fotocatalíticos por sus propiedades de transmitancia, permitiendo paso de las longitudes de onda de luz UV, y una mayor resistencia química, esta última característica hace referencia a su resistencia a la presión de fluidos, resistencia a la abrasión y su comportamiento inerte frente a los contaminantes (Portela, 2008); sin embargo, estas últimas características las cumple el pyrex. Algunos autores mencionan que no hay diferencias en la inactivación de microorganismos en cuanto al material de reactor, por lo tanto el uso de reactores de vidrio facilita la manipulación y la disminución de costos, datos que concuerdan los resultados obtenidos en esta investigación (Cohen *et al.*, 2008).

En cuanto al pH para los diferentes tratamientos evaluados, al inicio del proceso fotocatalítico estos se encontraron alrededor de 5.8 pero al final de los tratamientos (6 horas) estos pH aumentaron. Este cambio de pH puede estar relacionado directamente con el aumento de volumen del reactor y el número de películas en cada uno de ellos, permitiendo que en el medio acuoso hubiese un aumento de radicales hidroxilo, generados por el proceso, los cuales se dispersaron en dicho medio, favoreciendo finalmente el aumento del pH (figura 22).

Finalmente las mejores condiciones para las películas técnica sol-gel fueron proporcionado por luz UV/pyrex, sin embargo para seguir una secuencia en cuanto a la comparación con los tratamientos restante se siguieron las misma condiciones evaluadas por Rojas y Sánchez (2009) con el control de TiO₂ USP, en donde las condiciones óptimas del tratamiento se lograron con luz UV/cuarzo.

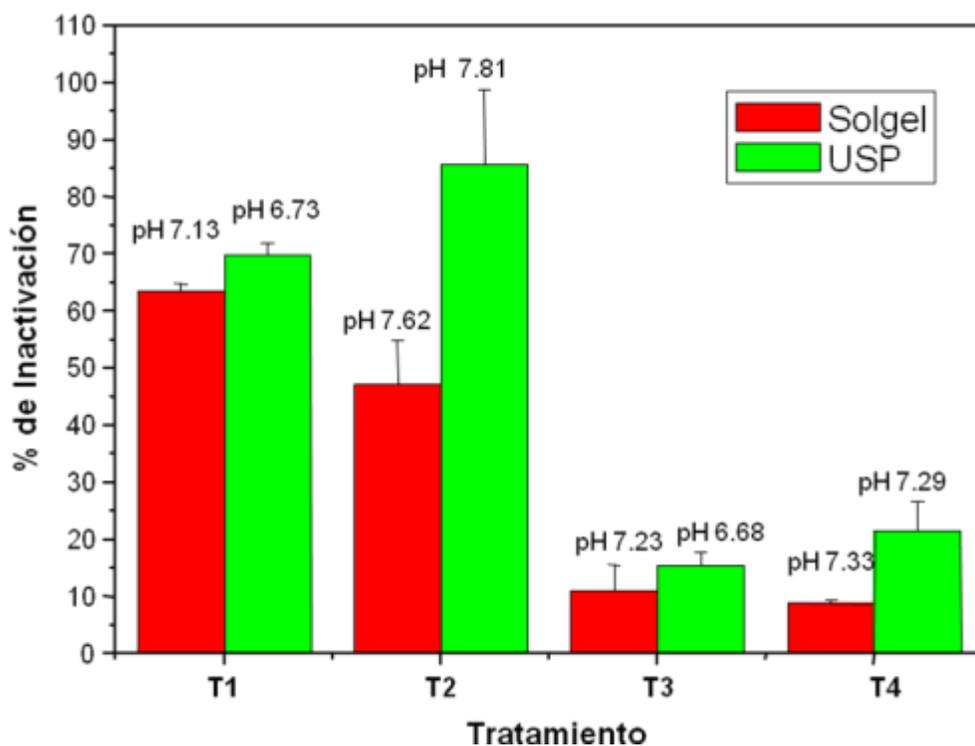


Figura 22. Porcentaje de inactivación *E.coli* ATCC 8739 a partir del diseño factorial 2². Barras rojas: tratamientos sol-gel; barras verdes tratamiento control con TiO₂ USP . Inactivación a 6 horas.

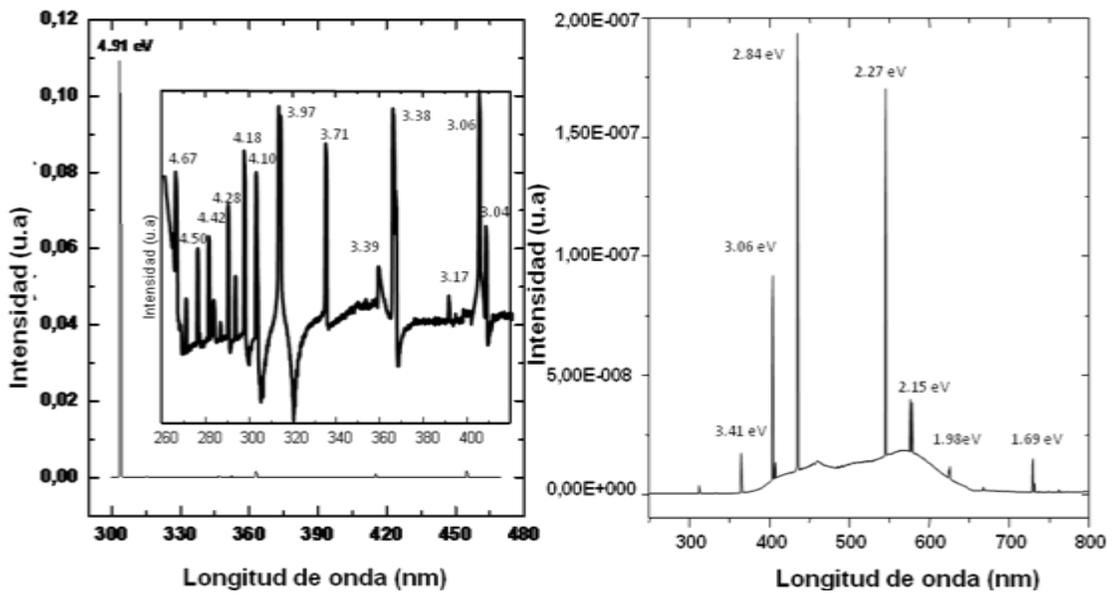


Figura 23. Espectro UV-vis a) luz UV; b) luz visible.

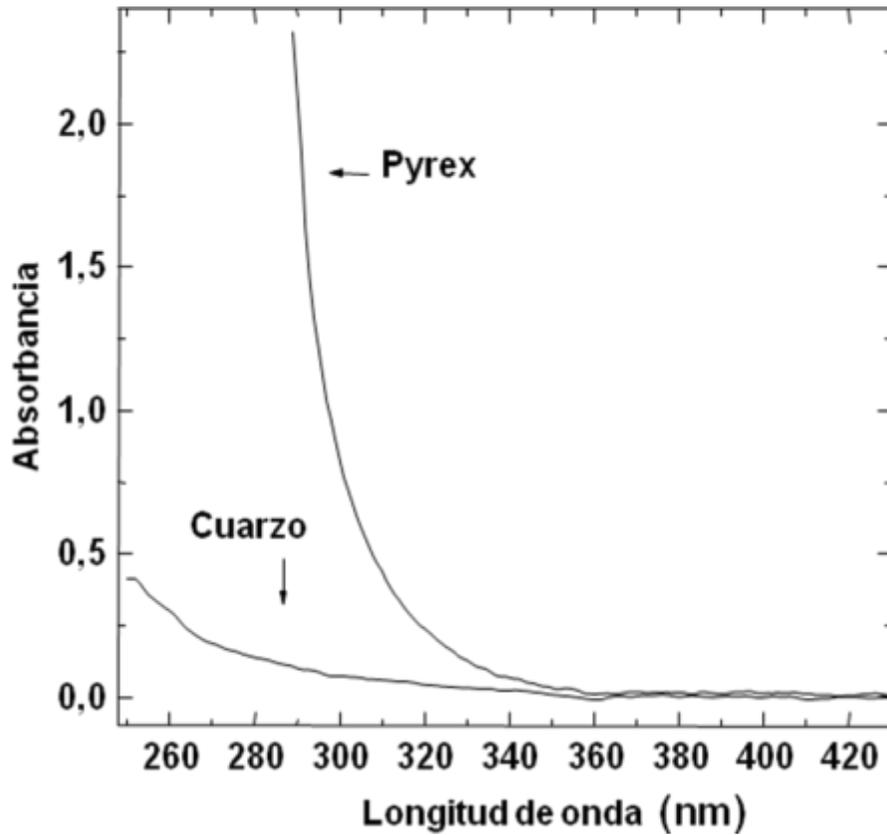


Figura 24. Espectro de absorción de vidrio cuarzo y pyrex

6.3.1. Curvas de inactivación bajo condiciones seleccionadas y dos concentraciones iniciales de *E. coli* ATCC 8739

Las curvas de inactivación se llevaron a cabo con el reactor de cuarzo, las lámparas de luz UV y películas TIP/TiO₂ USP y TiO₂ USP sinterizadas a 450 °C, condiciones seleccionadas a partir de los resultados obtenidos previamente. Se tuvieron en cuenta dos controles para cada curva: Adsorción (películas en oscuridad) y UV (tratamiento fotolítico). Cada curva se realizó con dos inóculos diferentes de la bacteria y por triplicado.

Los resultados integrados de las curvas de inactivación (con su desviación estándar) con las películas TIP/TiO₂ USP y su control TiO₂ USP (Rojas y Sánchez, 2009) se presentan en las figuras 25 y 26.

En cuanto al porcentaje de inactivación de *E. coli* obtenido con las películas TIP/TiO₂ USP a elevadas concentraciones (inoculo inicial 10⁸ UFC/ml) los resultados demostraron que a los 30 minutos hubo una inactivación cerca al 100% (99.95 %) presentándose a diferentes tiempos una disminución en el porcentaje de inactivación, y en la muestra tomada a los 840 min (muestra final), un porcentaje de inactivación igual al que se encontró a los 30 minutos (99.95 %).

El comportamiento “shoulder” o irregular de la curva de inactivación pudo tener diferentes orígenes (Bautista, 2009). Uno de ellos está relacionado con la sensibilidad de la técnica microgota la cual está por encima de 50 UFC, por lo tanto un porcentaje de células no pudo ser detectado (0.05 %). Esto proporcionó que poblaciones viables pero no cultivables tuvieron la posibilidad de aumentar su número en los tiempos posteriores que se evaluaron. Esta detección posterior de bacterias pudo estar ligada a los mecanismos que surgen por el estrés generado, en este caso por las especies con alto potencial de oxidación que se formaron en el proceso fotocatalítico. Los mecanismos de supervivencia, principalmente de bacterias Gram-negativas, que un principio permitieron la viabilidad del microorganismo a través de la resistencia a condiciones ambientales, posteriormente permitieron su multiplicación, lo que condujo a su cultivo posterior. Como se reporta en la literatura, bacterias como *E. coli* pueden existir como células viables pero no cultivables (VNC por sus siglas en inglés), las cuales hacen referencia a un estado dormante celular, diferente al

estado vegetativo; así mismo este tipo de estado surge por condiciones de estrés como exposición a hipoclorito, cambios en la temperatura o cambios en las concentraciones de sales (Polifroni *et al.*, 2009; Brandt y Podivinsky, 2008) . Los procesos de inactivación fotocatalítica, pueden generar stress, como se mencionó antes, en las bacterias donde se afecta principalmente la síntesis del mRNA con la consecuente reducción en la síntesis de proteínas, adicionalmente afectan la capacidad de las bacterias de obtener nutrientes del medio externo; estos fenómenos también impiden la recuperación de las células estresadas en los medios de cultivo, por lo que en tiempos cortos de estudios, es frecuente encontrar recuentos cercanos a cero, sin embargo se ha demostrado que las bacterias después de un tiempo puede inducir mecanismos de reparación que permiten a las bacterias cambiar sus estructuras, de tal manera que las bacterias inician su proceso de duplicación, estos mecanismos se han demostrado en *Salmonella*, donde se ha observado que después de 15 minutos de exposición al proceso de inactivación, *Salmonella* es recuperada, fenómeno que se pudo presentar en este estudio (Bautista, 2009).

Reportes de estas VNC han sido descritas por Paleologou *et al.*, (2007) en el caso de coliformes totales, en donde encontraron recuentos a los 60 y 240 minutos, después de un proceso de desinfección fotocatalítico con TiO₂ y UV. Se ha documentado la aparición de este tipo de células durante y después del proceso fotocatalítico posiblemente por efectos sub-letales, debido al ataque de los diferentes especies radicales, conduciendo a la formación de estas colonias por “deficiencia en el transporte de electrones o mutación en los genes encargados de la biosíntesis de la menaquinona” (Ede, 2006).

Algunos autores mencionan que los sobrevivientes se pueden ver favorecidos por residuos generados de las células muertas al comienzo del tratamiento, generando una protección hacia estos (Humpheson *et al.*, 1997; Bautista, 2009); así mismo se ha sugerido que “poblaciones de bacterias que genotípicamente son homogéneas, presentan diferencias fenotípicas en cuanto a la resistencia no homogénea a los agentes letales” (Humpheson *et al.*, 1997).

Adicionalmente, también se encuentra reportado que el daño en la membrana celular en algunos casos no es suficiente, puesto que las bacterias pueden presentar mecanismos de recuperación de esta (Gelover *et al.*, 2006); por lo tanto se puede presentar una disminución en el porcentaje de inactivación del microorganismo.

Se han documentado diferentes factores como interferentes en procesos fotocatalíticos, los cuales disminuyen la eficiencia del proceso y están asociados con porcentajes más bajos de desinfección o degradación de diferentes compuestos. Dentro de estos factores y como se ha mencionado con anterioridad se encuentra el pH, la densidad y especie de la bacteria, tiempo de contacto previo, la presencia de iones orgánicos e inorgánicos, o diferentes tipos de aniones.

En este caso, el pH inicial estuvo por debajo del punto isoeléctrico (5.91) (figura 25c) lo que favoreció que el compuesto se cargara positivamente y de esta manera generó una atracción de la bacteria hacia este, sin embargo los pH posteriores estuvieron por encima del punto isoeléctrico (6.5) lo que pudo en primera instancia ser el producto de las especies generadas, como se explicó con anterioridad, y a su vez este proceso pudo generar un cambio de carga en la superficie del catalizador, evitando la atracción; sin embargo, a pesar que este sigue siendo un factor importante dentro de estos tratamientos no es determinante, puesto que a lo largo de la curva, la inactivación que se presentó fue alta (Cohen *et al.*, 2008).

En la literatura está reportado, que dentro de procesos fotocatalíticos influye fuertemente la densidad y la especie de la bacteria, en donde densidades altas del microorganismo (figura 25 a) permiten mayor contacto entre la superficie del catalizador y la luz UV, mientras que densidades menores, como se muestra en la figura 25b, no se vieron tan afectados, puesto que los porcentajes de inactivación fueron menores (Cohen *et al.*, 2008).

El tiempo de contacto es importante previo al proceso fotocatalítico puesto la adherencia a la superficie del catalizador afecta la integridad de la membrana lo cual afecta su permeabilidad (Rizzo *et al.*, 2009). Finalmente, los iones orgánicos e inorgánicos presentes son también importantes dentro un proceso fotocatalítico, puesto que dentro de lo reportado la presencia de “fosfatos y cloruros afectan la tasa de inactivación alrededor del 70%”, como se describió en el punto 6.2 en cuanto a fósforo total este se encontró presente (2.06 mg /L) así como nitrógeno total (40 mg/L), los cual pudieron afectar dicho proceso (Rincón y Pulgarín, 2004; Ede, 2006), concluyendo que la presencia de diferentes aniones conduce a una competencia con las bacterias por los radicales formados en el proceso. La inactivación que se logró fue superior a dos órdenes de magnitud, que para un sistema complementario de desinfección es suficiente.

