

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA  
FACULTAD DE CIENCIAS  
CARRERA DE MICROBIOLOGÍA INDUSTRIAL**



**EVALUACIÓN DE LA FOTOCATÁLISIS HETEROGÉNEA UV/TIO<sub>2</sub> Y FENTON  
HETEROGÉNEO H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>Fe/CARBÓN ACTIVADO EN EL TRATAMIENTO DEL AGUA  
RESIDUAL DE LABORATORIOS DE MICROBIOLOGÍA**

---

**Magda Guadalupe Cardozo Miño**

**DIRECTORA:**

**Aura Marina Pedroza Rodríguez. M.Sc. Ph.D.**

**CO-DIRECTOR:**

**Carlos Enrique Daza. Q. Ph.D.**

**PROYECTO DE TRABAJO DE GRADO**

**Presentado como requisito parcial**

**Para optar al título de Microbióloga Industrial**

**BOGOTÁ D.C 2012**

**EVALUACIÓN DE LA FOTOCATÁLISIS HETEROGÉNEA UV/TIO<sub>2</sub> Y FENTON  
HETEROGÉNEO H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>Fe/CARBÓN ACTIVADO EN EL TRATAMIENTO DEL AGUA  
RESIDUAL DE LABORATORIOS DE MICROBIOLOGÍA**

**Magda Guadalupe Cardozo Miño**

**APROBADO**

---

**INGRID SCHULER**

Decana Académica

---

**JANETH ARIAS**

Directora de Carrera

**EVALUACIÓN DE LA FOTOCATÁLISIS HETEROGÉNEA UV/TIO<sub>2</sub> Y FENTON  
HETEROGÉNEO H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>Fe/CARBÓN ACTIVADO EN EL TRATAMIENTO DEL AGUA  
RESIDUAL DE LABORATORIOS DE MICROBIOLOGÍA**

**Magda Guadalupe Cardozo Miño**

**APROBADO**

---

**Aura Marina Pedroza R. M.Sc. Ph.D**

Director

---

**Carlos Enrique Daza. Ph.D.**

Co-Director

**Jorge Andrés Fernández G. M.Sc(c)**

Asesor 1.

**Juan Carlos Salcedo R. M.Sc. Ph.D.**

Asesor 2.

---

**Wolfgang Gernajk Ph.D.**

The University of Queensland

Jurado

## NOTA DE ADVERTENCIA

Artículo 23 de la Resolución N° 13 de Julio de 1946

*“La Universidad no se hace responsable por los conceptos emitidos por sus alumnos en sus trabajos de tesis. Solo velará porque 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”*

## AGRADECIMIENTOS

*A Dios*

*A mis padres por su amor y apoyo*

*A la Dr. Aura Marina Pedroza por abrirme las puertas, dejarme ser parte de este proyecto, por su conocimiento, su apoyo y colaboración infinita.*

*Al Dr. Carlos Daza y al Dr. Juan Salcedo por su colaboración, paciencia y apoyo en la elaboración de este proyecto*

*A Jorge Andrés por su paciencia, colaboración y más que nada por su amistad*

*A mis compañeros de laboratorio por todos los momentos*

*A Catalina Borrero y Camila Castro por la colaboración*

*Al proyecto “Aprovechamiento de la biomasa residual de la rosa colombiana para la obtención de carbón activado y su potencial uso en la eliminación de níquel en medio acuoso diluido” código 12010U00401200, auspiciado por la Vicerrectoría Académica de la Pontificia Universidad Javeriana.*

*Al proyecto “Sensibilización de películas fotocatalizadoras de TiO<sub>2</sub> preparadas por Sputtering y sol-gel utilizando el colorante extraído de Chokanari (Picramnia sellowii) para el tratamiento de residuos de práctica microbiológica” auspiciado por la Vicerrectoría Académica de la Pontificia Universidad Javeriana.*

*A la Pontificia Universidad Javeriana*

## TABLA DE CONTENIDO

<b>RESUMEN .....</b>	<b>10</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>11</b>
<b>2. JUSTIFICACIÓN Y PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....</b>	<b>13</b>
<b>3. MARCO TEÓRICO Y REFERENTES CONCEPTUALES.....</b>	<b>14</b>
3.1 AGUA RESIDUAL DE LOS LABORATORIOS DE MICROBIOLOGÍA .....	14
3.1.1 <i>COLORANTES</i> .....	14
3.1.1.1 <i>COLORANTES TRIFENILMETÁNICOS</i> .....	15
3.1.2 <i>MICROORGANISMOS</i> .....	16
3.2 MARCO LEGAL.....	16
3.3 PROCESOS DE OXIDACIÓN AVANZADA .....	19
3.3.1 <i>FOTOCATÁLISIS HETEROGÉNEA</i> .....	19
3.3.1.1 <i>MATERIALES SEMICONDUCTORES</i> .....	19
3.3.1.1.1 <i>DIOXIDO DE TITANIO TIO<sub>2</sub></i> .....	20
3.3.1.2 <i>ELABORACIÓN DE PELÍCULAS DE TIO<sub>2</sub> POR SEDIMENTACIÓN</i> .....	21
3.3.1.3 <i>FOTOCATÁLISIS HETEROGÉNEA UV/TIO<sub>2</sub></i> .....	21
3.3.1.4 <i>FACTORES QUE AFECTAN AL PROCESO FOTOCATALÍTICO</i> .....	23
3.3.2 <i>EL PROCESO FENTON</i> .....	24
3.3.2.1 <i>FENTON HETEROGÉNEO H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>Fe/CARBÓN ACTIVADO</i> .....	25
3.3.2.2 <i>FACTORES QUE AFECTAN EL PROCESO</i> .....	25
<b>4. OBJETIVOS.....</b>	<b>28</b>
4.1 OBJETIVO GENERAL.....	28
4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	28
<b>5. METODOLOGÍA .....</b>	<b>29</b>
5.1 RECOLECCIÓN Y TOMA DE LA MUESTRA .....	29
5.2 DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS .....	29
5.3 CARACTERIZACIÓN MICROBIOLÓGICA .....	30
5.4 TRATAMIENTOS DE OXIDACIÓN AVANZADA .....	31
5.4.1 <i>ETAPA I FOTOCATÁLISIS UV/TIO<sub>2</sub></i> .....	31
5.4.1.1 <i>ELABORACIÓN DE PELÍCULAS PARA FOTOCATÁLISIS</i> .....	31
5.4.1.2 <i>CONFIGURACIÓN DEL REACTOR FOTOCATALITICO</i> .....	32
5.4.2 <i>ETAPA II FENTON HETEROGENEO H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>Fe/CARBÓN ACTIVADO</i> .....	33