Respecto a la desinfección con concentraciones más bajas (10^5 UFC/ml) con el tratamiento TIP/TiO₂ USP se presentó un comportamiento similar (figura 25b), no obstante el tiempo de inactivación fue más prolongado (120 minutos) que el determinado con las concentraciones más altas en donde también se obtuvo un 99.95 % de inactivación. Este efecto está asociado, como se reporta en la literatura, a las bajas concentraciones o a la menor densidad del microorganismo, puesto que bajo esta condición la inactivación puede ser menos eficiente debido a la disminución del contacto directo que se da entre la superficie del catalizador y la membrana de la bacteria conduciendo a la menor “transferencia de radicales libres”; por lo tanto la oxidación de las bacterias es más efectiva, cuando hay una mayor densidad de estas, puesto que esta cantidad estará presente en la zona del reactor que involucre las películas y la luz UV directa (Cohen *et al.*, 2008; Gárces *et al.*, 2004). Adicionalmente, el pH por debajo del punto isoeléctrico del TiO₂, favorecen aun más el proceso fotocatalítico, en este caso como se observa en la figura 25d, el pH es básico por lo tanto las partículas del TiO₂ no se cargan positivamente, lo cual pudo generar mayor repulsión entre la superficie de la películas y la bacteria (Cohen *et al.*, 2008).

Al comparar estos datos con las curvas de inactivación por fotólisis (inoculo inicial 10×10^7) se evidenció que la inactivación fue del (99.95 %) a los 30 minutos de exposición, este porcentaje se mantuvo constante en los demás tiempos evaluados, lo que no ocurrió con las curva de TIP/TiO₂ USP, en las cuales se presentaron variaciones en los porcentajes de inactivación, como se describió anteriormente. Se esperaba que la inactivación fuera muy similar entre estas dos curvas, y que con las películas con TIP/TiO₂ USP el porcentaje de inactivación fuese superior en todos los tiempos evaluados, ya que el TiO₂ irradiado por la luz UV produce tanto especies con alto poder oxidante como daños en las bases nitrogenadas. Una posible explicación a este proceso está relacionada con la presencia de fosfatos en el medio acuoso, como se discutió anteriormente. Dichos fosfatos pudieron disminuir la eficiencia del proceso fotocatalítico posiblemente por la formación de una capa de sal inorgánica en la superficie de la película que limitó el proceso en algunas de estas, por lo tanto los aglomerados de las bacterias permitieron que ciertas células se vieran favorecidas por el proceso, en este caso las que recibieron la incidencia de la luz directa

(Marugán *et al.*, 2008). Esta aglomeración de bacterias también pudo estar relacionada con los agregados del compuesto sobre el sustrato, como se describió anteriormente la superficie del catalizador no es totalmente homogénea por lo tanto esto pudo favorecer que ciertas células quedaran entre estos, inhibiendo la muerte de algunas células o generándoles protección y posible mecanismos de resistencia (descritos antes), lo cual no pasa con fotólisis en donde no hay una película que pueda conducir a este posible proceso, por lo tanto la inactivación en este caso se vio más favorecida.

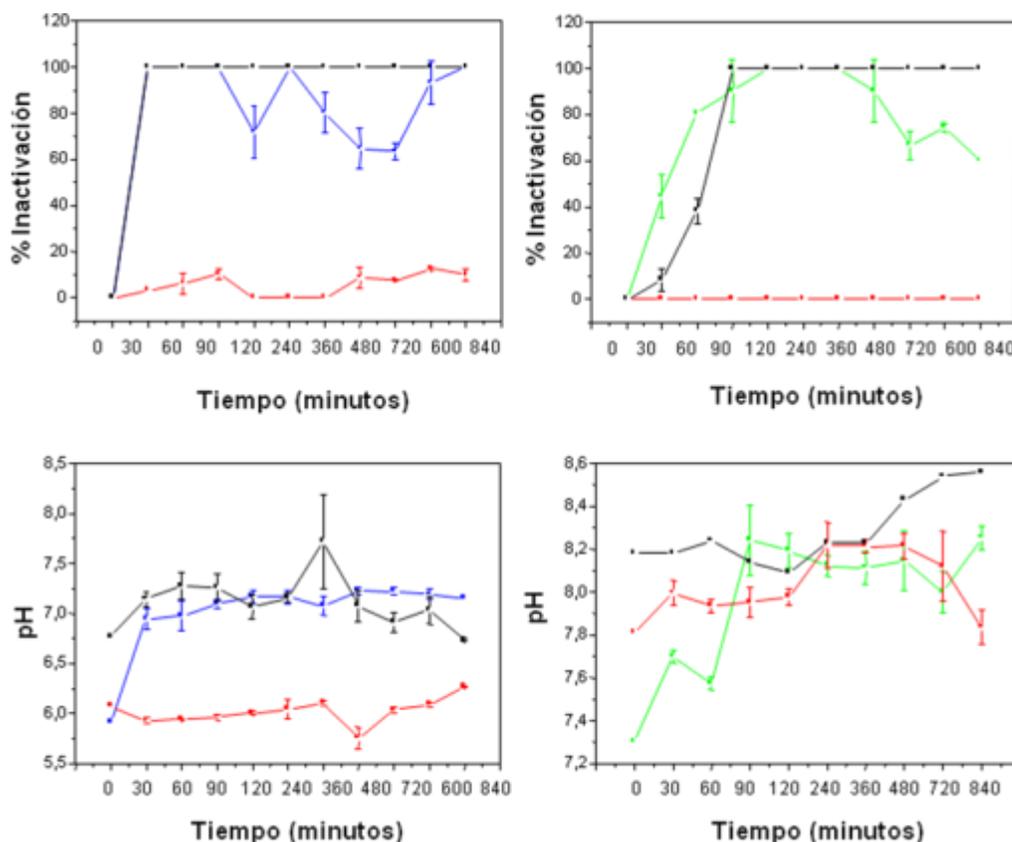


Figura 25. Curvas de inactivación de *E. coli* en altas y bajas concentraciones de absorción, fotólisis y fotocatalisis con películas TIP/TiO₂ USP a: curvas altas cargas de absorción (rojo), fotocatalisis (azul), fotólisis; b : curvas bajas cargas de absorción (rojo), fotocatalisis (verde), fotólisis (azul); c: pH de cinéticas altas cargas de absorción (rojo), fotocatalisis (azul), fotólisis; y d: pH de curvas altas cargas de absorción (rojo), fotocatalisis (verde), fotólisis (azul).

El tratamiento fotocatalítico con las películas TiO₂ USP en concentraciones altas (10⁸ UFC/ml) se representó figura 26a. La mayor inactivación se obtuvo a los 30 minutos, en algunos tiempos esta disminución cae, presentándose menores porcentajes de inactivación, lo cual pudo estar asociado con los efectos mencionados anteriormente, en cuanto a diferentes parámetros importantes en este tipo de desinfección.

Para el tratamiento fotocatalítico con las películas TiO₂ USP en concentraciones altas (10⁸ UFC/ml) (figura 26). La mayor inactivación se obtuvo a los 30 minutos, en algunos tiempos esta disminución cae, presentándose menores porcentajes de inactivación, lo cual pudo estar asociado con los efectos mencionados anteriormente, en cuanto a diferentes parámetros importantes en este tipo de proceso de inactivación.

En el caso de las curvas a concentraciones de este mismo control (10³ UFC/ml), se encontró un 99.95 % de inactivación de la bacteria a los 30 minutos. En la curva del tratamiento fotocatalítico a estas mismas concentraciones, se encontró una inactivación del 99.95 % de la bacteria a los 60 minutos (Rojas y Sánchez, 2009); en ambos casos, en las horas restantes evaluadas no se obtuvieron recuentos *E. coli*. Posiblemente la inactivación continua del microorganismo estuvo relacionada con las condiciones del agua residual tratada. Para el caso del tratamiento con las películas TIP/TiO₂ USP (altas y bajas concentraciones) se trabajó con agua residual estéril re-inoculada, mientras que el control con películas TiO₂ USP y fotólisis a bajas concentraciones se trabajaron por Rojas y Sánchez (2009), con el agua de salida de la PTAR con parámetros diferentes (físico-químicos-microbiológicos) los cuales pudieron favorecer el proceso (Yaniv *et al.*, 2008; Gárce et al., 2004; Rincón y Pulgarín, 2004; Ede, 2006).

Las curvas de adsorción tanto de películas TIP/TiO₂ USP como de películas control TiO₂ USP, no presentaron porcentajes de inactivación superiores al 10 % (inoculo inicial 15x10⁸ UFC/ml), en todos los tiempos evaluados.

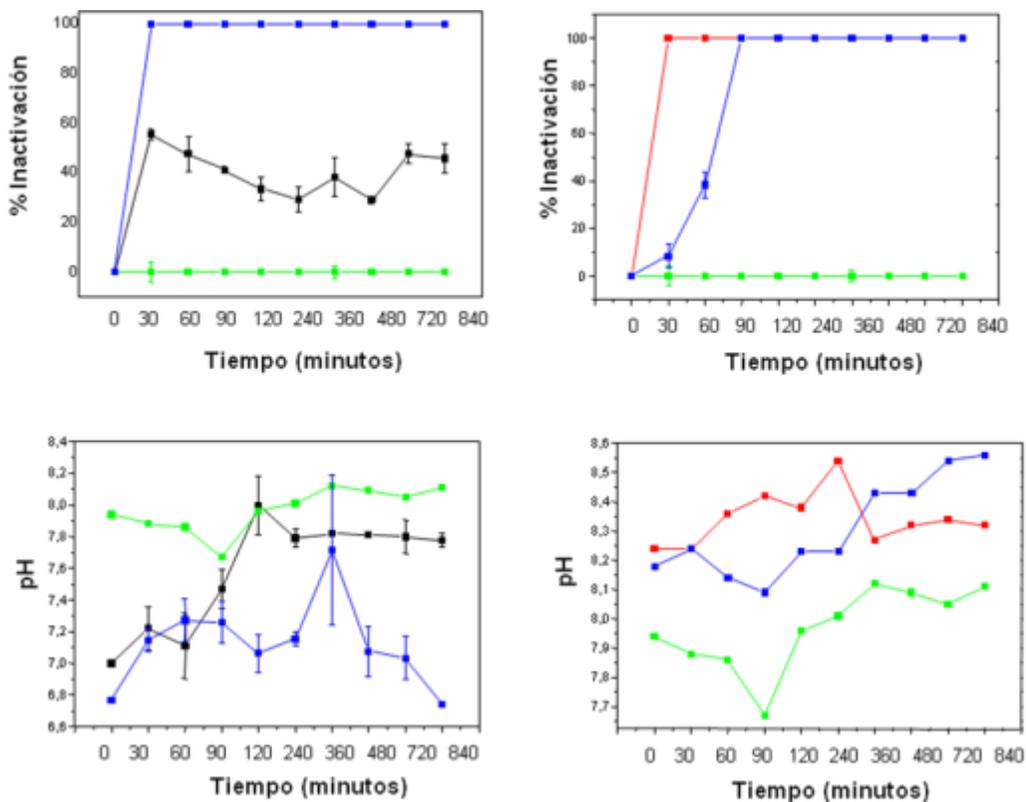


Figura 26. Curvas de inactivación de *E. coli* en altas y bajas concentraciones de absorción, fotólisis y fotocatalisis con películas elaboradas por el control TiO₂ USP. a: curvas altas cargas de absorción (rojo), fotocatalisis (azul), fotólisis; b : curvas bajas cargas de absorción (rojo), fotocatalisis (verde), fotólisis (azul); c: pH de curvas altas cargas de absorción (rojo), fotocatalisis (azul), fotólisis; y d: pH de curvas altas cargas de absorción (rojo), fotocatalisis (verde), fotólisis (azul).

6.4. Protocolos de modificación

6.4.1. Microscopia electronica de barrido EU-ET/PU-PT/CuSO₄

Las fotografías obtenidas a partir de la microscopía de los tratamientos de modificación de Erin (EU: urea, ET: tiourea) y Pulgarin (PU: urea, PT: tiourea) permitieron ver una sedimentación con ausencia de uniformidad, y con diferentes agregados formados. Los

agregados que se encuentran en la superficie, tienen una forma esférica, con tamaños diversos y superiores a 100 nm (figuras 27-28).

En el caso de las películas EU, a una magnitud de 5000X se observó agregados del material y parte del sustrato en el cual fue depositado la película (figura 27a), por lo tanto, la uniformidad de la película fue insuficiente, a diferencia de las películas TIP/TiO₂ USP en donde la sedimentación se dió más homogénea. En aumentos mayores se observaron agregados de diferentes tamaños superiores a 100 nm (figura 27 a.b.c). Las imágenes de las películas ET presentaron mayor formación de agregados, no se evidenció claramente la superficie del sustrato, y a diferencia de las películas con urea estas presentan una red entre los agregados formados, que posiblemente se deba a la presencia del nuevo compuesto. En las películas PU se apreciaron agregados más densos, a pesar que no se presenta uniformidad la concentración del compuesto es más evidente que los encontrados en las películas EU-ET, estos agregados en aumentos mayores se encuentran deformados, y su tamaño supera los 100 nm (figura 28 a.b.c). En el caso de las películas PT, los agregados muestran la misma deformación, pero las características son similares en las descritas en las películas PU (figura 28 d.e.f). Algunos autores reportan el uso de compuestos como nitrato amónico de cerio con urea para realizar dopaje de TiO₂, los cuales describen cambios en la superficie de las películas cuando hay inclusión de nuevos átomos, presentándose una superficie más lisa para películas de TiO₂ sin modificar y mucho más rugosas con la modificación (Xie *et al.*, 2010).

Las imágenes obtenidas por MEB de las películas modificadas con CuSO₄ muestran superficies más homogéneas y uniformes. En el caso de las películas que se elaboraron con una concentración molar alta y media del nuevo compuesto a una magnitud de 5000X presentaron agregados poco rugosos, que se extienden por toda la superficie del sustrato, pero claramente la superficie más lisa la presenta la película con una cantidad menor de (CuSO₄), posiblemente la inclusión en una cantidad menor del compuesto no modifica la superficie cualitativamente (figura 29). A mayores aumentos (20000X y 50000X), las películas con cantidades altas y medias presentan granos de diversos tamaños, la mayoría superan los 100 nm, a diferencia de los granos que se observan en las películas con una concentración molar baja del compuesto, los cuales son de tamaño menor y menos amorfos, que los presentes en las demás películas.

Estas superficies son similares a las encontradas con los protocolos de modificación iniciales, imágenes de ambas modificaciones varían en cuanto a superficie y formación de agregados a las películas elaboradas por sol-gel /sedimentación.

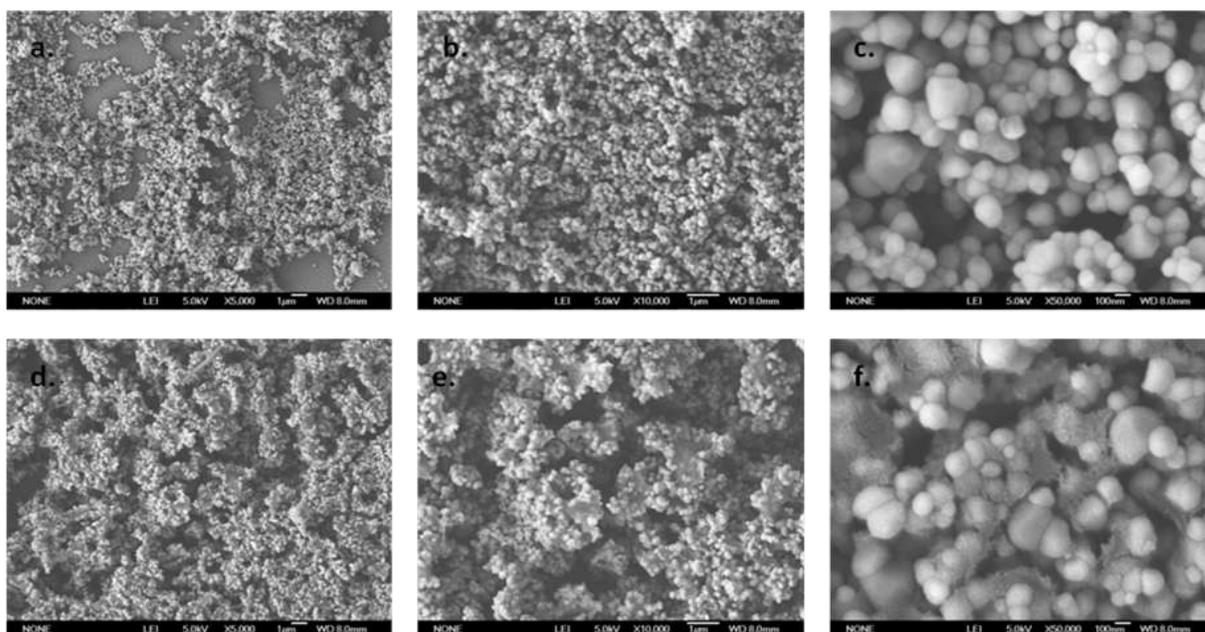


Figura 27. MEB de películas modificadas EU y ET. a.b.c : películas EU a 5000X, 10000X y 50000X; d.e.f: películas ET a 5000X, 10000X y 50000X .

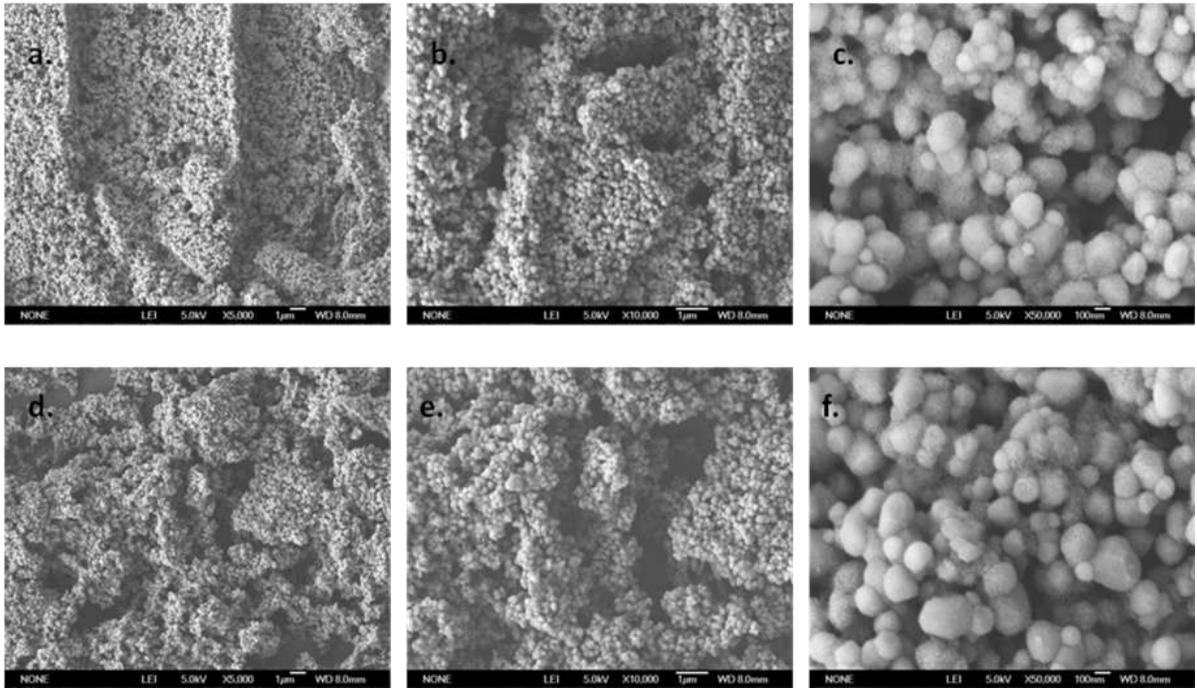


Figura 28. MEB de películas modificadas PU y PT. a.b.c : películas EU a 5000X, 10000X y 50000X; d.e.f: películas ET a 5000X, 10000X y 50000X.

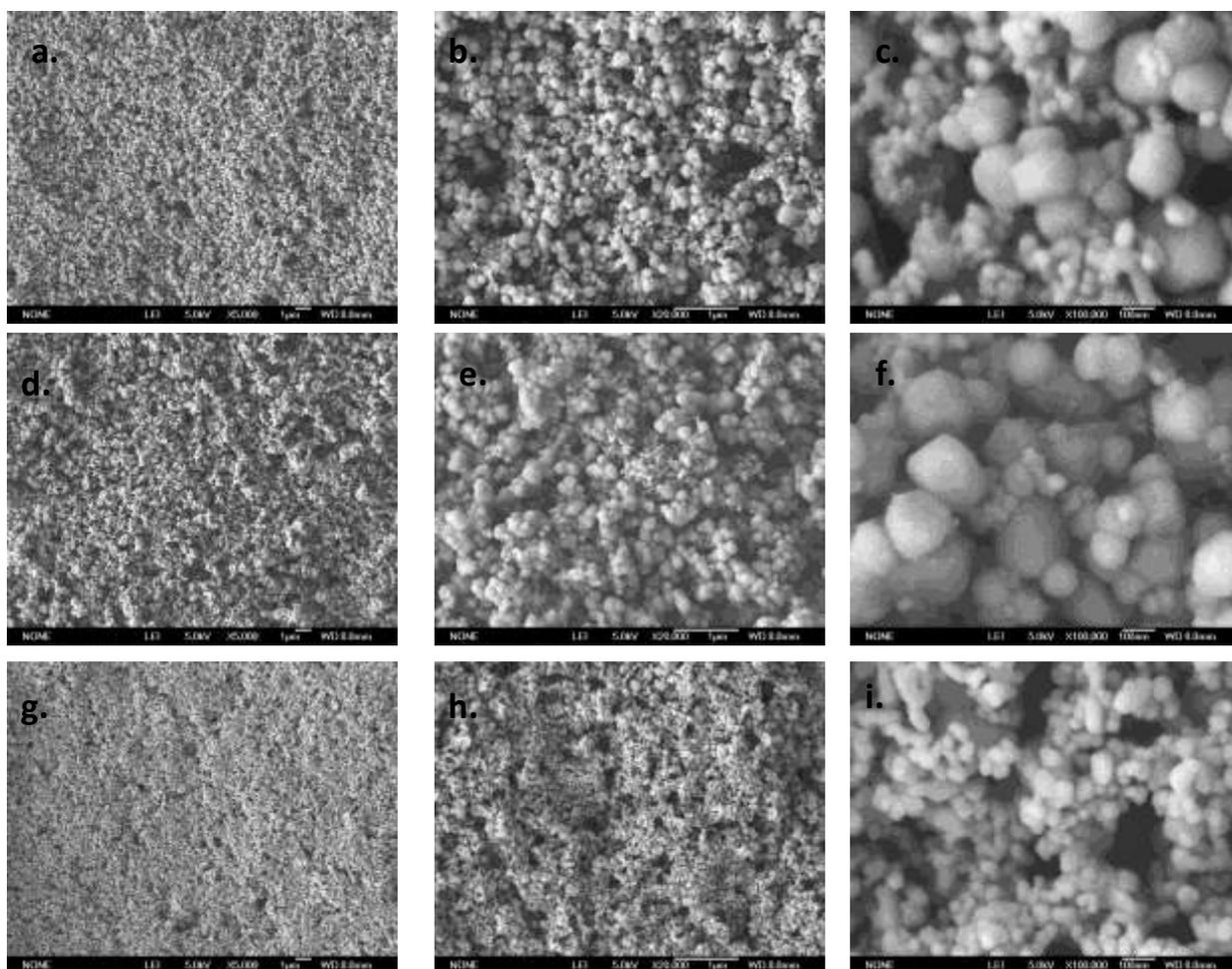


Figura 29. MEB de películas modificadas con CuSO_4 . a.b.c: películas con 0.05g CuSO_4 a 5000X, 20000X y 100000X, d.e.f: películas con 0.0375 g de CuSO_4 . G.h.i: películas con 0.025g CuSO_4 a 5000X, 20000X y 100000X.

Los compuestos de interés en la modificación como nitrógeno y azufre están en diferentes porcentajes atómicos, superando el nitrógeno el porcentaje del azufre, en ambos protocolos. El porcentaje de titanio depositado es muy similar al porcentaje de nitrógeno en los diferentes tratamientos que se siguieron, y los porcentajes de oxígeno son los más altos. Algo similar pasa con las películas con CuSO_4 en donde el titanio y el oxígeno son los compuestos en mayor porcentaje y los porcentajes de cobre son superiores a los del azufre; los porcentajes cambian de acuerdo a proporción molar de CuSO_4 en cada película modificada (tabla 9).

Tabla 9. Porcentaje atómico de compuestos presenten en la superficie de películas realizadas con diferentes compuestos, por tres protocolos.

Tratamiento	Titanio % atómico	Oxígeno % atómico	Nitrógeno % atómico	Azufre % atómico	Cobre % atómico
EU	13.61	74.69	11.69		
ET	11.08	77.49	10.42	0.19	
PU	19.12	68.33	12.53		
PT	10.18	85.84	3.77	0.21	
CuSO₄ (0.05 g)	11.89	71.8		6.12	10.19
CuSO₄ (0.0375 g)	27.61	67.25		1.93	3.2
CuSO₄ (0.025 g)	21.51	76.61		0.65	1.87

6.4.2. Difracción de rayos X (XRD)

La difracción de rayos X (figura 30) muestra el protocolo modificado Erin (EU urea, ET tiourea). La fase cristalográfica predominante fue anatasa con planos (101) y (105), propios de esta fase, no se observó la presencia de la fase rutilo. Estos datos son similares con el estudio realizado por Erin *et al.*, (2009), en donde también se demostró la formación de la fase anatasa con planos característicos de esta, en donde el plano de mayor intensidad fue (101), así mismo reportaron la ausencia de la fase rutilo; estos autores compararon la difracción del TiO₂ modificado con su forma comercial TiO₂ PC500 sin encontrar diferencias.

La difracción realizada con las películas por el protocolo de Pulgarín (PU urea y PT tiourea), también mostró la fase cristalográfica anatasa con planos (101), (004), (105) y

(204). A diferencia del primer protocolo estas películas presentaron otros planos de la fase y adicionalmente la intensidad de los picos es mucho más alta. Posiblemente esta intensidad y presencia de otros planos está relacionada con las proporciones de los nuevos compuestos, urea y tiourea, conforme al TiO_2 USP y el precursor, puesto que en el primer protocolo las cantidades de estos nuevos compuestos supera a las utilizadas por sol-gel. Las difracciones no varían conforme hay incursión de elementos tales como nitrógeno o azufre. Otros autores reportaron para películas sinterizadas a 400- 450 °C, con protocolos de incursión diferentes, la misma fase del material con estos planos (Dong *et al.*, 2009; Tian *et al.*, 2009).

Por otro lado, con el protocolo modificado PU y PT los planos de la fase anatasa se presentaron con mayor intensidad, comparados con los presentados en la difracción de EU y ET; una posible explicación a esto, es la diferencia en las cantidades de los nuevos compuestos que se introdujeron. En el caso de las películas EU y ET las cantidades de los compuestos fueron superiores a las cantidades agregadas en las películas PU y PT, por lo tanto se pudo inhibir la formación de ciertos planos y verse afectada la intensidad de cada uno de estos.

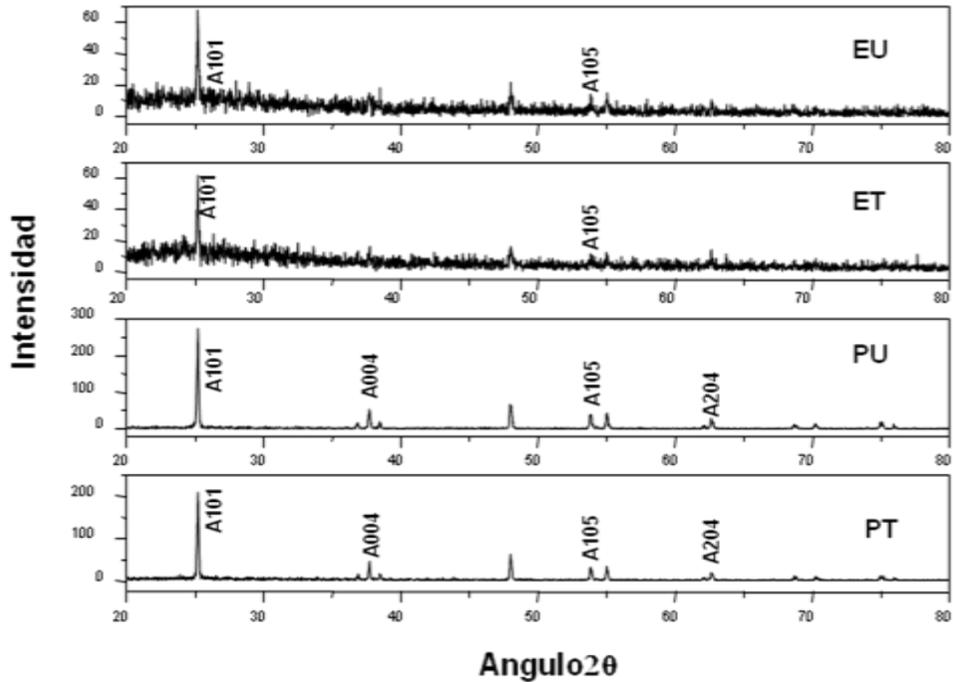


Figura 30. XRD de películas preliminares modificadas con urea y tiourea. EU: Erin urea; ET: Erin tiourea; PU: Pulgarín urea; PT: Pulgarín tiourea.

La difracción de rayos X de las películas modificadas con CuSO_4 mostró la estructura cristalográfica anatasa con diferentes planos propios de esta fase (figura 31). Se observaron planos adicionales (2 0 0), (2 1 1) a diferencia de las películas modificadas RU-ET/PU-PT, que no los presentó. Al compararse con la difracción de las películas elaboradas TIP/ TiO_2 USP no se encontraron diferencias respecto a los planos que se hacen presentes en la estructura cristalográfica anatasa. La intensidad de cada uno de estos planos fue similar para las películas modificadas con CuSO_4 y películas TIP/ TiO_2 USP; sin embargo las películas modificadas con menor proporción molar (Ti: 0.03, Cu: 0.0011, S: 0.00032 moles) de este compuesto presentaron intensidades más altas, lo que pudo estar directamente relacionado con la proporción baja de CuSO_4 ; de acuerdo a lo reportado por Chen *et al.*, (2009), los cuales modificaron el TiO_2 con cobre, y mediante XRD encontraron la fase cristalográfica anatasa, como fase predominante para diferentes concentraciones de cobre trabajadas.