5.4.2.1	OBTENCIÓN DE CATALIZADOR DE Fe SOPORTADO EN CARBÓN ACTIVADO (Fe/CA) 33	
5.4.2.2	CONFIGURACIÓN DEL REACTOR FENTON .....	34
5.4.3	DETERMINACIÓN DE LA EFICIENCIA EN LA DESINFECCIÓN .....	35
5.4.4	ESPECTROS DE ABSORCIÓN UV-VIS .....	35
5.5	ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	35
<b>6.</b>	<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>36</b>
6.1	CARACTERIZACIÓN DEL AGUA RESIDUAL .....	36
6.1.1	DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS .....	36
6.1.2	CARACTERIZACIÓN MICROBIOLÓGICA .....	37
6.2	TRATAMIENTOS DE OXIDACIÓN AVANZADA .....	39
6.2.1	ETAPA I FOTOCATÁLISIS HETEROGÉNEA UV/TIO <sub>2</sub> .....	39
6.2.1.1	EVALUACIÓN DE PARÁMETROS FÍSICOQUÍMICOS.....	39
6.2.1.2	ESPECTRO DE ABSORCIÓN UV-VIS (FOTOCATÁLISIS) .....	45
6.2.1.3	COMPORTAMIENTO DE LA POBLACIÓN MICROBIANA .....	46
6.2.2	ETAPA II FENTON HETEROGÉNEO H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> Fe/CARBÓN ACTIVADO .....	49
6.2.2.1	EVALUACIÓN DE PARÁMETROS FÍSICOQUÍMICOS.....	49
6.2.2.2	ESPECTROS DE ABSORCIÓN UV-VIS (FENTON) .....	53
6.2.2.3	COMPORTAMIENTO DE LA POBLACIÓN MICROBIANA .....	54
<b>7.</b>	<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>57</b>
<b>8.</b>	<b>RECOMENDACIONES .....</b>	<b>58</b>
<b>9.</b>	<b>BIBLIOGRAFIA.....</b>	<b>59</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Diagrama de bandas de energía del $\text{TiO}_2$ .....	22
<b>Figura 2.</b> Esquema de mineralización celular a causa de la acción de radicales oxidantes...27	27
<b>Figura 3.</b> Contenedor (Izquierda) y recolector (derecha) de agua residual.....29	29
<b>Figura 4.</b> Películas de $\text{TiO}_2$ . .....	32
<b>Figura 5.</b> Esquema del reactor fotocatalítico. ....	32
<b>Figura 6.</b> Esquema del reactor Fenton.....34	34
<b>Figura 7.</b> Población microbiana del agua residual.....38	38
<b>Figura 8.</b> Comportamiento de los parámetros fisicoquímicos durante la fotocatalisis. ....40	40
<b>Figura 9.</b> Espectros de absorción UV-visible del agua tratada por fotocatalisis ( $\text{TiO}_2/\text{UV}$ ) y fotolisis (UV), desde la hora inicial, hora 7 ( $\text{TiO}_2/\text{UV}_7$ ) y hora 14 ( $\text{TiO}_2/\text{UV}_{14}$ ) del proceso. ....45	45
<b>Figura 10.</b> Cinéticas de inactivación de microorganismos.....46	46
<b>Figura 11.</b> Comportamiento de los parámetros fisicoquímicos durante el tratamiento Fenton heterogéneo. ....50	50
<b>Figura 12.</b> Espectros de absorción UV-visible del agua tratada por Fenton heterogéneo $\text{H}_2\text{O}_2\text{Fe}/\text{CA}$ , y carbón activado (CA) como control, desde el agua residual sin tratar (inicial), a la hora 0 ( $\text{H}_2\text{O}_2\text{Fe}/\text{CA}_0$ ), ( $\text{CA}_0$ ) y a las a las 14 horas de tratamiento ( $\text{H}_2\text{O}_2\text{Fe}/\text{CA}_{14}$ ), ( $\text{CA}_{14}$ ). 53	53
<b>Figura 13.</b> Cinéticas de inactivación de microorganismos.....54	54

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Compuestos utilizados en coloraciones.....	14
<b>Tabla 2.</b> Estructura química de algunos colorantes trifenilmetánicos.....	16
<b>Tabla 3.</b> Valores máximos permisibles de parámetros fisicoquímicos en vertimientos puntuales a alcantarillados públicos en Colombia.....	18
<b>Tabla 4.</b> Valores de referencia para los vertimientos realizados a la red de alcantarillado en el distrito capital.....	18
<b>Tabla 5.</b> Caracterización fisicoquímica del agua residual .....	36
<b>Tabla 6.</b> Reactivación secundaria.....	48
<b>Tabla 7.</b> Constantes de inactivación de primer orden ( $k$ ) en $\text{min}^{-1}$ para las 3 poblaciones microbianas por fotocátalisis.....	48
<b>Tabla 8.</b> Constantes de inactivación de primer orden ( $k$ ) en $\text{min}^{-1}$ para las 3 poblaciones microbianas por Fenton. ....	56

## RESUMEN

Los procesos de oxidación avanzada son ampliamente reconocidos por su eficiencia en el tratamiento de aguas residuales que contienen contaminantes persistentes como los colorantes y microorganismos. En el presente estudio se evaluaron dos sistemas de oxidación avanzada: fotocátalisis heterogénea UV/TiO<sub>2</sub> y Fenton heterogéneo H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe/Carbón Activado, como alternativas para el tratamiento del agua residual generada en las prácticas de Microbiología de la Facultad de Ciencias de la Pontificia Universidad Javeriana, evaluando la remoción de materia orgánica, en términos de DQO, COT, UC e inactivación de algunos de los microorganismos presentes.

Como agua de estudio se utilizaron los residuales generados en los laboratorios 233, 224 y 214 de los Edificios Ángel Valtierra S.J. (Ed. 51) y Félix Restrepo S.J. (Ed. 50) cuyas características iniciales fueron: DQO 3352 mg/L, DBO<sub>5</sub> 1693 mg/L, COT 623 mg/L y 1891 unidades de color (UC). Valores que están por encima de los límites de vertimientos según lo estipulado por el Decreto 3930 de 2010 del Ministerio de Ambiente Vivienda y Desarrollo Territorial (MAVDT) y la Resolución No. 3957 del 2009 de la Secretaria Distrital del Medio Ambiente (SDA). Adicionalmente se identificaron algunos de los microorganismos presentes. De acuerdo con los resultados se observó que por medio de fotocátalisis se inactivaron completamente (100%) las poblaciones evaluadas y no se observó reactivación secundaria al pos-tratamiento. Esta tecnología fue eficiente en la remoción de UC, DOQ y COT con porcentajes de 99,5%, 76,7% y 79,5% respectivamente. Mientras que el sistema Fenton no inactivó totalmente de uno de los grupos bacterianos trabajados (74%), así mismo el tratamiento únicamente removió el 51% de UC, 59,3% de DQO y 56,6% de COT. Finalmente, bajo el tratamiento fotocatalítico y Fenton el agua residual tratada cumple con la Resolución No. 3957 del 2009 de la SDA, pero no con el Decreto 3930 de 2010 MAVDT en cuanto al valor máximo de DQO y pH, para el libre vertimiento a los sistemas de alcantarillado.

## 1. INTRODUCCIÓN

Colombia tiene el privilegio de ser uno de los países con mayor riqueza en recursos hídricos en el mundo. De acuerdo con información suministrada por el MAVDT y el Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales de Colombia (IDEAM), factores como: el aumento de la población, el crecimiento de las actividades socioeconómicas, las condiciones climáticas, y el creciente número de intervenciones de tipo antrópico sobre el agua, afectan la calidad y disminuyen la oferta de agua para uso agrícola, doméstico, industrial, pecuario y de servicios. Con el fin de mantener los criterios de calidad del recurso hídrico para los diferentes usos y el equilibrio del sistema natural, se deben implementar programas para el tratamiento y disposición final de las aguas servidas de origen doméstico e industrial (2). Estos programas deberán cumplir con los criterios de calidad en relación al uso y las normas de vertimiento, como lo estipulan los Decretos 3930 de 2010 del MAVDT y para el Distrito Capital la Resolución No. 3957 del 2009 de la SDA.

En las últimas 3 décadas se han desarrollado tecnologías alternativas que buscan mejorar la calidad de los efluentes y el reusó agua dentro del proceso productivo. En este contexto, los procesos de oxidación avanzada (POA), como fotocátalisis y la reacción Fenton, son reconocidos por su eficiencia en la desinfección y en el tratamiento de aguas contaminadas con compuestos altamente recalcitrantes. La degradación de los contaminantes orgánicos es conducida por la formación de radicales oxidantes, (principalmente hidroxilo  $\text{OH}\cdot$ ) altamente reactivos y poco selectivos (3). Estos procesos se caracterizan por lograr una rápida oxidación/reducción de los compuestos orgánicos, disminución de la toxicidad, incremento de la biodegradabilidad, disminución de la demanda química (DQO) y biológica de oxígeno ( $\text{DBO}_5$ ), y color de estas aguas por lo que son considerados altamente competitivos en el tratamiento de contaminantes orgánicos no tratables por sistemas convencionales (4).