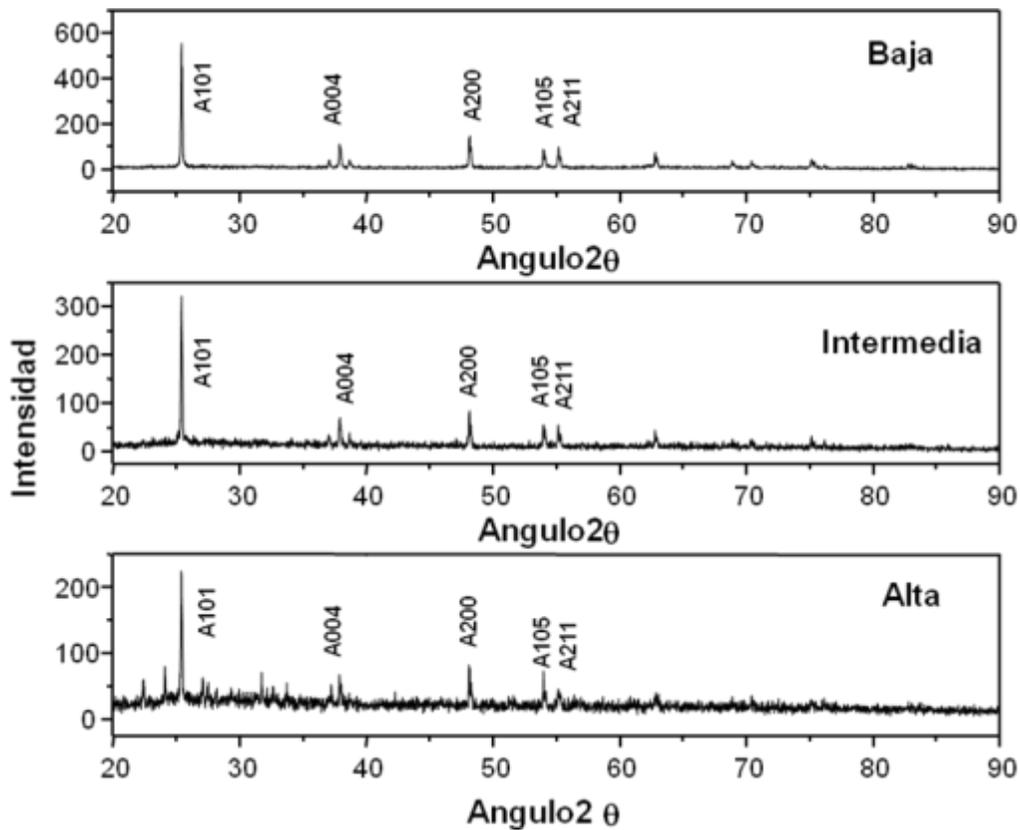


Figura 31. XRD de películas modificadas con CuSO₄. Baja: (Ti: 0.03, Cu₂: 0.0011, S: 0.00032 moles); Intermedia: (Ti: 0.03, Cu₂: 0.0018, S: 0.00032 moles); y alta : (Ti: 0.03, Cu₂: 0.0025, S: 0.00063 moles).

6.4.3. Barrido UV-Vis

Con las películas modificadas con CuSO₄ con las diferentes concentraciones del compuesto fue realizado un barrido UV-vis para determinar modificaciones del gap (figura 32). Fue posible encontrar E_g desde la gráfica de T (transmitancia) versus $h\nu$, en donde esta última corresponde a la energía de los fotones o al eje de la energía; con interpolación de la región lineal a $h\nu$ (Mathews *et al.*, 2009). Estas nuevas películas modificadas como se mencionó en el protocolo para la inserción de nuevos elementos, solo se les realizaron un crecimiento para disminuir la opacidad del material, así mismo el control que se tuvo en cuenta para

comparar en este caso fue una película con el mismo protocolo de modificación sin agregar el CuSO_4 . Lo que se observa a partir de este nuevo lote de películas es que la transmitancia del control es de 3.28 eV; mientras que para las demás películas esta transmitancia es alrededor de 3.1 eV; siendo la menor energía para el material con la concentración intermedia (3.08 eV). Ese último valor de gap, aunque no está dentro de la región del espectro visible, si presenta un corrimiento respecto al valor de la película control, el cual pudo estar asociado a la inserción de nuevos elementos como lo son el Cu y S; en donde en el caso del cobre, esta reportado que se puede distribuir en la red del TiO_2 y actuar como especie fotoactiva (Colón *et al.*, 2006). En el estudio realizado por Karunakaran *et al.*, (2010) presentan Cu- TiO_2 , con un gap de 2.83 eV, el cual cae dentro del espectro visible, y con el que obtienen la degradación de diferentes compuestos.

A pesar de que el gap obtenido no cae dentro del espectro visible, con la inserción de CuSO_4 , se logró un corrimiento en la banda y una inactivación mayor a dos ordenes de magnitud de *E. coli*; adicionalmente valores similares del gap con TiO_2 modificado con Cu han sido reportados por Colón *et al.*, (2006).

Como se describió anteriormente, algunos autores reportan el uso de diferentes compuestos mezclados con TiO_2 para que los procesos fotocatalíticos se realicen bajo el espectro de luz visible, esto con el fin de disminuir los costos del proceso y aprovechar recursos naturales como la luz solar. Se describe el “dopaje” cuando hay una incorporación de átomos en la red cristalina del TiO_2 y se habla de “modificación” cuando hay cambios en la superficie del semiconductor (Ohtani, 2010); este último proceso permitió, con el uso del compuesto CuSO_4 obtener en el presente estudio resultados positivos en la inactivación de *E. coli* bajo luz blanca, como se describirá a continuación.

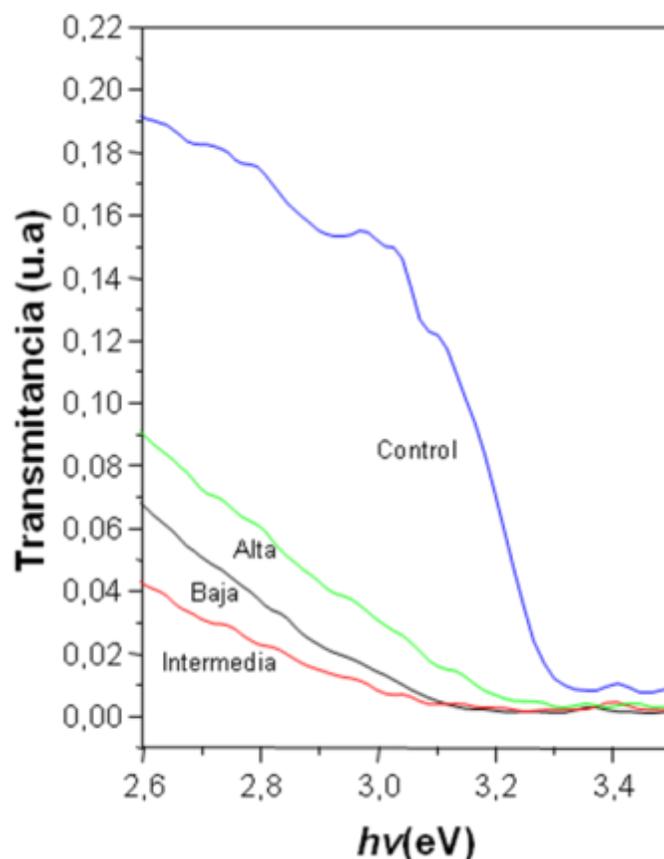


Figura 32. Barrido UV-Vis protocolo de modificación con CuSO_4 . Línea azul representa control con película $\text{TiO}_2/\text{TiO}_2$ USP sinterizada a 450°C , gap 3.28 eV. Línea roja representa concentración molar intermedia (Ti: 0.03, Cu: 0.0018, S: 0.00032 moles) gap 3.08 eV; línea negra concentración molar baja (Ti: 0.03, Cu: 0.0011, S: 0.00032 moles), gap 3.12 eV; línea verde concentración molar alta (Ti: 0.03, Cu: 0.0025, S: 0.00063 moles), gap 3.21 eV.

6.4.4. Inactivación de *E. coli* con protocolos de modificación

Se realizó un recuento inicial de la bacteria igual a 10^8 UFC/ml para el proceso de inactivación con las películas modificadas con urea y tiourea; al finalizar el proceso no se obtuvo por ninguno de estos tratamientos algún tipo de inactivación, por el contrario se encontró un aumento de la bacterias (figura 33). Estos resultados difieren a los reportados por Rockafellow *et al.*, 2009, en donde se obtuvo una reducción de fenol, bajo condiciones similares, usando como fuente de radiación longitudes de onda del espectro visible; en cuanto a la reducción de otros químicos que se analizaron en su estudio, la degradación fue

insignificante y lo asocian con la posibilidad de que este tipo de radiación no produzca radicales OH° , dado el azufre puede actuar como una “trampa de huecos”, por lo tanto el sólido o película no puede producir dichos radicales (Rockafellow *et al.*, 2009). La divergencia en cuanto a los resultados pueden estar asociadas al tipo de estructura a degradar, en este caso se buscaba inactivar bacterias; otro factor a tener en cuenta es el tamaño de la molécula que también puede afectar la degradación.

Algo similar se reporta en el estudio realizado por Rengifo y Pulgarín (2010), en donde determinan la inactivación de *E. coli* bajo TiO_2 modificado con urea, pero con uso de luz solar. En este la reducción del microorganismo es baja, comparada con la lograda con TiO_2 sin modificar; esta baja inactivación la relacionan con la “alta concentración del nitrógeno en la superficie que puede actuar como centros de recombinación” (Rengifo y Pulgarin, 2010), adicionalmente pueden servir de nutrientes a las bacterias.

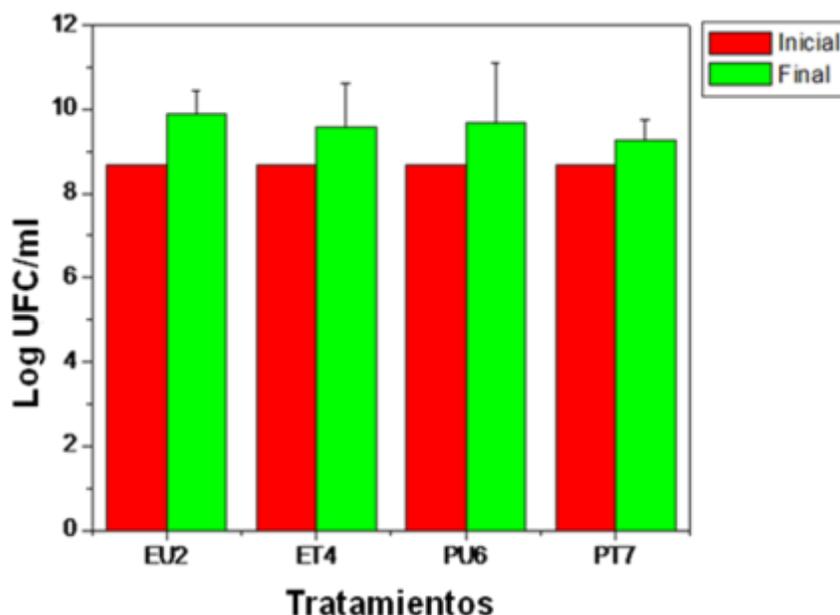


Figura 33. Recuentos iniciales y finales con tratamientos preliminares de dopaje utilizando urea y tiourea.

De acuerdo a los resultados obtenidos con los tratamientos iniciales de modificación utilizando nitrógeno en compuestos como urea y tiourea, y azufre en tiourea, sin lograr

respuestas de inactivación, se procedió a utilizar otro tipo de compuestos que incluyeran cobre. Como se mencionó en materiales y métodos, los compuestos usados fueron óxido cuproso (Cu_2O), óxido cúprico (CuO) y sulfatos de cobre (CuSO_4). Se descartaron los primeros dos compuestos, puesto que al realizar las pruebas de inactivación frente a *E. coli* ATCC 8739 durante 6 horas de exposición con lámpara de luz blanca, no se logró ningún tipo de inactivación, por el contrario hubo un aumento de la bacteria después de este tiempo. Sin embargo cuando se utilizó el CuSO_4 como agente modificador se obtuvieron respuestas de inactivación de la bacteria con tres concentraciones molares del compuesto clasificadas como alta (Ti: 0.03; Cu: 0.025; S: 0,00063 moles), media (Ti: 0.03;Cu: 0.0018; S: 0.00051) y baja ((Ti: 0.03;Cu: 0.0011; S: 0.00032) (figura 34).

Con las tres concentraciones que se trabajaron se obtuvieron porcentajes de inactivación similares, sin embargo con el tratamiento intermedio se logró una inactivación mayor.

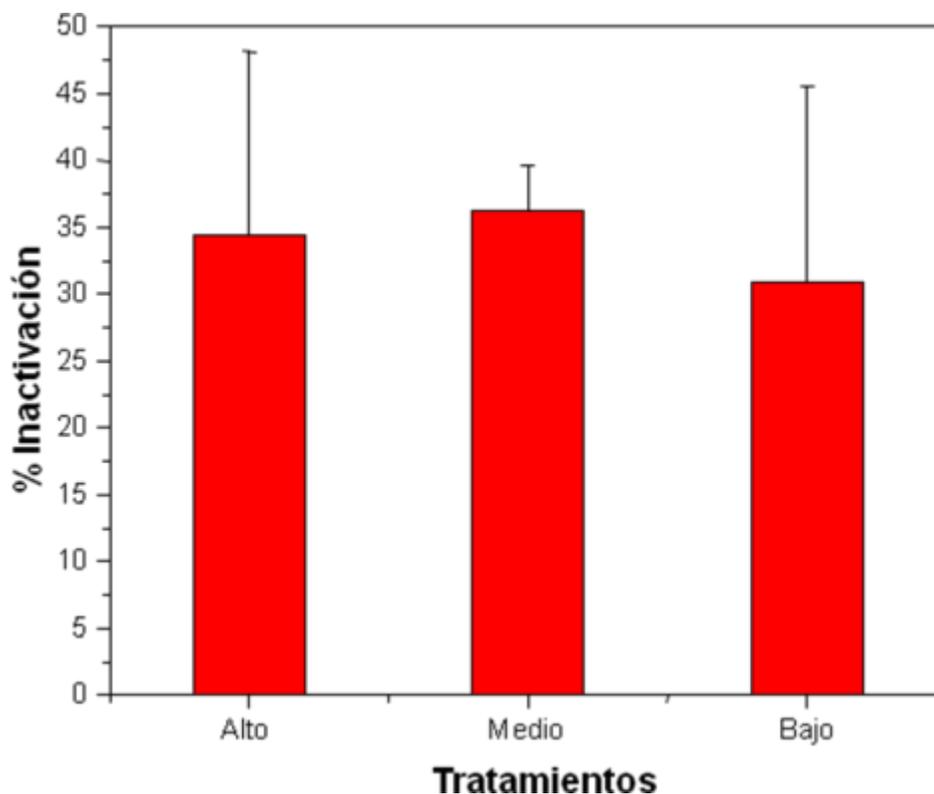


Figura 34. Porcentajes de inactivación de *E.coli* ATCC 8739 con películas elaboradas a partir de diferentes concentraciones molares de CuSO_4 y TIP/ TiO_2 USP.

A partir de la caracterización física de estas nuevas películas y de los porcentajes de inactivación logrados inicialmente, se procedió a realizar una curva de inactivación con películas elaboradas con el tratamiento intermedio, para determinar en que tiempo se lograría el mayor porcentaje de inactivación con un volumen final de 100 ml para tratar, y un inóculo inicial de 10^5 UFC/ml. Las condiciones para la curva de inactivación fueron similares a las establecidas en las curvas de inactivación realizadas con las películas elaboradas por sol-gel, y sus controles, el cambio radicó en la modificación de las películas con cobre y el cambio en las lámparas de UV por lámparas de luz blanca.