Los procesos fotocatalíticos heterogéneos que involucran el uso de semiconductores como el  $\text{TiO}_2$ , se han promovido por su gran potencial para tratar la contaminación hídrica (5). Dichos procesos tienen la ventaja, frente a otros procesos convencionales de oxidación, de lograr una mineralización completa de los contaminantes, pueden hacer uso de fuentes lumínicas como luz solar y cercana a la UV y no requieren de la adición de otros compuestos (6-9). Por otro lado, el sistema de oxidación basado en la reacción Fenton, produce radicales hidroxilo a partir de  $\text{H}_2\text{O}_2$  y una sal de  $\text{Fe}^{2+}$ . Este proceso también puede ser llevado bajo condiciones heterogéneas mediante la inmovilización del catalizador principalmente iones férricos u óxidos de hierro, en una matriz porosa como el carbón activado los cuales son eficaces en la oxidación de compuestos fenólicos, agua residual textil, colorantes entre otros (12-17).

Teniendo en cuenta lo anterior, este trabajo de grado tuvo por objetivo la evaluación de dos procesos de oxidación avanzada: fotocátalisis heterogénea UV/TiO<sub>2</sub> y Fenton heterogéneo H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe/CA como sistemas de tratamiento del agua residual generada a partir de las prácticas de Microbiología en la Facultad de Ciencias de la Pontificia Universidad Javeriana, en relación con la remoción de materia orgánica, microorganismos y el seguimiento de parámetros fisicoquímicos de las aguas tratadas.

## 2. JUSTIFICACIÓN Y PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La Pontificia Universidad Javeriana, como entidad de educación superior genera diferentes tipos de aguas servidas dentro de las que se encuentran las de tipo doméstico y las resultantes a partir de las actividades de investigación y docencia. Específicamente, el agua residual de los laboratorios de Microbiología de la Facultad de Ciencias proviene del uso de diferentes agentes químicos provistos a los estudiantes para diferentes análisis como coloraciones histológicas, hematológicas, parasitológicas, fúngicas y bacterianas. Del uso continuo de estas soluciones se generan subproductos resultando en mezclas complejas y peligrosas. En una caracterización inicial se estableció que estas aguas tienen valores de 3352 mg/L para DQO, 1693 mg/L para DBO<sub>5</sub> y 1891 UC. Estos valores no cumplen con el Decreto 3930 de 2010 del MAVDT ni con la Resolución No. 3957 del 2009 de la SDA. Adicionalmente, se han encontrado microorganismos presentes en el agua residual que provienen del arrastre de las diferentes tinciones. Se han identificado patógenos como *E. coli* y no se descarta la presencia de microorganismos que puedan afectar la salud de los estudiantes, docentes y auxiliares de laboratorio.

Años atrás, sin el tratamiento adecuado, estos residuos se vertían a los sistemas receptores probablemente sin realizar un tratamiento previo. Por tal razón, a partir del 2011 el agua residual generada a partir de las coloraciones de los laboratorios 233, 224 y 214 de los Edificios Ángel Valtierra S.J. (Ed. 51) y Félix Restrepo S.J.(Ed. 50) se recolecta y se manejada como residuo químico. El agua residual se mantiene en contenedores plásticos en cada laboratorio hasta que es recolectada, transportada y dispuesta por la empresa contratada lo que dificulta el posible reúso del residual e incrementa los costos de manejo.

Por lo anterior, se hace pertinente el estudio del tratamiento del agua residual de docencia mediante dos procesos de oxidación avanzada de forma tal que se disminuya la carga contaminante que pueda llegar a ríos y cuerpos de agua receptores a través de los sistemas de alcantarillado. De este modo, reducir los efectos contaminantes al medio ambiente, el riesgo a la salud humana, y lograr una gestión sostenible del recurso hídrico. Por otro lado, con esta investigación se deja abierta la posibilidad de que sí el agua tratada cumple con ciertas características pueda ser reutilizada en nuevas tinciones dentro de los mismos laboratorios de docencia.

### 3. MARCO TEÓRICO Y REFERENTES CONCEPTUALES

#### 3.1 AGUA RESIDUAL DE LOS LABORATORIOS DE MICROBIOLOGÍA

El agua residual de los laboratorios de Microbiología de la Facultad de Ciencias deriva del uso de diferentes compuestos químicos principalmente colorantes, solventes y mordientes, utilizados en diferentes técnicas de rutina como las coloraciones microbiológicas.

De acuerdo con el manual de coloraciones suministrado por el Departamento de Microbiología, los principales contaminantes se enlistan en la tabla 1.

**Tabla 1. Compuestos utilizados en coloraciones**

Colorante	Familia Química	C. I. <sup>a</sup>	Solventes y mordientes
Tinta china comercial o nigrosina	Azo	50420	Agua
Negro de sudán B	Azo	26150	Cetona
Sudán III	Azo	26100	Alcohol etílico
Rojo Congo	Azo	22120	Fenol
Verde malaquita	Triarilmetánico	42000	Suero de caballo
Fucsina sódica	Triarilmetánico	42685	Desoxicolato de sodio
Fucsina básica	Triarilmetánico	-	Oxalato de amonio
Cristal violeta	Triarilmetánico	42555	Ácido sulfúrico
Azul de cresil brillante	Oxazina	51010	
Safranina O	Safranina	50240	Yoduro de bisulblimato
Eosina Y	Fluorona	45380	Yoduro de potasio
Azul de metileno	Tiazina	42780	

<sup>a</sup>C.I.: Color Index Number (11).

Cabe resaltar que el volumen de agua residual producida por año es de aproximadamente 620L según datos del Departamento de Microbiología.

##### 3.1.1 COLORANTES

Son sustancias químicas de origen orgánico que imparten color a una sustancia incolora o bien a un sustrato por medio de una absorción selectiva de luz (18). Molecularmente, los colorantes están constituidos por grupos funcionales conocidos como cromóforos, auxocromos y grupos solubilizadores.

Los cromóforos son los responsables de la absorción de luz dándole color a la molécula, los cromóforos más importantes son los azo (-N=N-), carbonilo (-C=O), vinilo (-C=C-), metino (-CH=), nitro (-O=N-O-), entre otros. Al igual que los cromóforos, los auxocromos son grupos funcionales que no presentan electrones en resonancia y no absorben radiación mayor a 200 nm, pero en unión con un cromóforo aumentan el rango de absorción intensificando el color producido. Estos grupos aumentan la capacidad de retención del color mediante la abstracción o donación de electrones; los más comunes contienen los grupos amino (-NH<sub>2</sub>), carboxilo (-COOH), sulfonato (-SO<sub>3</sub>H) e hidroxilo (-OH) (18-19). Finalmente, para que el colorante pueda penetrar y unirse a la matriz debe contener grupos ionizables conocidos como solubilizadores, estos se unen al cromóforo y confieren solubilidad (20).

De acuerdo al grupo cromóforo, los colorantes se clasifican en azo, triarilmetano, ftalocianinicos, antraquinoides, nitro, índigo, entre otros (19). A continuación, se describe el grupo de los colorantes trifenilmetánicos, mencionados en la tabla 1, entre los cuales se encuentran el cristal violeta y la fucsina que hacen parte de la tinción de Gram universalmente utilizada en la identificación de microorganismos en los laboratorios de docencia.

### **3.1.1.1 COLORANTES TRIFENILMETÁNICOS**

Representan una de las clases de tintes sintéticos más antiguos, se caracterizan por emitir colores brillantes, son relativamente de bajo costo y pueden ser aplicados a una gran cantidad de sustratos. Los tintes trifenilmetánicos presentan un carbono central el cual está unido a tres anillos aromáticos, y estos a su vez a grupos -NH<sub>2</sub>, -NR<sub>2</sub> (tabla 2) (21). Se utilizan en la medicina y en la biología por su poder colorante con actividad antimicrobiana (21-22). Se subdividen en diferentes clases de colorantes de acuerdo con la sustitución de sus anillos aromáticos: derivados di-amino (ej: verde malaquita), triamino (ej: fucsina, rosalina o magenta), aminohidroxi, hidroxi y monoamino (21).

Los colorantes trifenilmetánicos son un amplio grupo de tintes de gran impacto mundial por su color y toxicidad comprobada en animales y humanos. Se ha encontrado que estos colorantes son mutagénicos, clastogénicos, carcinogénicos, teratógenos y cancerígenos (22-25).

**Tabla 2. Estructura química de algunos colorantes trifenilmetánicos.**

Colorante	Fórmula química	Estructura
Verde malaquita	$C_{23}H_{25}N_2Cl$	
Cristal violeta	$C_{24}H_{28}N_3Cl$	
Verde brillante	$C_{27}H_{34}N_2O_4S$	
Fucsina ácida	$C_{20}H_{17}N_3Na_2O_9S_3$	

Fuente: (Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology, 2004)

### 3.1.2 MICROORGANISMOS

Durante el proceso de tintura se pueden liberar microorganismos que no se fijaron a la lamina porta-objeto y pasar a hacer parte de la flora microbiana del agua residual. La composición de esta agua es compleja y se esperaría que la supervivencia de microorganismos fuera baja, sin embargo se han observado poblaciones de bacterias Gram positivas y Gram negativas, que podrían estar relacionadas con microorganismos indicadores de contaminación, saprofitos o patógenos para humanos y animales.

### 3.2 MARCO LEGAL

La Pontificia Universidad Javeriana como entidad educativa y prestadora de servicios genera diferentes tipos de residuos, dentro de los que se encuentran los residuos de tipo químico. Por tal razón, en conforme con la Resolución 1164 de 2002 del Ministerio del Medio Ambiente, se adoptó el Manual de Procedimientos para la Gestión Integral de los residuos hospitalarios y similares por parte de la Facultad de Ciencias para el manejo del agua residual

de docencia. Adicionalmente, la universidad cuenta con el Comité de Residuos Peligrosos en el que intervienen docentes, investigadores y personal de planta, bajo la dirección de la Vicerrectoría del Medio Universitario.

A continuación se describen algunos apartados de la legislación Colombiana que aplican al sector ambiental y al manejo de vertimientos de aguas residuales en la capital de la República.

El Decreto 3930 de 2010 del MAVDT *“Por la cual se establecen las normas y los valores límite máximos permisibles de parámetros en vertimientos puntuales a sistemas de alcantarillado público y a cuerpos de aguas continentales superficiales de generadores que desarrollen actividades industriales, comerciales o de servicio y se dictan otras disposiciones”*. Algunas de las consideraciones del decreto son:

1. Establece los parámetros a monitorear en los vertimientos puntuales según la actividad industrial, comercial o de servicio que desarrolla. De acuerdo a los diferentes sectores de la económica, la actividad industrial, comercial o de servicios se dividen en clases y adjudica los parámetros físico-químicos a monitorear (Capítulo II).
2. Fija los límites máximos permisibles de parámetros en vertimientos de aguas residuales no domésticas a alcantarillados públicos y los objeto a tasa retributiva (Tabla 3), (Cap III).
3. Prohíbe los vertimientos sin tratar provenientes de diferentes industrias, que alteren las características existentes de un cuerpo de agua, o que ocasionen altos riesgos de salud o para los recursos hidrológicos (Artículo 26).
4. Fija los objetivos de los planes de reconversión a las tecnologías limpias en la gestión de los vertimientos. Los cuales incluyen: reducir la carga contaminante por unidad de producción antes de ser mezclada con aguas residuales domésticas, reutilizar o reciclar subproductos o materias primas relacionados con la generación de vertimientos (Art 20).

**Tabla 3. Valores máximos permisibles de parámetros fisicoquímicos en vertimientos puntuales a alcantarillados públicos en Colombia.**

**Dec. 3930 del 2010 del MAVDT.**

Parámetro	Unidades	Valor
Color	ADMI <sup>a</sup>	350
DBO <sub>5</sub>	mg/L	50
DQO	mg/L	600
Grasas y Aceites	mg/L	20
pH	unidades	5.0-9.0
Sólidos Sedimentables SSED	mL/L	2
Temperatura	°C	30
Sustancias activas al azul de metileno (SAAM)	mg/L	5
Fenoles	mg/L	0,2
Formaldehido (CH <sub>2</sub> O)	mg/L	10
Sólidos suspendidos totales (SST)	mg/L	50

<sup>a</sup>Tomado de: Instituto Americano de Fabricantes de Tinturas por sus siglas en Inglés.

La Resolución 3957 del 2009 de la SDA hace referencia a los parámetros que deben cumplir todos los vertimientos realizados al alcantarillado público en el distrito capital por las personas naturales o jurídicas. Las resoluciones responden a los artículos 82, 113, 120 del Decreto 1594 de 1984. En el capítulo V de la Resolución se describen los vertimientos permitidos que deberán cumplir con los parámetros descritos en la Tabla 4. Los valores no encontrados en la tabla deberán tomarse de conformidad con los establecidos en el Decreto 1594 de 1984. Otras consideraciones importantes que se deben tener en cuenta de la Resolución son las definiciones de vertimientos no permitidos (Cap. VI), tratamiento previo de los vertimientos (Cap. VIII) y la caracterización y obtención de muestras (Cap. IX).

**Tabla 4. Valores de referencia para los vertimientos realizados a la red de alcantarillado en el distrito capital.**

**Res. 3957 del 2004 de la SDA**

Parámetro	Unidades	Valor
Color	Unidades Pt-Co	50 unidades en dilución 1/20
DBO <sub>5</sub>	mg/L	800
DQO	mg/L	1500
Grasas y Aceites	mg/L	100
pH	unidades	5.0-9.0
Sólidos Sedimentables	mL/L	2
Sólidos Suspendidos Totales	mg/L	600
Temperatura	°C	30
Tensoactivos (SAAM)	mg/L	10

### **3.3 PROCESOS DE OXIDACIÓN AVANZADA**

Los procesos de oxidación avanzada (POA) son métodos aplicados en los últimos años para el tratamiento de aguas residuales con el fin de eliminar contaminantes (28). Estos procesos fisicoquímicos y catalíticos permiten atacar compuestos con una alta estabilidad química mediante el uso de sistemas generadores de radicales oxidante capaz de mineralizar cualquier compuesto orgánico hasta dióxido de carbono, agua y otros compuestos inorgánicos inofensivos como iones, cloruros y nitratos (14-27). La oxidación ocurre por la producción de radicales oxidantes como el hidroxilo  $\text{OH}\cdot$  y el anión superóxido  $\text{O}_2^{\cdot-}$ , principalmente. Los radicales hidroxilos tienen una baja selectividad, son altamente reactivos, y actúan con una alta velocidad de reacción, por lo cual les atribuye versatilidad para tratar compuestos recalcitrantes (27-29).

Los radicales hidroxilo oxidan la materia orgánica mediante la abstracción de hidrógeno como en los alcanos y alcoholes, o por adición electrofílica del radical a dobles enlaces como en alquenos y compuestos aromáticos, generando en ambos casos radicales orgánicos libres (R), Los cuales reaccionan con oxígeno molecular y forman peroxiradicales e inician reacciones de oxidación en serie (29).