Como se muestra en la figura 35, se logró una inactivación del 99.95 % de *E. coli*, en un tiempo de 360 minutos, esta inactivación se da gradualmente con el tiempo. Estos valores de inactivación están asociados con la superficie del cobre (Cu^{+1}), la cual puede “actuar como especie fotoactiva”, que a su vez puede evitar la recombinación de pares e^-/h^+ (Colón *et al.*, 2006), adicionalmente estos iones de Cu^{+1} como lo reportan Colón *et al.* (2006) tienen la facilidad de dispersarse en la red de TiO_2 , favoreciendo los procesos fotocatalíticos, en su caso la oxidación del fenol, y en la presente investigación la inactivación de la bacteria *E. coli*. Así mismo, la inactivación de *E. coli* se ha reportado desde el uso de TiO_2 dopado con Cu, a partir de una síntesis de $\text{Cu}(\text{NH}_3)_4^{2+}$, tratamiento bajo lámparas de tungsteno y luz solar, con resultados eficientes en 30 minutos (Karunakaran *et al.*, 2010). Por otro lado se ha reportado el uso óxido de cobre (Cu_2O) con TiO_2 en procesos fotocatalíticos para la degradación de ácido de naranja II, con resultados exitosos bajo luz visible, mejores que con el uso de TiO_2 P-25 sin Cu_2O bajo este mismo tipo de luz (Huanga *et al.*, 2009). A pesar que en esta investigación, no se realizaron técnicas para determinar el área superficial de las películas, en la literatura se reporta que la presencia de cobre en sistemas Cu y TiO_2 puede incrementar el área superficial, lo que le da una mayor área de contacto en este caso entre la bacteria y las especies reactivas generadas favoreciendo la inactivación (Granda *et al.*, 2007). De acuerdo a la curva de inactivación realizada, a los 720 minutos se disminuyó el porcentaje de inactivación, el cual también se presentó en las curvas de inactivación realizada con las películas de TIP/ TiO_2 USP y el control TiO_2 USP. Como se mencionó anteriormente, esta recuperación puede estar asociada con el pH (figura 35b), el cual estuvo

por encima del punto isoeléctrico de las partículas de TiO_2 , por lo tanto puede afectar la eficiencia del sistema de desinfección, así como la presencia de iones orgánicos e inorgánicos (Cohen *et al.*, 2008; Rincon y Pulgarin, 2004; Ede, 2006) ; adicionalmente la disminución en el porcentaje de inactivación pudo estar asociada con los mecanismos de reparación de las bacterias así como con posibles efectos sub-letales y mecanismos de reparación de estas (Ede, 2006).

El proceso de modificación de las películas de TiO_2 con CuSO_4 fue efectivo para la inactivación de *E. coli*, los porcentajes que lograron fueron similares a los encontrados con las películas TiO_2/USP y su control, por lo tanto este tipo de modificación representa una alternativa en procesos fotocatalíticos, al poder hacer uso de luz dentro del espectro visible.

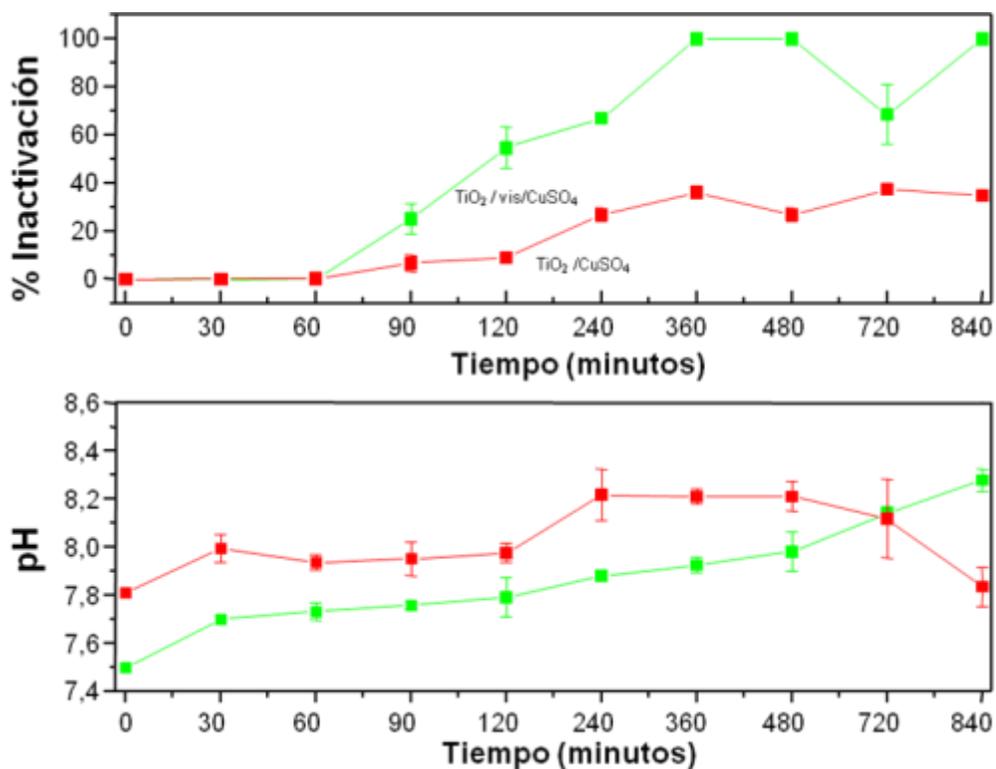


Figura 35. Curva de inactivación de *E. coli* ATCC 8739, de TiO_2 modificado con CuSO_4 : líneas verdes representan fotocatalisis con TiO_2 modificado con CuSO_4 ; líneas rojas representan control de adsorción de TiO_2 modificado con CuSO_4 .

6.5 Desinfección química con hipoclorito de sodio

En el tratamiento químico que se realizó con NaClO se logró la inactivación de *E. coli* en un tiempo de 30 minutos y con un inóculo inicial de 10^8 UFC/ml, no hubo modificación del pH a lo largo de los tiempos evaluados, este se mantuvo constante entre 7 y 8 (figura 36).

La inactivación efectiva de este tratamiento, está ligada directamente con la concentración inicial del compuesto, la concentración que se trabajó al inicio del experimento fue 200 ppm; la literatura para aguas residuales recomienda una concentración final entre 5-20 ppm para un sistema de flujo continuo (EPA, 2011), aspecto que en este caso fue diferente pues no fue continuo. Adicionalmente se utilizó esta concentración por la alta volatilidad del hipoclorito de sodio (95 % a 21 °C), lo cual significa que la concentración final de trabajo fue mucho menor (MAQUINZA, 2011).

En estudios realizados con cloro para reducción de *E. coli* en hojas de lechugas, bajo condiciones muy diferentes, trabajan con soluciones de cloro de 50 y 100 ppm, y obtienen una reducción de la bacteria de hasta 5 ordenes de magnitud en tiempos menores a 5 minutos; no hay una inactivación total del microorganismo, pero se obtiene una reducción significativa comparada con el inóculo inicial (Behrsing *et al.*, 2000);

Otros reportes mencionan la inactivación de poblaciones de 10^6 UFC/ml de *E. coli* desde 1 ppm (Jang , 2009) en tiempos reducidos de exposición (10 minutos); un estudio similar realizado Helbling *et al.*, (2007) en donde trabajan con concentraciones entre 0.2 y 0.8 ppm de cloro encuentran en la mayoría de las concentraciones presentan una inactivación total de *E. coli* (10^7 UFC/ ml) en tiempo reducidos (0.25 minutos), con una recuperación muy baja cuando trabajan con la concentración de 0.2 ppm (Helbling *et al.*, 2007). Adicionalmente, esta bacteria se caracteriza por ser muy sensible al cloro (Helbling *et al.*, 2007); esto demuestra que con concentraciones bajas hay daño celular de las bacterias, por lo tanto se esperaba que 200 ppm inactivaran a *E. coli*. Pese a que es un sistema efectivo, se ha reportado la formación de sub-productos tóxicos y carcinogénicos desde el uso de cloro como desinfectante o proceso complementario en agua residual (Drinking –water ORG, 2008) (Solsona y Méndez, 2002), (Rizzo, 2009), puesto que productos clorados en presencia de nitrógeno orgánico, como se evidenció en el presente estudio, puede llevar a la

formación de compuestos halogenados, como cloroformo, bromodichlorometano, bromoformo y dibromoclorometano (Calderón *et al.*, 2002).

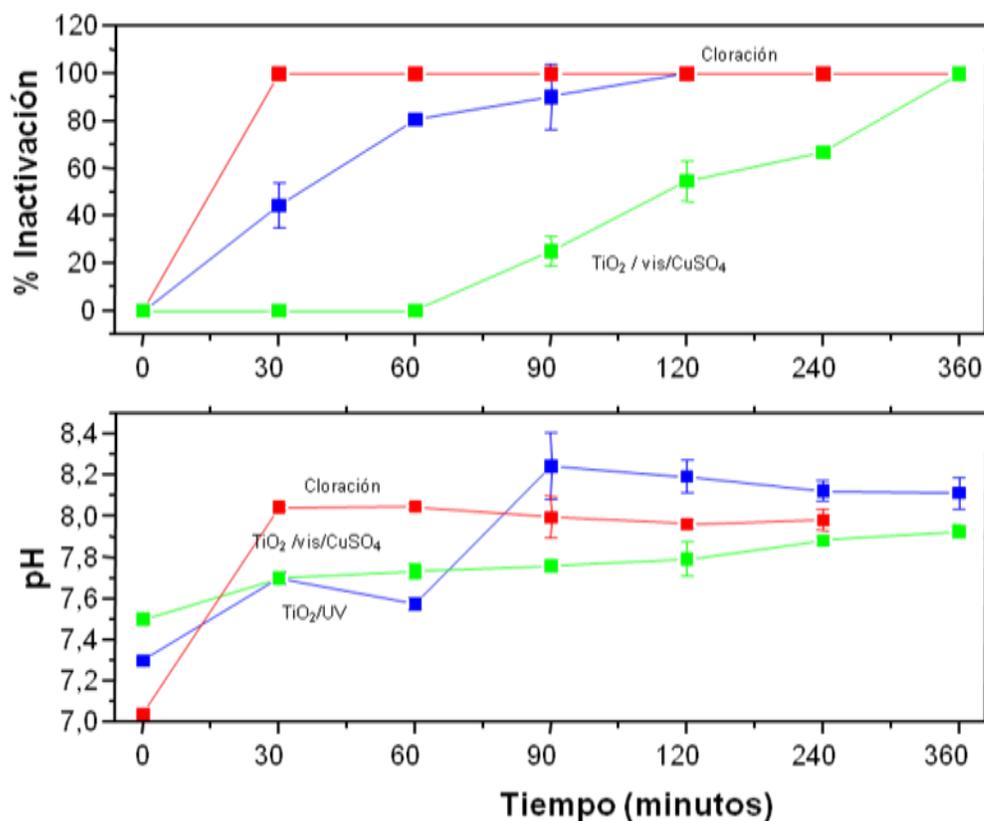


Figura 36. Curva de inactivación de desinfección con cloro, comparado con el tratamiento fotocatalítico con películas elaboradas por sol-gel y películas modificadas con CuSO₄. Líneas rojas representan cloración-, líneas azules tratamiento con películas TIP/USP; líneas verdes tratamiento con películas TiO₂ modificadas con CuSO₄.

6.6. Bioensayos

El efluente de la PTAR y el tratamiento fotocatalítico con películas elaboradas por sol-gel fue el primero en realizarse, las concentraciones iniciales que se manejaron en ambos casos fueron: (25, 50, 75 y 100%), al encontrar un efecto en *H. attenuata* desde la concentración al 25 % se bajaron las concentraciones y se trabajaron desde 6.25 %, 12.5 %, 25 %, 50 % y 100 %, para ambos organismos evaluados (tabla 10).

Tabla 10. Bioensayos con *L. sativa* con diferentes tratamientos complementarios de desinfección para inactivación de *E. coli*.

Tratamiento	Réplicas	CI (V/V)	Tiempo de inactivación (min)
Efluente PTAR Subchoque	1	102 al 100%	
Fotocatálisis TiO₂ Sol-gel	1	12% al 100%	120
	2	30% al 100%	
	3	4% al 100%	
Fotólisis	1	2% al 100%	90
	2	110% al 100%	
	3	8 % al 100%	
Cloración	1	63% al 100%	30
	2	70% al 100%	
	3	64.75 CI _{50-120h}	
Fotocatálisis con TiO₂ modificado	1	22% al 100%	240
	2	41% al 100%	
	3	46% al 100%	

En el análisis de *L. sativa*, de acuerdo a los resultados obtenidos del efluente de la PTAR, sin ningún tipo de tratamiento, se presentó sobre-crecimiento del organismo, lo que significa que el organismo tuvo en crecimiento superior al control negativo; sin embargo este no es relevante, por lo tanto no está asociado con toxicidad a este nivel. Esta germinación y sobre crecimiento puede estar asociado con los nutrientes presentes en el agua, ligado a amonio, materia orgánica o nitrato que está presente en este tipo de agua, y los cuales se pueden asociar con la cantidad de nitrógeno y fósforo total presente en la muestra de agua de salida de la PTAR (40 y 2.06 mg/L, respectivamente), lo que podría generar un efecto antagónico “producto de mezcla de la materia orgánica y químicos”

posiblemente presentes (Bohorquez y Campos, 2007). Estos compuestos en cantidades superiores a 84.4 ug/L (fosforo) y 1.875 ug/L (nitrógeno) pueden causar o generar procesos de eutroficación en cuerpos o sistemas abiertos de agua (Arce, 2011).

En el caso de la fotocátalisis con las películas elaboradas por la técnica sol-gel acoplada a sedimentación los resultados se expresan en porcentaje volumen a volumen en donde las tres muestras presentan entre 4 y 30 % de efecto tóxico al 100 % de concentración, que es la mínima concentración a la que hay efecto, por lo tanto esto indica que no es relevante o la toxicidad que se presenta es ligera, los efectos son mínimos, por lo tanto a este nivel y con este tratamiento no se podría hablar de una toxicidad, y a menores (25 %, o 50%) no hay efecto. Garcia *et al.*, (2009) determinaron la toxicidad en *L. sativa* de efluentes textiles tratados con fotocátalisis con TiO₂, en donde encontraron que el agua pos-tratamiento no es significativamente diferente al agua del efluente sin tratar, lo que les demostró la falta de compuestos tóxicos generados por el tratamiento, a pesar que puede no ser comparativo por el origen de los efluentes hay evidencias que la toxicidad es mínima producida por el tratamiento fotocatalítico en ambos. Así mismo cuando se evaluó el TiO₂ en suspensión, en la remoción de plomo, no presentó efectos ni en la germinación de la semilla, ni en la elongación de la raíz (Recillas *et al.*, 2011).

En el caso de la fotólisis, una réplica presentó sobre-crecimiento, lo cual indica que este tiene un crecimiento mayor al control negativo, resultado similar al encontrado en el agua de salida; las otras réplicas presentaron de 2 a 8 % de reducción del crecimiento o germinación al 100 % de concentración, esto quiere decir que a las concentraciones del agua que sale de este tratamiento no hay una disminución. Estos porcentajes hacen referencia a un ligero efecto en este organismo, lo cual quiere decir que no hay una sensibilidad al producto, similar a lo encontrado con el tratamiento fotocatalítico con las películas de TiO₂ elaboradas por sol-gel. El tratamiento de desinfección con NaClO, presentó un efecto entre el 63 y 70 % en una concentración del 100% de muestra, y con una de las muestras a partir del programa estadístico Probit se obtuvo una concentración efectiva que afecta el 50% de la población igual a 64.5; el organismo muestra una sensibilidad mayor a este tratamiento comparado con fotólisis (con el cual se manejaron las mismas concentraciones), cabe aclarar que como se describió en el punto 6.8, las concentraciones de cloro que se manejaron en esta prueba superan a las que normalmente

se proporcionan para tratamientos complementarios en aguas residuales domesticas (EPA, 2011), por lo tanto el daños es más significativo con concentraciones más altas, y esta reportado la toxicidad de los iones de cloro en plantas a bajas concentraciones (Carrillo *et al.*, 1996), las cuales afectan el crecimiento y provocan daños a nivel de la raíz, con exposiciones prolongadas (Premuzic et al., 2007). El proceso fotocatalítico realizado con las películas de TiO₂ modificadas presentó un efecto entre 22 y 46 % en la germinación de las semillas en una concentración del 100%; a pesar que estas muestras arrojaron respuestas similares a las encontradas por los otros tratamientos evaluados en cuanto a la concentración en la que se presenta el efecto, los porcentajes que se vieron afectados en dicha concentración superan al tratamiento fotocatalítico con las películas elaboradas por sol-gel; estos resultados podrían estar relacionados con el compuesto CuSO₄, que se agrega en la modificación, posiblemente por la presencia de cobre.

Tabla 11. Bioensayos con *Hydra attenueta* con diferentes tratamientos complementarios de desinfección para inactivación de *E. coli*.

Tratamiento	Replicas	CL (V/V)	Tiempo de inactivación
Efluente PTAR Subchoque	1	100% al 100%	
Fotocatálisis TiO₂ Sol-gel	1	100% al 25%	120
	2	100% al 25%	
	3	100% al 25%	
Fotólisis	1	9.86 CL _{50-96h}	90
	2	100% al 25%	
	3	12.64 CL _{50-96h}	
Cloración	1	100% al 6.25%	30
	2	100% al 6.25%	
	3	100% al 6.25%	
Fotocatálisis con	1	100% al 6.25%	240

TiO₂ modificado	2	100% al 6.25%	
	3	100% al 6.25%	

En el caso de *H. attenuata* (tabla 11) se evidencian diferencias entre este organismo y *L. sativa*. En cuanto al efluente de salida, sin ningún tipo de tratamiento complementario, con una concentración del 100 % de la muestra, sin ningún tipo de dilución, presenta una letalidad del 100 %. El programa estadístico no arrojó alguna CL₅₀^{96h} posiblemente por las diluciones que se trabajaron; sin embargo hay una sensibilidad clara para este tipo de agua. En un estudio realizado por Pardos *et al.*, 1999, con efluentes de plantas de tratamiento de agua residual domestica encontraron CL₅₀^{96h} de 17.5, la cual es considerable para este tipo de agua que pasan por un tratamiento mecánico y químico.

En cuanto al tratamiento fotocatalítico con películas elaboradas por sol-gel, se presenta que con diluciones del 25 % (mínima trabajada) hay un letalidad del 100 % del organismo, lo cual hace referencia a una sensibilidad mayor del organismo frente al tratamiento complementario comparada con el efluente sin este tipo de tratamiento. En el “Nanotechnology White Paper” de la EPA (2007), documentan el papel de la nanotecnología en el ambiente, y describe en cuanto a partículas de TiO₂ mayores de 100 nm (tamaño similar al trabajado a lo largo de este estudio) que en el caso de *Daphnia magna* no produce toxicidad, mientras que partículas, menores a 100 nm generan una CL₅₀ de 7.9 ppm. A pesar que no es un organismo comparable con el cnidario *Hydra attenuata* trabajado, se podría concluir que *H. attenuata* es un organismo que presenta una mayor sensibilidad frente este tipo de compuestos, por lo tanto brinda un tipo de alerta de riesgo para organismos o ecosistemas acuáticos. Sin embargo al compararlo con la fotólisis, se podría concluir que luz UV está generando una toxicidad alta, para este cnidario, puesto que dos de las replicas están presentando CL₅₀⁹⁶ bajas, las cuales son representativas, y posiblemente la letalidad que se genera en el tratamiento fotocatalítico es debido en gran parte a la luz UV. En cuanto a la desinfección con NaClO, no hay una respuesta como concentración letal, pero si hay una respuesta V/V, en la cual a la mínima dilución que se

trabajo, 6.25 %, hay una letalidad del 100 % del organismo, lo que demuestra hay una sensibilidad alta de este al tratamiento. Cabe considerar, como se mencionó con anterioridad que la concentración de NaClO que se trabajo es muy alta, y por lo tanto se esperaba que hubiese una sensibilidad del cnidario. A pesar de esto, en lo reportado en cuanto a los productos formados por las reacciones entre el hipoclorito y las sustancias orgánicas, se describen CL₅₀ de *Daphnia magna* desde 1.4 a 350 mg/L, dependiendo del producto formado, puede no ser comparable con *Hydra attenuata*, pero brinda una información importante en cuanto a señales de alerta para este tipo de compuesto (Madsen et al., 2001); adicionalmente en cuanto a compuestos clorados se encuentra efectos como irritación de ojos y piel con soluciones más concentradas, así como posibles anomalías de esperma, evaluado en ratones o mutaciones reversibles en *Salmonella* (Madsen et al., 2001; Drinking –water ORG, 2008).

El último tratamiento evaluado se refiere a la fotocatalisis con películas modificadas y lámparas de luz blanca. Los resultados de estos fueron en % V/V en donde con la mínima dilución, 6.25 %, se presentó el 100 % de muerte del organismo, lo cual indica una sensibilidad alta en concentraciones muy bajas; resultados similares a los encontrados en la desinfección con hipoclorito, lo cual posiblemente está relacionado con el azufre y cobre presente en el compuesto que se utilizó para la modificación. En cuanto al acuerdo 43 del 17 de octubre de 2006, para agua de clase II, se estipula que el límite del cobre es de CL₅₀⁹⁶ de 0.2, a pesar que en esta investigación no fue posible establecer este tipo de concentración, es un valor para tener en cuenta con este tipo de tratamientos. En un estudio realizado por Karntanut et al., (2002), bajo diferentes condiciones en cuanto a la concentración de cobre y sin TiO₂, encontraron que el cobre tiene un efecto tóxico sobre diferentes especies de *Hydra*, superior al encontrado con cadmio y zinc, el cobre se describe como un agente tóxico potencial (Bonnet et al., 2000).

De acuerdo a los resultados reportados por este estudio se concluye que *Hydra attenuata* es más sensible que *Lactuca sativa* para los diferentes tratamientos evaluados. Es necesario seguir trabajando en estos bioensayos con diluciones menores con el fin de determinar las concentraciones efectivas para cada organismo y establecer parámetros necesarios en estos tratamientos.

6.7. Ensayos de inactivación muestras de cuenca alta, media y baja río Bogotá

Se tomaron muestras puntuales de tres zonas de muestreo propias de las tres cuencas del río Bogotá. De la cuenca alta la muestra fue tomada en Funza; de la cuenca media se tomó de un brazo de la planta de tratamiento el Salitre, el cual no entra a tratamiento; y la tercera muestra se tomó de la cuenca baja en el salto del Tequendama. Se midieron diferentes parámetros, químicos, físicos y microbiológicos (tabla 12). En cuanto a los sólidos suspendidos totales (SST) estos se encuentran por encima de los parámetros actuales que reporta la CAR en el acuerdo 43 (2006) del río en las tres cuencas; lo que no pasa con la DBO₅, en donde esta se encuentra por debajo de lo reportado por la CAR a lo largo de las tres cuencas, esto puede estar relacionado con la pluviosidad propia de la época en la que fue tomadas las muestras. El pH y oxígeno disuelto (OD) se encuentra dentro de los rangos que se han analizado en el acuerdo 43. En cuanto a los coliformes totales la muestra de la cuenca alta del río presenta la cantidad más baja, por debajo de los parámetros del acuerdo resultados similares a los obtenidos (CAR, 2006), las demás muestras analizadas presentan valores similares a los reportados por la CAR; aunque *E. coli* no se analiza en este acuerdo, su presencia es evidente a lo largo de las tres cuencas en cantidades similares, las cuales son bajas para este río, pero como se mencionó antes las cantidades más bajas pueden estar relacionadas con las precipitaciones de la época. Las unidades de color son mínimas en la muestra de la cuenca alta, en la cuenca alta y media, estas unidades son muy similares, superiores las de la cuenca media, que es la que presenta mayor actividad antropogénica, similar a lo que se encuentra en los sólidos disueltos.

Se observó una disminución completa de *E. coli* bajo los dos tratamientos (tabla 13). La inactivación que se alcanzó estuvo por encima de dos órdenes de magnitud (mínimo que se espera para sistemas complementarios), por lo tanto se evidenció la efectividad de dichos tratamientos en aguas crudas, ya que se vio un comportamiento como sistema de desinfección primario, puesto que las muestras tomadas no provenían de efluentes de plantas de tratamiento, como es el caso del efluente trabajado a lo largo del estudio.

A pesar que esta reportado en la literatura que la presencia de diferentes compuestos orgánicos en aguas superficiales disminuyen la eficiencia de procesos fotocatalíticos, puesto que estos entran a competir con las especies reactivas formadas en los tratamientos,

los resultados que se encontraron son relevantes en este sentido dado que estos factores no limitaron los procesos de inactivación (Rincón y Pulgarin, 2005; Alrousan *et al.*, 2009). Estos resultados son promisorios en cuanto al uso de un tratamiento fotocatalítico bajo el espectro de luz visible. Es claro se debe seguir trabajando en esta línea para obtener resultados mas representativos en cuanto a volumen y estandarización de métodos. La recomendación se hace obvia en cuanto a la optimización de condiciones.

Tabla 12. Parámetros físicos, químicos y microbiológicos de muestras cuenca alta, media y baja río Bogotá.

Zona de muestreo	Sólidos sedimentables	SST	Sólidos disueltos	pH	Conductividad	Unidades de color	OD	DBO ₅	Heterótrofos	Coliformes	<i>E. coli</i>
Funza	0.5mL/L	209mg/L	232mg/L	6.74	0.319mS	7.57575758	5.7mg/L	29mg/L O ₂	1.00x10 ⁵ UFC/ml	90x10 ² UFC/ml	45x10 ³ UFC/ml
Salitre	0.1mL/L	204mg/L	327mg/L	7.03	0.440mS	196.969697	1.6mg/L	113mg/L O ₂	1.55x10 ⁶ UFC/ml	28x10 ⁵ UFC/ml	85x10 ³ UFC/ml
Salto Tequendama	0.3mL/L	223mg/L	291mg/L	7.38	0.544mS	178.030303	1.8mg/L	64mg/L O ₂	4.25x10 ⁶ UFC/ml	23x10 ⁵ UFC/ml	85x10 ³ UFC/ml

Tabla 13. Inactivación de *E. coli* y coliformes con tratamientos fotocatalíticos con películas elaboradas por sol-gel y con películas modificadas.

	Cuenca	pH	Conductividad	Oxígeno disuelto	<i>E. coli</i>	Coliformes
Fotocatálisis TiO ₂ modificado	Flores	7.06	0.296mS	1.3mg/L	0UFC/ml	2UFC/ml
	Salitre	8.43	0.329mS	1.5mg/L	0UFC/ml	10x10 ¹ UFC/ml
	STequendama	8.45	0.737mS	2.3mg/L	0UFC/ml	7 x 10 ¹ UFC/ml
Fotocatálisis TiO ₂ por sol-gel	Flores	7.9		2.7mg/L	0UFC/ml	10x10 ¹ UFC/ml
	Salitre	8,435		1,4mg/L	0UFC/ml	10x10 ¹ UFC/ml
	STequendama	8,44		1mg/L	0UFC/ml	10x10 ¹ UFC/ml

7. Conclusiones

- El tratamiento fotocatalítico con las películas sol-gel fue efectivo en la inactivación de *E. coli* (71 %), así mismo se logró por esta misma técnica un porcentaje mínimo de desprendimiento del material.
- La caracterización física demostró la formación de la fase cristalográfica propia del material como lo es la anatasa y rutilo para un control. Las fotografías por MEB mostraron diferencias por los tres tratamientos en cuanto a la uniformidad de deposición. Así mismo se evidenció la presencia del compuesto TiO_2 en las diferentes películas.
- El protocolo de modificación inicial, con urea y tiourea, no arrojó resultados positivos en cuanto a la inactivación del microorganismo. Sin embargo, con el protocolo de modificación posterior con CuSO_4 se obtuvieron porcentajes de inactivación del 99.95 % a los 360 minutos, utilizando luz visible como fuente de radiación.
- La desinfección con hipoclorito de sodio fue eficiente a los 30 minutos de exposición.
- El organismo más sensible frente a los tratamientos evaluados fue *Hydra attenuata*.
- El tratamiento fotocatalítico con $\text{TIP/TiO}_2\text{USP}$ y $\text{TIP/TiO}_2\text{USP/CuSO}_4$ presentó cerca al 100% de inactivación en las muestras de las tres cuencas evaluadas.

8. Recomendaciones

Evaluar los ciclos de uso de películas elaboradas por la técnica sol-gel y películas modificadas con CuSO_4 , de esta manera encontrar su tiempo de vida útil.

Se hace necesario optimizar las condiciones de operación para el protocolo de modificación con CuSO_4 para sus posibles aplicaciones como sistema de tratamiento complementario.

Evaluar concentraciones más bajas en bioensayos con *L. sativa* e *H. attenuata*, de esta manera determinar CI_{50} y CL_{50} , respectivamente.

9. Bibliografía

Addamo M., Augugliaro V., Dipaola A., Garcia López E., Loddo V., Marci G., y Palmisano L., "Photocatalytic thin films of TiO₂ formed by a sol-gel process using titanium tetraisopropoxide as the precursor," *Thin Solid Films* 2008; 516. pp. 3802-3807.

Acosta D.R., Martinez, A.I., Lopez, A.A., Magaña, C.R. Titanium dioxide thin films: the effect of the preparation method in their photocatalytic properties. *J Mol Catal A-Chem* 2005; 228. pp.183-188.

Alarcón M., Beltrán, M., Cárdenas, M., Campos C. Recuento y determinación de la viabilidad de *Giardia* spp. y *Cryptosporidium* spp. en aguas potables y residuales en la cuenca alta del río Bogotá. *Biomédica* 2005; 25. pp.353-365.

Alhomoudi I., Thakur J., Naik R., Auner G., Newaz G. "Anatase TiO₂ films based CO gas sensor: Film thickness, substrate and temperature effects," *Applied Surface Science* 2007; 253. pp. 8607-8614.

Alrousan D.M, Dunlop P.S.M., McMurray T., Byrne J.A., "Photocatalytic inactivation of E. coli in surface water using immobilised nanoparticle TiO₂ films.," *Water research* 2009; 43 pp. 47-54.

Aqua-latina. Desinfección. Recuperado el 20 de febrero de 2010 del sitio web: <http://www.aqua-latina.info/spanisch/produktsuche/prozess.php?id=11>

Arce O. Química del agua. Eutrofización de cuerpos de aguas. Recuperado el 9 de junio de 2011 del sitio web: <http://www.fcyt.umss.edu.bo/docentes/29/documentos/Eutrofizacion.pdf>

Baram N., Starosvetsky D., Starosvetsky J., Epshtein M., Armon R., Ein-Eli Y., "Enhanced inactivation of E. coli bacteria using immobilized porous TiO₂ photoelectrocatalysis," *Electrochimica Acta* 2009; 54. pp. 3381-3386.

Barati N., Sani M., Ghasemi H., Sadeghian Z., Mirhoseini S.M.M. "Preparation of uniform TiO₂ nanostructure film on 316L stainless steel by sol-gel dip coating," *Applied Surface Science* 2009; 255. pp. 8328-8333.

Bautista A.G. Evaluación en 3 microambientes diferentes de la termorresistencia de una cepa de *Salmonella* spp aislada de compost. Bogotá. 2009. Trabajo de grado (Microbiólogo Industrial) Tesis Universidad Javeriana. Facultad Ciencias. Microbiología Industrial.

Behrsing, J. Winkler S., Franz P., Premier R., "Efficacy of chlorine for inactivation of *Escherichia coli* on vegetables," *Postharvest Biology and Technology*, vol. 19. 2000, pp. 187-192.