Los POA se subdividen en homogéneos y heterogéneos dependiendo de la fase en la que reaccionan las especies, dentro de los cuales algunos tienen aporte externo de energía como la fotocatalisis heterogénea ( $\text{H}_2\text{O}_2/\text{TiO}_2/\text{UV}$ ) o en caso contrario como el Fenton heterogéneo (30-31).

#### **3.3.1 FOTOCATÁLISIS HETEROGÉNEA**

##### **3.3.1.1 MATERIALES SEMICONDUCTORES**

Las propiedades ópticas y electrónicas de los materiales están ligadas al efecto de la red sobre los niveles energéticos de los electrones, lo cual se explica mediante la teoría electrónica de bandas. Los niveles de energía en la red del cristal corresponden a los niveles de energía de los átomos que la componen. Entre mayor sea el nivel de energía mayor la

distancia a la que las bandas comienzan a formarse, cuando esta distancia disminuye, las bandas empiezan a sobrelaparse (37-38).

De acuerdo con el principio de exclusión de Pauli, las bandas de más baja energía tienen los vacantes atómicos completos, la banda inmediatamente siguiente, si esta tiene su cuota de átomos completa, se conoce como la banda de valencia (BV) cuyo valor de energía se designa como  $E_v$ , si por el contrario no está completamente llena se conoce como la banda de conducción (BC) siendo  $E_c$  el menor valor de energía. Las bandas permitidas son los intervalos de energía que el electrón puede adquirir, mientras que los intervalos de energía que el electrón no puede adquirir se conocen como bandas prohibidas. La diferencia de energía  $E_g = E_c - E_v$  se conoce como brecha de energía prohibida o *gap* de energía por su notación en inglés (38).

En el caso de los materiales semiconductores el valor de  $E_g$  está entre 1 y 3,5 eV. Los semiconductores de *gap* directo corresponden a aquellos cuando  $E_c$  y  $E_v$  están en un mismo vector de onda, a diferencia de los de *gap* indirecto cuando estas energías se encuentran en un mismo valor de vector de onda. De acuerdo a la función de probabilidades de Fermi-Dirac por cada electrón que existe en la BC hay una vacante o hueco en la BV próxima denotado como  $h^+$ .

Existen múltiples semiconductores reportados en la literatura como  $Al_2O_3$ , ZnO,  $Fe_2O_3$  y  $TiO_2$  para el tratamiento de aguas residuales (39-40). Los semiconductores de interés en fotocatalisis cumplen con las siguientes condiciones: 1. Inercia química y resistencia a la fotocorrosión, reactivos e insolubilidad en agua, 2. Potencial redox en las bandas BC y BV, que permita oxidar y reducir componentes y  $H_2O$ , 3. Ancho de banda suficiente que permita ser activado en el espectro visible o UV, y 4. Baja toxicidad y costo (41).

#### **3.3.1.1.1 DIOXIDO DE TITANIO $TiO_2$**

Históricamente este material ha sido utilizado por sus propiedades como agente blanqueador en productos farmacéuticos, pinturas de paredes, alimentos, trasplantes de huesos, entre otros. Su versatilidad recae en la baja toxicidad, resistencia al agua, ácidos y bases. Como fotocatalizador el  $TiO_2$  posee propiedades eléctricas, catalíticas y electroquímicas importantes como excelente transmisión óptica, altos índices de refracción y estabilidad química, que resaltan su interés en el tratamiento y desinfección de aguas servidas (37).

Son muchas las investigaciones enfocadas a la evaluación del dióxido de titanio en el tratamiento y desinfección de aguas residuales. Por ejemplo en la inactivación de coliformes fecales y patógenos como *E. coli* entre otros microorganismos, en el tratamiento de aguas residuales provenientes de industrias que utilizan los colorantes dentro de sus procesos productivos como la industria papelera y en la degradación directa de colorantes entre muchas otras aplicaciones (7, 30, 37, 42 y 43).

Como cristal el  $\text{TiO}_2$  existe en 3 formas estables: brookita, anatasa y rutilo. La fase anatasa presenta mejor actividad catalítica por absorber a mayor longitud de onda y presentar mayor diferencia en la banda gap (3.2 e.V) que el rutilo (37). El dióxido de titanio puede ser activado mediante radiación ultravioleta hasta 380 nm por lo que presenta mejor actividad en cuanto menor sea la longitud de onda irradiada.

### **3.3.1.2 ELABORACIÓN DE PELÍCULAS DE $\text{TiO}_2$ POR SEDIMENTACIÓN**

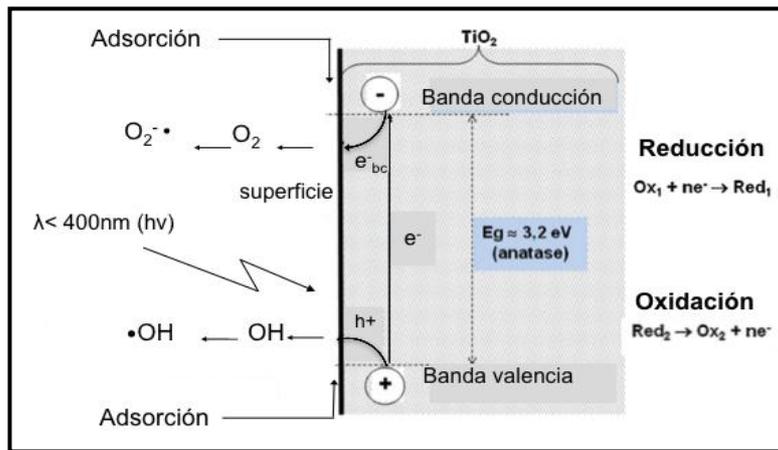
El  $\text{TiO}_2$  se inmoviliza mediante la deposición de este sobre un sustrato formando una película delgada del rango de los nanómetros. Estas son económicas en cuanto a la cantidad de deposición del semiconductor, hacen uso de un espacio pequeño y son de fácil manejo. Sus características físicas permiten que ocurra una serie de fenómenos en la superficie como emisión de partículas, transporte de materia así como transmisión (37).

Existen diferentes técnicas en la elaboración de películas, la trabajada en esta investigación se basa en la sedimentación del material sobre un sustrato. El método utilizado para la deposición del  $\text{TiO}_2$  en el sustrato debe evitar la abrasión del material conductor provocada por el agua en circulación, garantizar que produzca una mínima disminución del catalizador y que se mantenga la estructura cristalina. La estabilidad de la película debe ser la adecuada para mantener su actividad en el tratamiento de grandes volúmenes de agua y evitar el envenenamiento del catalizador (44). Finalmente, debe garantizar un nivel bajo de impurezas como materia orgánica, un tamaño y área superficial de la partícula adecuada (37-46).

### **3.3.1.3 FOTOCATÁLISIS HETEROGÉNEA UV/ $\text{TiO}_2$**

En general, la fotocatalisis puede definirse como la aceleración de una fotorreacción mediante un catalizador. La fotocatalisis heterogénea se basa en la transferencia de carga a través de

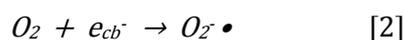
la interfaz formada entre un semiconductor iluminado y una solución acuosa. La radiación electromagnética, en general en la zona del ultravioleta, provoca la excitación de electrones en la banda de valencia del sólido, lo que origina la formación del par electrón/hueco con un potencial redox elevado, donde se produce la oxidación de contaminantes orgánicos y la generación de diversas especies con alto poder oxidante y reductor. Estos últimos a su vez reaccionan con los compuestos orgánicos e inorgánicos. En ausencia de un campo eléctrico el par electrón/hueco se recombina liberando el exceso de energía en forma de calor y en algunos casos, con emisión de fotones (39-44).

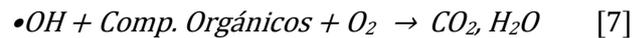
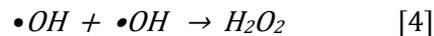


**Figura 1.** Diagrama de bandas de energía del  $\text{TiO}_2$ .

Tomado y modificado de Herrman; 2010.