Ben A., Guedri L., Baud G., Jacquet M., Ghedira M. "Influence of the temperature on the properties of sputtered titanium oxide films". *Materials Chemistry and Physics* 2003; 77. pp. 903-911.

Belapurkar, A.D., Sherkhane, P., Kale, S.P. "Disinfection of drinking water using photocatalytic technique". *Curr Sci India*, 2006; 91. pp.73-76.

Bernardi, M. Lee ,E. Filho,P. Leite, E. Longo,E. Varela, A. "Influence of the temperature TiO₂ Thin Film Growth Using the MOCVD Method". *Materials Research* 2001; 4. pp. 223-226.

Bockmeyer M., Lobmann P. "Crack formation in TiO₂ films prepared by sol-gel processing: Quantification and characterization," *Thin Solid Films* 2007 515. pp. 5212-5219.

Bohórquez P., Campos C. Evaluación de *Lactuca sativa* y *Selenastrum capricornatum* como indicadores de toxicidad en agua. *Universitas SCientiarum* 2007; 12 (2). pp. 83-98

Bonnet C., Babut M., Férard J, Martel L., Garric J. "Assessing the Potential Toxicity of Resuspended Sediment," *Environmental Toxicology and Chemistry* 2000; 19. pp. 1290.

Brandt S., Podivinsky E. Resuscitation of putative of viable but non culturable (VNC) foodborne bacteria of significance to New Zealand. 2008. Recuperado el 24 de Julio de 2011 del sitio web: <http://www.foodsafety.govt.nz/elibrary/industry/resuscitation-putative-viable-research-projects/fw0865-vnc-final-report.pdf>.

Campos C., Cárdenas M., Guerrero A. "Comportamiento de los indicadores de contaminación fecal en diferentes tipos de aguas en la sabana de Bogotá". *Universitas SCientiarum* 2008; 13. pp. 103-108.

Camacho A., Giles M., Ortigón M., Palao M., Serrano B. y Velázquez O. Técnicas para el Análisis Microbiológico de Alimentos. 2ª ed. 2009. Facultad de Química, UNAM. México.

Candal R.J., Rodríguez J., Colón G., Gelover S., Santos E.V., Jimenez A., Blesa M.A. "Eliminación de contaminantes por fotocatalisis heterogénea". M.A Blesa. 2001; 2. pp.143-161.

Candal R., Rodríguez J., Colón G., Gelover S., Vigil E., Jiménez A., Blesa M. "Materiales para fotocatalisis y electrofotocatalisis". Eliminación de Contaminantes por Fotocatalisis Heterogénea. Madrid: Editorial Ciemat; 2004 Cap7, pp. 189-210.

Candal R., Bilmes S., Blesa M. “ Semiconductores con actividad fotocatalítica.” Eliminación de Contaminantes por Fotocatálisis Heterogénea. Madrid: Editorial Ciemat; 2004. Cap 4, pp.79-101.

Carp O., Huisman, C., Reller, A. “Photoinduced reactivity of titanium dioxide”. *Prog Solid State Ch* 2004; 32. pp. 33–177.

Carrillo A. Puente M.E., Bashan Y. “Application of diluted chlorine dioxide to radish and lettuce nurseries insignificantly reduced plant development”. *Ecotoxicology and environmental safety* 1996; 35. pp. 57-66.

Castañeda O.A, Salcedo J.C. , Méndez H.A., Pedroza A.M. “Fabrication and optical characterization of a high-quality fcc-opal-based photonic crystal grown by the vertical convective self-assembly method” *Universitas Stuttgart* 2010; 15. pp. 150-158.

Castillo, Y. Cortés, A. Sanabria, J. Rincón, A. Pulgarín, C. Estudio de la influencia de un sistema de fotocatálisis en la remoción de patógenos de aguas residuales domesticas, crudas y tratadas y su relación con algunos parámetros fisicoquímicos. Recuperado el 25 de agosto de 2009 del sitio web: <http://gaox.univalle.edu.co/articulos/Algunos%20Resultados02.pdf>

Chen R., Zhang C., Deng J., Song G. “Preparation and photocatalytic activity of Cu²⁺ -doped TiO₂/SiO₂”. *International Journal of Minerals, Metallurgy and Materials* 2009; 16(2). pp. 220

Coatingsy. How do anatase and rutile differ in their photocatalytic activity. Recuperado el 11 de junio de 2011 del sitio web: http://coatingsys.com/yahoo_site_admin/assets/docs/How_do_anatase_and_rutile_differ_in_their_photocatalytic_activity.120225304.pdf.

Cohen-Yaniv V., Narkis N., Armon R. “Photocatalytic inactivation of Flavobacterium and E. coli in water by a continuous stirred tank reactor (CSTR) fed with suspended/immobilised TiO₂ medium.” *Water science and technology : a journal of the International Association on Water Pollution Research* 2008; 58. pp. 247-52.

Colon G., Maicu M., Hidalgo M., Navio J. “Cu-doped TiO₂ systems with improved photocatalytic activity,” *Applied Catalysis B: Environmental* 2006; 67. pp. 41-51.

Corporación Autónoma Regional. CAR. Acuerdo número 43 del 17 de octubre. Objetivos de calidad del agua para la cuenca del río Bogotá 2006, pp.1-16.

Corporación Autónoma Regional. CAR. Álvarez, G. El río Bogotá, una verdadera preocupación.2009.

Diebold U. “The surface science of titanium dioxide.” *Surface Science Reports* 2003; 48. pp. 53-229.

Diebold U., Ruzycki N., Herman G.S., Selloni A. "One step towards bridging the materials gap: surface studies of TiO₂ anatase." *Catalysis Today* 2003; 85. pp. 93-100.

Dong F., Zhao W., Wu Z., Guo S. "Band structure and visible light photocatalytic activity of multi-type nitrogen doped TiO₂ nanoparticles prepared by thermal decomposition." *Journal of hazardous materials* 2009; 162. pp. 763-70.

Drinking water ORG, National Academy of Sciences. El agua potable segura es esencial. Recuperado el 20 de febrero de 2010, del sitio web:<http://www.drinking-water.org/html/es/Treatment/Chemical-Disinfection-Oxidants-technologies.html>

Ede, S. "Infrared and Photocatalytic Studies of Model Bacterial Species for Water Treatment," Australia. 2006. Tesis Doctoral. Queensland University of Technology 2006. Physical and Chemical Sciences.

EPA. Folleto informativo de tecnología de aguas residuales Desinfección con cloro. United States Office of Water EPA. Environmental Protection Washington, D.C. 1999, 832-F-99-062.

EPA. Folletos informativos de Tecnología de Aguas Residuales de la EPA: Desinfección con cloro. Parte 1. Recuperado el 27 de mayo de 2011 del sitio web: <http://www.estrucplan.com.ar/producciones/entrega.asp?identrega=1889>.

EPA. Nanotechnology White Paper. 2007. Recuperado el 27 de mayo de 2011 del sitio web: www.epa.gov/osa

En Entrevista con Jorge A. Fernández. Microbiólogo Industrial Universidad Javeriana. Bogotá 14 de junio de 2011.

Folli A., Pochard I., Nonat A., Jakobsen U.H., Shepherd A.M., Macphee D.E. "Engineering Photocatalytic Cements: Understanding TiO₂ Surface Chemistry to Control and Modulate Photocatalytic Performances." *Journal of the American Ceramic Society* 2010; 93. pp. 3360-3369.

Garcés L.F., Mejía E.A., Santamaría J.J. "La fotocatalisis como alternativa para el tratamiento de aguas residuales". *La sallista de investigación* 2004; 1 pp. 83-92.

García A., Espinosa R., Delgado L., Casals v, González E., Puntos V., Barata C., Font X., Sánchez A. "Acute toxicity of cerium oxide, titanium oxide and iron oxide nanoparticles using standardized tests," *Desalination*, vol. 269, Mar. 2011, pp. 136-141.

Garcia J.C., Simionato J.I., Almeida V.D.C., Palácio S.M., Rossi F.L., Schneider M.V., Souza N.E.D. "Evolutive follow-up of the photocatalytic degradation of real textile effluents in TiO₂ and TiO₂/H₂O₂ systems and their toxic effects on *Lactuca sativa* seedlings." *Journal of the Brazilian Chemical Society* 2009; 20. pp. 1589-1597.

Ge L., Xu M., Fang H., Sun M., "Preparation of TiO₂ thin films from autoclaved sol containing needle-like anatase crystals." *Applied Surface Science* 2006; 253. pp. 720-725.

Gelover S., Gómez L., Reyes K., Teresa M. "A practical demonstration of water disinfection using TiO₂ films and sunlight.," *Water research* 2006; 40. pp. 3274-80.

Gennari F. C., Pasquevich D. M. "Influencia de la atmosfera sobre la transformación anatasa.rutilo.en TiO₂ en presencia Fe₂O₃." *Revista Materia* 1997;1. pp. 1517-7076.

González E.J., Santiago S.G. "Structural and optoelectronic characterization of TiO₂ films prepared using the sol-gel technique." *Semiconductor Science and Technology* 2007; 22. pp. 709-716.

Granda, F. Pino, A. Maya, N. Marín, J. Ríos, L. Restrepo, G. "Soporte y caracterización de películas de TiO₂ sobre recubrimientos poliméricos con actividad fotoinducida." *Scientia Et technica*, 2007; 36. pp 245-249.

Grupo TAR. Uso del Dióxido de Titanio como Catalizador (TiO₂), Anexo 1. Recuperado el 2 de mayo de 2011, del sitio web: http://prueba2.aguapedia.org/master/presencial/pfm/proyeco_fotocatalisis_solar/Anexo%201.pdf

Hafizah, N. Sopyan, L. Nanosized TiO₂ Photocatalyst Powder via Sol-Gel Method: Effect of Hydrolysis Degree on Powder Properties. *International Journal of Photoenergy*, 2009, pp. 1-8.

Hamid M.A, Rahman I.A. "Preparation of Titanium Dioxide (TiO₂) thin films by sol gel dip coating method." *Scanning* 2003; 5. pp. 086 - 091.

Helbling D.E., Vanbriesen J.M. "Free chlorine demand and cell survival of microbial suspensions.," *Water research* 2007; 41. pp. 4424-34.

Hashimoto K., Irie H., Fujishima A. "A Historical Overview and Future Prospects," *AAPPS Bulletin* 2007; 17 pp. 12-28.

Huang L., Peng F., Wang H., Yu H., Li Z. "Preparation and characterization of Cu₂O/TiO₂ nano-nano heterostructure photocatalysts." *Catalysis Communications* 2009; 10 pp. 1839-1843.

Huang Z., Maness P, Blake D.M., Wolfrum E.J., Smolinski S.L., Jacoby W.A, "Bactericidal mode of titanium dioxide photocatalysis." *Journal Photochemistry Photobiology A* 2000; 130 pp.163-170

Humpheson L., Adams M.R., Anderson W., Cole M.B. "Biphasic thermal inactivation kinetics in Salmonella enteritidis PT4." *Applied and environmental microbiology* 1998; 64. pp. 459-64.

Innocenzi, P. Zub, Y. Kessler, V. "Sol-Gel Methods for Materials Processing: Focusing on Materials for Pollution Control". *Water Purification, and Soil Remediation* 2008, pp.69-70.

Jaramillo, A. Taborda, G. "La fotocatalisis: aspectos fundamentales para una buena remoción de contaminantes." *Química solar* 2006; pp. 71-88.

Jin D., Hong S., Hoon S., Jung E. "Influence of calcination temperature on structural and optical properties of TiO₂ thin films prepared by sol – gel dip coating," *Materials Letters* 2002; 57. pp. 355 - 360.

Kaariainen M., Kaariainen T.O., Camenron D.C. "Titanium dioxide thin films, their structure and its effect on their photoactivity and photocatalytic properties." *Thin Solid Films* 2009; 517. pp. 6666-6670.

Karntanut W., Pascoe D. "The toxicity of copper, cadmium and zinc to four different Hydra (Cnidaria: Hydrozoa)." *Chemosphere* 2002; 47. pp. 1059-64.

Karunakaran C., Abiramasundari G., Gomathisankar P., Manikandan G., Anandi V. "Cu-doped TiO₂ nanoparticles for photocatalytic disinfection of bacteria under visible light." *Journal of colloid and interface science* 2010; 352. pp. 68-74.

Kim K.T., Klaine S.J., Cho J., Kim S., Kim S.D. "Oxidative stress responses of Daphnia magna exposed to TiO₂ nanoparticles according to size fraction." *The Science of the total environment* 2010; 408. pp. 2268-72.

Kim T, Nam T, Lee M "Nitrogen and Phosphorus Removal from Livestock Wastewater by Zeolite Ion Exchange and Ionizing Radiation." *Engineering and Technology* 2009, pp. 9-13.

Kim, D. Kwak, S. "E. coli with a Mesoporous TiO₂ Coated Film Using the Film Adhesion Method." *Environmental Science Technology* 2009, 148-151.

Laboratorio de calidad en aguas y lodos, Pontificia Universidad Javeriana.

Li C. Tseng, C. Lai H., Chang C. "Ultraviolet Germicidal Irradiation and Titanium Dioxide Photocatalyst for Controlling Legionella pneumophila." *Aerosol Science and Technology* 2003; 37. pp. 961 – 966

Linsebigler A.L., Lu G., Yates J.T. "Photocatalysis on TiO₂ Surfaces: Principles, Mechanisms, and Selected Results." *Society*, 1995, pp. 735-758.

Liu, Y. Chen, X. Li, J. Burda, C. "Photocatalytic degradation of azo dyes by nitrogen-doped TiO₂ nanocatalysts." *Chemosphere* 2005; 61. pp. 11–18.

Liu, Y. Liu, J. Lin, Y. Zhang, Y. Wei, Y. “Simple fabrication and photocatalytic activity of S-doped TiO₂ under low power LED visible light irradiation.” *Ceramics International* 2009; 35. pp. 3061–3065.

Lonnen J., Kilvington S., Kehoe S.C., Touati F., McGuigan K.G. “Solar and photocatalytic disinfection of protozoan, fungal and bacterial microbes in drinking water.” *Water research* 2005; 39. pp. 877-83.

Lu A., Guo Y., Liu J., Liu F., Wang C., Li N., & Li Q. “Photocatalytic effect of nature and modified V-bearing rutile.” *Chinese Science Bulletin* 2004; 49. pp. 2284—2287

Mai L., Huang C., Wang D., Zhang Z., Wang Y “Effect of C doping on the structural and optical properties of sol–gel TiO₂ thin films.” *Applied Surface Science* 2009; 255. pp. 9285-9289.

Madigan, M. T, Martinko, J. M. & Parker, J. *Brock Biología de los Microorganismos*, Ed. Prentice-Hall, Madrid. 10^a edición. 2003. Cap 29.

Madsen T., Boyd H.B., Nylén D. “Environmental and Health Assessment of Substances in Household Detergents and Cosmetic Detergent Products.” 2001.

Manrique L. Modelamiento de la degradación fotocatalítica del color presente en un efluente textil simulado. Medellín, 2006. Trabajo de grado (Maestría en Ingeniería Química). Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Minas. Ingeniería Química.

Maquimsaperu. Hipoclorito de sodio. Recuperado el 17 de junio de 2011 del sitio web: http://www.maquimsaperu.com/index_archivos/hipocloritoNa.pdf

Mardare, D., Rusi, G. “The influence of heat treatment on the optical properties of titanium oxide thin films.” *Materials Letters* 2002; 56. pp.210–214.

Margall N., Domínguez A., Prats G., Salleras L. *Escherichia Coli* Enterohemorrágica . Rev. Esp. Salud Publica vol.71 n.5. 1997.