El mecanismo fotocatalítico comienza cuando el fotón de alta energía  $h\nu$ , iguala o excede la energía de banda  $gap$   $E_g$  del semiconductor. Los electrones conducidos  $e^-_{bc}$ , son promovidos de la banda de valencia (BV) a la banda de conducción (BC) dejando un hueco  $h^+_{bv}$ . El par electrón-hueco puede reaccionar con especies aceptoras como  $\text{O}_2$  (electrones) o donadoras de electrones (huecos) (39-47). El hueco es un oxidante fuerte que reacciona directamente con los contaminantes o con el agua para producir el radical  $\text{OH}^\bullet$ , mientras que el oxígeno molecular ( $\text{O}_2$ ) forma el anión superóxido  $\text{O}_2^{\bullet -}$  luego de capturar el electrón, también se puede dar la formación de peróxido de hidrógeno  $\text{H}_2\text{O}_2$  por fotólisis directa del agua o por la reacción entre el anión superóxido y el radical hidroxilo, estas reacciones permiten acelerar el proceso fotocatalítico (Figura 1). A continuación se representa la formación de radicales oxidantes en el proceso fotocatalítico con  $\text{TiO}_2$  con las siguientes reacciones químicas (39):





La fotocatalisis heterogénea con dióxido de titanio se ha utilizado ampliamente en el tratamiento de aguas residuales de diferentes industrias, debido a sus ventajas como la completa mineralización eliminando la necesidad de remover sólidos de desecho generados durante el proceso, permite combinarse con otros tratamientos de oxidación como Fenton, es relativamente de bajo costo y se considera parte de las tecnologías limpias (31).

#### 3.3.1.4 FACTORES QUE AFECTAN AL PROCESO FOTOCATALÍTICO

La remoción de contaminantes por fotocatalisis heterogénea se encuentra condicionada por factores que afectan la eficiencia del proceso como oxígeno, temperatura, tiempo de reacción, área del cristal, energía de irradiación, pH, concentración inicial y tipo de contaminante (37). Las características determinantes en el proceso catalítico del semiconductor son el tamaño del cristal y el área superficial del TiO<sub>2</sub>. Entre menor tamaño de partícula mayor área superficial y por lo tanto mayor área de contacto de las especies oxidantes con los contaminantes a degradar.

Una adecuada concentración de oxígeno presente en el agua residual es esencial para que se produzca una oxidación efectiva. Ya que el oxígeno actúa como aceptor de electrones generando el radical superóxido que a su vez favorece la producción de radicales hidroxilo (41).

Es fundamental que la energía de irradiación supere la banda *gap* para que se de la formación del par electrón-hueco. En el caso del dióxido de titanio, esta debe ser superior a 3,0 o 3,2 e.V según la fase cristalográfica del material (48).

De igual forma, el pH influye en la reacción de fotooxidación de compuestos orgánicos, ya que no sólo condiciona el estado de la superficie, sino la adsorción de los contaminantes. Los mejores resultados se obtienen para pH ligeramente ácidos. El pH puede afectar la carga

superficial y las posiciones de los máximos y mínimos en las bandas del  $\text{TiO}_2$  por su carácter anfotérico (45). Se recomienda trabajar con pH diferente al punto isoeléctrico (6,5) del  $\text{TiO}_2$ . Un pH debajo de este cargará a la superficie positivamente predominando la formación de  $\bullet\text{OH}$  como especie dominante con mayor poder oxidativo (49). Por otro lado, si el pH del tratamiento se mantiene en la alcalinidad puede generar repulsión con especies cargadas negativamente como la superficie de microorganismos (37, 45).

Por último las características fisicoquímicas del agua como los sólidos totales, sedimentables, disueltos y suspendidos, así como la materia orgánica e inorgánica pueden interferir en la inactivación de microorganismos al competir por las especies oxidantes. Finalmente, la concentración inicial del contaminante y la población inicial de microorganismos determinarán el tiempo de reacción y de irradiación de luz sobre el catalizador (46).

### **3.3.2 EL PROCESO FENTON**

La reacción Fenton ha sido uno de los métodos más estudiados para la oxidación de contaminantes orgánicos los cuales pueden ser degradados por radicales hidroxilo generados a partir del peróxido de hidrogeno en presencia de  $\text{Fe}^{2+}$  como catalizador. Este proceso ha sido aplicado exitosamente para el tratamiento de aguas servidas con alta carga de materia orgánica y en el tratamiento de efluentes de industrias papeleras y de textiles en la remoción de DQO y color, entre otros parámetros (53-54). Este proceso puede conducirse de forma homogénea o heterogénea a través de varias combinaciones.

La degradación de la materia orgánica mediante el proceso Fenton se puede dar de diferentes formas: por medio de cambios estructurales en los compuestos, una oxidación parcial, o una oxidación total del mismo, lo cual facilita tratamientos biológicos posteriores y una reducción significativa de la toxicidad del efluente (55).

Las tecnologías que involucran el proceso Fenton son prometedoras debido a que emplean reactivos seguros, fáciles de manejar, son relativamente económicas, y no suponen una amenaza al medio ambiente puesto que el peróxido se descompone en agua y oxígeno y el hierro no tiene ningún efecto adverso además no necesita de presiones o temperaturas elevadas (54-56). Este proceso ha resultado efectivo para la degradación de compuestos alifáticos y aromáticos clorados, PCBs, nitroaromáticos, colorantes, clorobenceno y fenoles (10). Sin embargo, compuestos como el ácido acético y la acetona son más resistentes a la

degradación, lo que requiere de modificaciones en la temperatura, pH o concentración de catalizador (56).

### **3.3.2.1 FENTON HETEROGÉNEO H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>Fe/CARBÓN ACTIVADO**

En el Fenton homogéneo se presentan algunas desventajas como la generación de lodos de hidróxido de hierro lo cual dificulta el post-tratamientos del efluente, el pH debe ser controlado en un rango estrecho (pH 3-6) para evitar la transición del hierro a especies férricas coloidales que no promueven la formación de radicales (10-16).

Frente a esto, en los últimos años se ha dirigido la mirada al Fenton heterogéneo en el que se utilizan catalizadores constituidos por un sólido poroso sobre el que se introduce o deposita la fase activa que promueve la descomposición del H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en radicales hidroxilo, responsables de oxidar la materia orgánica (16-81). En este proceso los sitios activos corresponden la superficie de los iones que contienen hierro como: [Fe(OH)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, [Fe(H<sub>2</sub>O)]<sup>2+</sup>, [Fe(H<sub>2</sub>O)<sub>6</sub>]<sup>3+</sup>, [Fe<sub>2</sub>(OH)<sub>2</sub>]<sup>4+</sup>, Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, α-FeOOH entre otros (53). En el Fenton heterogéneo se han evaluado el uso de catalizadores soportados en diferentes materiales como arcillas, zeolitas, carbón activado, óxido de aluminio, cenizas volantes, etc, para la degradación de colorantes, compuestos de base fenólica, agua textil, y degradación de otros compuestos como los alcoholes (15-17).

El uso de carbones activados como soportes del catalizador de hierro, ha recibido gran acogida por su desempeño a causa de su porosidad, gran área superficial, capacidad de adsorción y porque son fácilmente obtenidos de diferentes materiales de desecho como los residuos agroindustriales (53). Estos soportes no solo son reconocidos por sus características sino por su aplicabilidad en la remoción de contaminantes en aguas industriales (53).

### **3.3.2.2 FACTORES QUE AFECTAN EL PROCESO**

Existen varios factores que afectan la velocidad de la reacción dentro de los cuales se encuentra la concentración inicial de catalizador, concentración de peróxido, el tipo y concentración del contaminante orgánico y el pH.