Marín J.M., Granda CF., Galeano L., Ríos L.A., Restrepo G. “TiO₂ soportado sobre recubrimientos poliméricos: evaluación en un sistema fotorreaccionante activado con radiación solar.” *Scientia Et Technica* 2007; XIII. pp. 441-446.

Marugán J., Grieken R., Sordo C., Cruz C., “Kinetics of the photocatalytic disinfection of *Escherichia coli* suspensions,” *Applied Catalysis B: Environmental* 2008; 82. pp. 27-36.

Mathews N.R., Morales E.R., Cortés M., Toledo J. “TiO₂ thin films – Influence of annealing temperature on structural, optical and photocatalytic properties.” *Solar Energy* 2009; 83. pp. 1499-1508.

Maynard H.E., Ouki S.K., Williams S.C. "Review paper tertiary lagoons: A review of removal mechanisms and performance," *Science* 1999; 33.

Mechiakha, R., Sedrine, N.B., Chtourou, R., Bensaha, R. "Correlation between microstructure and optical properties of nano-crystalline TiO₂ thin films prepared by sol-gel dip coating". *Applied Surface Science* 2010; 257. pp. 670-676.

Medrano W. Evaluación de la calidad de aguas residuales de la planta de tratamiento de Alba Rancho (SEMAPA) con fines de riego. Bogotá. 2001. Universidad Mayor de San Simón. Tesis Maestría Profesional en Levantamiento de Recursos Hídricos.

Mejia M.I., Marín M. J., Restrepo G., Ríos L. A. "Obtención de sistemas fotoactivos TiO₂ /nylos soportados por métodos físicos inmersión-difusión," *Scientia* 2007; XIII. pp. 97-101.

Michanie, S. Escherichia coli O157:H7 La bacteria que disparó el HACCP en la industria de la carne. Énfasis Alimentos 2003; 3 pp. 1-7.

Miki, T., Nishizawa, K., Watanabe, E., & Taoda, H. "Effect of calcination temperature on microstructure of porous TiO₂ film." *Research Chemical Intermediates* 2009; 35 pp. 257-262.

Mirji S., Halligudi S., Mathew N., Ravi V., Jacob N., Patil K. "Adsorption of methanol on Si(100)/SiO₂ and mesoporous SBA-15." *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 2006; 287. pp. 51-58.

Mo S. D., Ching W. Y. "Electronic and optical properties of three phases of titanium dioxide: Rutile, anatase, and brookite." *Physical Review B* 1995; 51. pp. 13023-13032

Montgomery. Diseño y Análisis de experimentos. Editorial Limusa. Segunda edición. 2003. pp. 218- 276.

Mora, A. Blanco, M. Blanco, J. Blanco, J. "Prevalencia, serotipos y genes de virulencia de los Escherichia coli verotixigenicos (O157 y no O157) en el ganado y carne de bovino." *Revista de Epidemiología y Medicina Preventiva Veterinaria* 2003; 1. pp. 34-36

Nataro, J. Kaper, J. Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clinical Microbiology Reviews* 1998; 11(1).pp. 142-201.

Negishi N., Takeuchi K. "Preparation of TiO₂ Thin Film Photocatalysts by Dip Coating." *Journal of Sol-Gel Science and Technology* 2001, pp. 23-31.

Ohno T., Akiyoshi M., Umebayashi T., Asai K., Takahiro Mitsui, Michio Matsumura "Preparation of S-doped TiO₂ photocatalysts and their photocatalytic activities under visible light." *Applied Catalysis A: General* 2004; 265. pp. 115-121.

Ohtani B. "Photocatalysis A to Z—What we know and what we do not know in a scientific sense." *Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews* 2010; 11. pp. 157-178.

OMS. Biblioteca virtual de desarrollo sostenible y salud ambiental. Recuperado el 19 de junio de 2011 del sitio web: <http://www.bvsde.ops-oms.org/eswww/fulltext/repind53/dis/discap74.html>

Organización mundial de la Salud. Guías para la calidad del agua potable, tercera edición. Aspectos microbiológicos. 2008.

Pardos M., Benninghoff C., Guéguen C., Thomas R., Dobrowolski J., Dominik J., "Acute toxicity assessment of Polish (waste) water with a microplate-based *Hydra attenuata* assay: a comparison with the Microtox test." *The Science of the total environment* 1999; 243-244. pp. 141-8.

Park Y.R., Kim K.J. "Structural and optical properties of rutile and anatase TiO₂ thin films: Effects of Co doping." *Thin Solid Films* 2005; 484. pp. 34-38.

ParK J.Y., Lee C., Jung K.W., Jung D. "Structure Related Photocatalytic Properties of TiO₂." *Bulletin of the Korean Chemical Society* 2009; 30. pp. 402-404.

Pedroza A.M., Mosqueda R., Alonso-Vante N., y Rodríguez R. "Sequential treatment via *Trametes versicolor* and UV/TiO₂/Ru(x)Se(y) to reduce contaminants in waste water resulting from the bleaching process during paper production." *Chemosphere* 2007; 67. pp. 793-801.

Pihosh, Y. Goto, M. Kasahara, A. Tosa, M. "Photocatalytic property of TiO₂ thin films sputtered-deposited on unheated substrates." *Applied Surface Science* 2009; 256. pp. 937-942.

Pizem H., Sukenik C.N., Sampathkumaran U., Mcilwain A.K., Guire M.R.D., "Effects of Substrate Surface Functionality on Solution-Deposited Titania Films." *Materials Research* 2002; 14. pp. 2476-2485.

Polifroni R., Etcheverría A. I., Padola N. L., Parma A. E. "*Escherichia coli* verocitotóxico (VTEC). Características de virulencia y persistencia en el medio ambiente." *Scientific Electronic Library Online* 2009; 11. pp. 65-70.

Portela R. Eliminación fotocatalítica de H₂S en aire mediante TiO₂ soportado sobre sustrato transparentes en el UV-A. Santiago de Compostela. 2008. Trabajo de grado (Doctora). Universidad de Santiago de Compostela, Departamento de Ingeniería Química. Aspirante a grado Doctoral. 2008.

Premuzic Z. , Palmucci HE., Tamborene J., Nakama M. "Chlorination : Phytotoxicity and effects on the production and quality of *Lactuca sativa* var . Mantecosa grown in a

closed, soil-less system,” *International Journal of Experimental Botany* 76. 2007; 76. pp. 103-117.

Recillas S., García A., González E., Casals E., Puntos V., Sánchez A., Font X. “Use of CeO₂, TiO₂ and Fe₃O₄ nanoparticles for the removal of lead from water.” *Desalination* 2011; 277. pp. 213-220.

Rengifo J.A., Pulgarin C. “Photocatalytic activity of N, S co-doped and N-doped commercial anatase TiO₂ powders towards phenol oxidation and *E. coli* inactivation under simulated solar light irradiation.” *Solar Energy* 2010; 84. pp. 37-43.

Rincón A.G., Pulgarín C. “Effect of pH, inorganic ions, organic matter and H₂O₂ on *E. coli* K12 photocatalytic inactivation by TiO₂ Implications in solar water disinfection.” *Applied Catalysis B: Environmental* 2004; 51. pp. 283-302.

Rincón A.G., Pulgarín C. “Photocatalytical inactivation of *E. coli*: effect of (continuous–intermittent) light intensity and of (suspended–fixed) TiO₂ concentration.” *Applied Catalysis B: Environmental* 2003; 44. pp. 263-284.

Rincón, A. G., Giraldo, S. A., Pulgarin C. Desinfección de agua por fotocatalisis. Aspectos básicos. Solar Safewater. Tecnologías solares para la desinfección y descontaminación del agua. Eds. M.A. Blesa y J. 2005; Chapter 13 pp. 197-219.

Rizzo L., “Inactivation and injury of total coliform bacteria after primary disinfection of drinking water by TiO₂ photocatalysis.” *Journal of hazardous materials* 2009; 165. pp. 48-51.

Rockafellow E.M., Stewart L.K., Jenks W.S “Is sulfur-doped TiO₂ an effective visible light photocatalyst for remediation?,” *Applied Catalysis B: Environmental* 2009; 91. pp. 554-562.

Rodriguez L., Matoušek J. “Properties of sol-gel TiO₂ layers on glass substrate.” *Ceramics* 2004; 48. pp. 66-71.

Rojas N.S., Sánchez A.M. Evaluación de la efectividad de la fotocatalisis heterogenia con TiO₂ para la inactivación de *E. coli*. Bogotá. 2009. Trabajo de grado (Microbióloga Industrial). Pontificia Universidad Javeriana. Facultad Ciencias. Departamento de microbiología.

Salih, F. Enhancement of solar inactivation of *Escherichia coli* by titanium dioxide photocatalytic oxidation. *Journal of applied microbiology* 2002; 92. pp. 920-926

Salcedo J.C. “Electronic band structure of the ordered Zn_{0.5}Cd_{0.5}Se alloy calculated by the semi-empirical tight-binding method considering second-nearest neighbor.” *Universitas Scientiarum* 2008; 13 (2). pp. 198-207.

Sarria, V. Los procesos de Oxidación Avanzada. HIPÓTESIS / APUNTES CIENTÍFICOS UNIANDINOS No. 6 Recuperado el 19 de febrero de 2010 del sitio web:<http://ciencias.uniandes.edu.co/pdf/oxida06.pdf>

Sreemany M., Sen S. “A simple spectrophotometric method for determination of the optical constants and band gap energy of multiple layer TiO₂ thin films.” *Materials Chemistry and Physics* 2004; 83. pp. 169-177.

Sobczyński A., Dobosz A., “Water Purification by Photocatalysis on Semiconductors.” *Polish Journal of Environmental Studies* 2001; 10. pp. 195-205.

Solsona, F. Méndez, J. 2002. Desinfección del agua, Calidad del agua. Organización Panamericana de la Salud. Recuperado el 20 de febrero de 2010, del sitio web <http://www.cepis.ops-oms.org/bvsacg/fulltext/desinfeccion/desinfeccion.html>

Sonawanea R.S., Hegdeb S.G., Dongareb M.K. “Preparation of titanium(IV) oxide thin film photocatalyst by sol-gel dip coating”, *Materials Chemistry and Physics* 2002; 77. pp. 744-750.

Srinivasan C., Somasundaram N. “Bactericidal and detoxification effects of irradiated semiconductor catalyst, TiO₂.” 2003; 85.

Tang H., Levy F., Berger H., Schmid P.E. Urbach tail of anatase TiO₂. *Physical Review B* 1995; 52. pp. 7771.

Terabe, K. Kato, K. H. Miyazaki, H. Yamaguchi, S. Imai, W. Iguchi, Y. “Microstructure and crystallization behaviour of TiO₂ precursor prepared by the sol-gel method using metal alkoxide.” *Journal of Material Science* 1994; 29. pp. 1617-1622.

Tian G., Pan K., Fu H., x Jing v, Zhou W. “Enhanced photocatalytic activity of S-doped TiO₂-ZrO₂ nanoparticles under visible-light irradiation.” *Journal of hazardous materials*, vol. 166, Jul. 2009, pp. 939-44.

Urkiaga A., Gómez L., Gutiérrez M. “Aplicación de procesos de oxidación avanzada al tratamiento de efluentes de diferentes sectores industriales. Recuperado el 28 de mayo 2010 del sitio web: http://cidta.usal.es/residuales/libros/logo/pdf/oxidacion_avanzada_efluentes_industriales.pdf 2011.

Washtenaw County Environmental Health. Water Quality Information. Recuperado el 27 de mayo de 2011, del sitio web:http://www.ewashtenaw.org/government/departments/environmental_health/swimming_pools/eh_eisbeach.html+washtenaw+county+environmental+health,+E.coli&cd=1&hl=es&ct=clnk&gl=co&source=www.google.com.co

Xie J., Jiang D., Chen M., Li D., Zhu J., Lü X., Yan C., “Preparation and characterization of monodisperse Ce-doped TiO₂ microspheres with visible light

photocatalytic activity,” *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 2010; 372. pp. 107-114.

Xu, L., Zhanga, J.S., Cao, W.X., Wuc, A.G., & Li, Z. “Stable multilayer films based on photoinduced interaction between polyoxometalates and diazo resin”. *Materials Letters* 58.2004, pp.3441-3446.

Young, J., Lee, C., Jung, K., Jung, D. “Structure Related Photocatalytic Properties of TiO₂.” *Bulletin of the Korean Chemical Society* 2009; 30. pp. 402-404

Zaleska A, “Doped-TiO₂: A Review,” *Recent Patents on Engineering* 2008; 2. pp. 157-164.

Zhao L., Han M., Lian J. “Photocatalytic activity of TiO₂ films with mixed anatase and rutile structures prepared by pulsed laser deposition” *Thin Solid Films* 2008; 516. pp. 3394 - 3398.

Zhao, L., Yu, Y., Song, L., Hu, X., & Larbot, A. “Synthesis and characterization of nanostructured.” *Applied Surface Science* 2005; 239. pp. 285–291.

10. Anexos

10.1 Participación en eventos

Participación como ponente en 1er Simposio Internacional gestión del conocimiento para el desarrollo sostenible Ambiental.

Universidad del Quindío

2010

Participación con poster en 14th International Biotechnology Symposium and Exhibition. Biotechnology for Sustainability of Human Society

Rimini-Italia

2010

Participación con poster en IX Escuela Nacional de Física

Universidad del Tolima

2010

10.2 Documentos sometidos

Sometido a: Elsevier Editorial System(tm) for Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry. Factor de impacto 2.3, fecha 26 de mayo de 2011.

“TiO₂ Films Deposited Over Silicon Dioxide Glass to Determine 1 Bactericidal Effect in Domestic Wastewater”

Autores: Carolina Villanueva-Jaramillo¹, Andrea Sánchez-Garibello¹, Naydú Rojas¹, Ciro Falcony-Guajardo⁴, Marcela Guerrero², Ana Soto Guzmán², Ana Carrascal-Camacho³, Juan Salcedo-Reyes⁴, Aura Pedroza-Rodríguez¹.

¹Laboratorio de Microbiología Ambiental y Suelos, Grupo de Biotecnología Ambiental e Industrial.

Departamento de Microbiología. Facultad de Ciencias.

² Laboratorio de Microbiología de Alimentos. Grupo de Biotecnología Ambiental e Industrial. Departamento de Microbiología. Facultad de Ciencias.

⁴ Grupo de Películas Delgadas. Departamento de Física. Facultad de Ciencias. Pontificia Universidad Javeriana. Cra 7 No 43-82. Bogotá, Colombia.

⁵Departamento de Física. Centro de Investigaciones y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional. México.

Abstract

The present study TiO₂ films were prepared by sedimentation method to acid pH (1.3). The substrate was previously modified with H₂O₂/H₂SO₄ solution. Films were annealing to different temperatures to evaluate morphologic and crystallographic features, band gap and bactericide activity over *Escherichia coli*. On the other hand, an experimental design 2² was used to evaluate the effect of photo-reactor material and light exposition on photocatalytic activity of films. Finally, *E. coli*, coliforms and total heterotrophs were evaluated in inactivation kinetics for 14 hours; TiO₂/UV, UV y TiO₂ treatments were evaluated in darkness. Films annealing at 450°C for one hour showed the best bactericide activity of *E.coli* (68.72%) in photocatalytic treatment by 6 hours; XRD showed anatase (101,004) and rutile (110,001) phases, band gap was between 3.1-3.2 eV , and the SEM photographs did not show any break. In the experimental design 2² was founded UV light (254 nm) and sodium silicate reactor as the best combination. The inactivation kinetics with TiO₂ films showed that the total inactivation (100%) in wastewater of *E.coli* and total coliformes were at 30 minutes, and heterotrophs were at 60 minutes.

Key words: Photocatalysis; Titanium dioxide; *E. coli*; Sedimentation; XRD; SEM.