El pH no solo afecta la degradación de los contaminantes sino la estabilidad del catalizador. A pH alcalino la estabilidad del peróxido cambia y se descompone rápidamente en moléculas

de oxígeno sin la formación de radicales hidroxilo. De igual forma, algunos autores reportan una mayor pérdida de hierro del soporte a pH ácido ( $\text{pH} \approx 2$ ) (16).

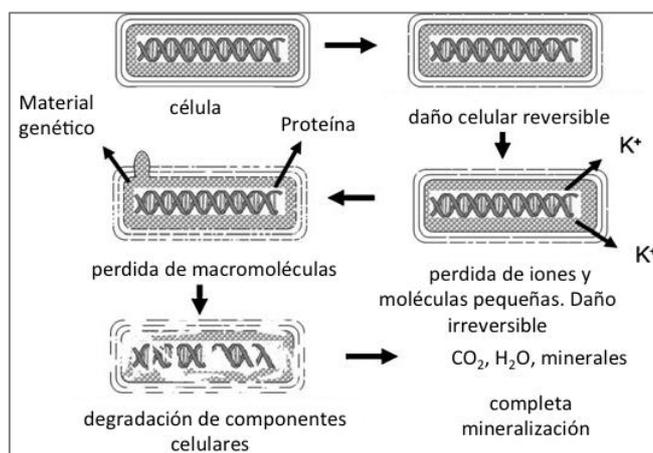
La concentración del catalizador es otro parámetro que determina la eficiencia en la degradación y en la remoción de COT y DQO (16). A mayor concentración de catalizador, mayores son los sitios activos para la descomposición del peróxido y adsorción de componentes orgánicos. Sin embargo, a concentraciones altas se puede presentar exceso de iones ferrosos que reaccionan paralelamente con los radicales hidroxilo o la inactivación de los radicales por otras especies férricas presentes (16-15).

El catalizador debe presentar una actividad elevada que se mantenga a lo largo del tratamiento o tiempo de uso, durante el cual el catalizador debe presentar una estabilidad física, química y mecánica en las condiciones de operación (81).

Por otro lado el peróxido de hidrógeno favorece la producción de radicales hidroxilo a medida que la concentración de este aumenta en el sistema, sin embargo un exceso de peróxido puede producir disminución en la mineralización de los contaminantes. Ya que el peróxido puede convertir el radical hidroxilo a agua y el radical hidroxiperoxilo  $\text{HO}_2^\bullet$ , de menor poder oxidante que el hidroxilo por lo que disminuye la eficiencia del sistema en la degradación de compuestos (16, 82).

### **3.3.3 EFECTO DE LOS RADICALES OXIDANTES (ROS) SOBRE LOS MICROORGANISMOS**

Los ROS atacan los diferentes componentes celulares. En un principio los daños se originan a nivel de pared y membrana, ocasionando la pérdida de fluidez, estructura, permeabilidad, y cambios en el gradiente iónico transmembranales así como la alteración de funciones celulares (39). El daño en la membrana plasmática se mide por la pérdida de iones potasio, proteínas y RNA o concentraciones extracelulares de iones calcio (60). Adicionalmente, los ROS atacan, proteínas, lípidos y otros componentes con efectos citotóxicos y mutagénicos (59). Como lo muestra en la figura 2, la degradación de los componentes celulares culmina de forma irreversible en la mineralización celular a  $\text{CO}_2$  y  $\text{H}_2\text{O}$ .

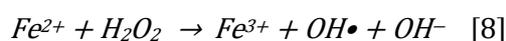


**Figura 2.** Esquema de mineralización celular a causa de la acción de radicales oxidantes.

Tomado y modificado de Foster; et al 2011.

El uso de lámparas de alta energía UV-C induce efectos biológicos que incluyen la reducción de crecimiento y sobrevivencia, destrucción de proteínas, daños en DNA, y aductos en la membrana plasmática (59). El daño al material genético es uno de los puntos claves en las lesiones inducidas por UV, cuya eficiencia dependerá del uso de la lámpara y región del espectro a la que esta emita (62). La luz UV ( $h\nu$ ) afecta el material genético al promover la formación de enlaces covalentes entre pirimidinas favoreciendo la formación de dímeros de timina adyacentes, lo cual altera la información genética al generar saltos en la replicación del ADN que derivan en mutaciones o deleciones (4,5). Así mismo, el ADN es susceptible de modificación por radicales hidroxilo  $OH\bullet$  los cuales puede afectar a cualquiera de sus bases nucleotídicas, pero se produce frecuentemente en la guanina, dando lugar a la base modificada 8-oxo-2.-deoxiguanina (8-oxo-dG), cuyo potencial mutagénico es conocido. Su presencia en las estructuras de ADN induce a errores en la incorporación de bases nucleotídicas durante su replicación por la enzima ADN-polimerasa (5).

Adicionalmente, si en la célula existen iones de hierro disponibles se pueden generar reacciones Fenton y foto-Fenton *in vivo* descritas en las ecuaciones 8 y 9 (39-67). Potencialmente, se establecería un ciclo de producción de radicales oxidantes intracelulares a la par con lo producidos por la reacción Fenton intracelular, la generación de estos estaría ligada a la proximidad del DNA, proteínas y lípidos que contengan hierro (59).



## 4. OBJETIVOS

### 4.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar la fotocatalisis heterogénea UV/TiO<sub>2</sub> y el Fenton heterogéneo H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>Fe/Carbón activado, para el tratamiento del agua residual generada por las prácticas de Microbiología en la Facultad de Ciencias a escala de laboratorio.

### 4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar física, química y microbiológicamente el agua residual proveniente de las prácticas de Microbiología de los laboratorio 233, 214 y 224 de los Edificios Ángel Valtierra S.J. (Ed. 51) y Felix Restrepo S.J.(Ed. 50).
- Evaluar un sistema de fotocatalisis heterogéneo UV empleando TiO<sub>2</sub>, para la inactivación de microorganismos y remoción de materia orgánica en términos DQO, COT y unidades de color.
- Evaluar un sistema Fenton heterogéneo H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>Fe/Carbón activado empleando un catalizador de hierro soportado en carbón activado, para la inactivación de microorganismos y remoción de materia orgánica en términos de DQO, COT y unidades de color.

## 5. METODOLOGÍA

### 5.1 RECOLECCIÓN Y TOMA DE LA MUESTRA

Se evaluaron 12 lotes de agua residual provenientes de los laboratorios 233, 224 y 214 de docencia de los Edificios Ángel Valtierra S.J. (Ed. 51) y Felix Restrepo S.J.(Ed. 50), del Departamento de Microbiología de la Pontificia Universidad Javeriana Bogotá, Colombia. Cada uno contenía aproximadamente 20L (figura 3). Para la obtención de la muestra se realizó una mezcla homogénea de 1000 mL de cada lote y se almacenó en un recipiente plástico a 4°C, en el laboratorio de Microbiología Ambiental y de Suelos de la Pontificia Universidad Javeriana.



Figura 3. Contenedor (Izquierda) y recolector (derecha) de agua residual.

### 5.2 DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS

- 5.2.1 pH:** Para la determinación del pH se tomaron 250 mL de la muestra y se depositaron en un recipiente de vidrio. La lectura del pH se realizó con un potenciómetro Schott® calibrado.
- 5.2.2 Oxígeno disuelto (OD):** la determinación de este parámetro en mg/L se realizó electroquímicamente mediante el uso de un oxímetro M.R.C® previamente calibrado, en una muestra de 250 mL.
- 5.2.3 Conductividad eléctrica (CE):** se utilizó un conductímetro M.R.C® el cual se calibró con una solución patrón de 0.01M KCl, se tomaron 250mL de muestra y la lectura se realizó a  $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.1\text{ }^{\circ}\text{C}$ , con un error menor al 1%.

**5.2.4 Unidades de color (UC):** Se calcularon las unidades de color (UC) por espectrofotometría a 545 nm. El valor obtenido promedio fue reemplazado en la siguiente ecuación 10, propuesta por Pedroza y colaboradores, 2005 (5).

$$UC = \frac{Abs \times 500}{0,132} \quad [10]$$

**5.2.5 Sólidos disueltos (SDT) y suspendidos totales (SST):** la determinación de estos parámetros se basó en los protocolos SM 2.540 C y SM 2.540 D de la *American Public Health Association* (APHA 2005). El valor de SSt en mg/L se obtuvo de la siguiente ecuación (57):

$$\frac{mgSst}{L} = \frac{(peso\ del\ filtro + solido\ secos\ mg) - (peso\ filtro) \times 1000}{volumen\ muestra\ mL} \quad [11]$$

Los SDT corresponden al volumen filtrado de los SST secados, el valor se obtiene de la resta del peso de recipiente seco del recipiente vacío dividido el volumen secado.

**5.2.6 Demanda química de oxígeno (DQO):** Para el valor de la demanda química de oxígeno (DQO) en mg/L, se realizó mediante el método de reflujo cerrado recomendado por la SM 5222 D (APHA 2005). En un equipo HACH®,

**5.2.7 Demanda Biológica de Oxígeno (DBO<sub>5</sub>):** El valor de la demanda biológica de oxígeno (DBO<sub>5</sub>) en mg/L se obtuvo por el método de incubación de 5 días y detección por electrodo de membrana, SM 5210 B (APHA 2005).

**5.2.8 Carbono Orgánico total (COT):** El valor en mg/L fue obtenidos mediante la técnica SM 5310 C (APHA 2005) de oxidación de persulfato.

### 5.3 CARACTERIZACIÓN MICROBIOLÓGICA

Con el fin de obtener un acercamiento a la población microbiana aerobia existente en el agua residual, se realizaron aislamientos en los siguientes medios de cultivo: Tripticasa de soya para el recuento de microorganismos heterótrofos, Baird-Parker para cocos Gram positivos, MacConkey para el recuento de microorganismos Gram negativos lactosa positivos: coliformes, Cetrimide para el aislamiento de *Pseudomonas* spp y medio almidón suplementado con polimixina B al 0.01% (m/v) para la recuperación de bacilos Gram

positivos. Se sembraron 20  $\mu$ L por triplicado de cada dilución y se incubaron a 34.5°C durante 24 horas. Posteriormente, se realizó el recuento para cada medio de grupo de microorganismos. Adicionalmente las colonias presuntivas de *Pseudomonas* spp. presentes en el medio Cetrimide se confirmaron al observar fluorescencia a 363 nm y mediante la prueba de la oxidasa y a las colonias en el medio almidón se les agregó lugol para la observación de colonias amilolíticas presuntivas de especies de *Bacillus* spp. Finalmente, se determinaron las características macroscópicas y microscópicas mediante la técnica de coloración de Gram de las colonias aisladas (42).

## **5.4 TRATAMIENTOS DE OXIDACIÓN AVANZADA**

La evaluación de los tratamientos de oxidación avanzada; fotocátalisis y Fenton se dividió en dos etapas. La primera etapa correspondió al tratamiento fotocatalítico con UV/TiO<sub>2</sub> y la segunda al tratamiento por el método Fenton heterogéneo del agua residual.

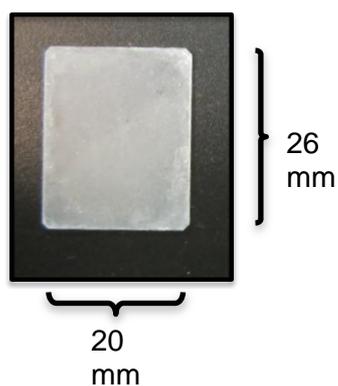
### **5.4.1 ETAPA I FOTOCATÁLISIS UV/TIO<sub>2</sub>**

#### **5.4.1.1 ELABORACIÓN DE PELÍCULAS PARA FOTOCATÁLISIS**

Las películas fueron aportadas por el Laboratorio de Microbiología Ambiental y Suelos. La obtención del dióxido de titanio se realizó por sedimentación de TiO<sub>2</sub> USP.

El sustrato consistió en láminas de cuarzo de 20 x 26 mm previamente lavadas y modificadas por un proceso de sonicación con los siguientes compuestos: agua-etanol-acetona-agua, cada uno de 15 minutos (37-42). Adicionalmente, se realizó un proceso de hidrofiliación el cual consistió en sumergir a los sustratos en una solución 3:1 de ácido sulfúrico y peróxido de hidrógeno por 20 minutos y lavado con agua desionizada (37).

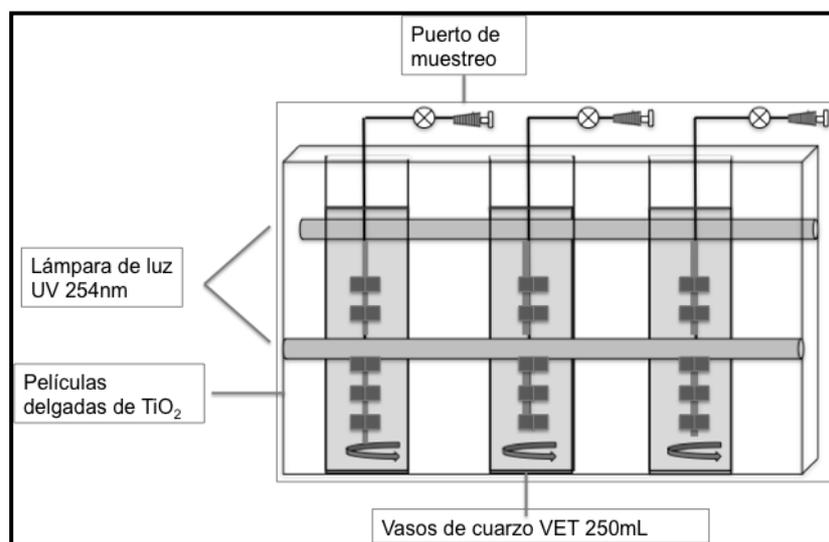
Para el crecimiento de las películas se preparó una suspensión de TiO<sub>2</sub> USP con pirofosfato de sodio 0,01M, pH 9 en microondas por 20 minutos para disminuir la formación de agregados y aglomerado de TiO<sub>2</sub>, posteriormente 5 mL de la solución se depositaron sobre el sustrato, esto se secó durante 2 días a 70°C repitiendo nuevamente el proceso, finalmente las películas fueron calcinadas a 450°C durante 1 hora. El aspecto final se observa en la figura 4.



**Figura 4.** Películas de  $\text{TiO}_2$ .

#### 5.4.1.2 CONFIGURACIÓN DEL REACTOR FOTOCATALITICO

La figura 5 presenta el esquema del reactor fotocatalítico. Este consistió en 3 vasos de cuarzo de 24,7cm de altura y 4,7 de ancho. Dos lámparas UV de mercurio de baja presión (<10 Torr, pico de máxima absorción a 254 nm) irradian horizontalmente a 2,7cm los vasos de cuarzo. Posteriormente se colocaron 12 películas de dióxido de titanio enfrentadas a lo largo del agua residual por vaso, cada una con  $1,00 \pm 0,002$  mg de  $\text{TiO}_2$  por película depositados, es decir 0,05g/L de catalizador.



**Figura 5.** Esquema del reactor fotocatalítico.

Las condiciones de operación fueron las siguientes: se utilizó un volumen efectivo de trabajo (VET) de 250mL de agua residual por vaso, el sistema se agitó a 120rpm durante 14 horas. Previamente, este se mantuvo los 30 primeros minutos en oscuridad con el fin de alcanzar el

equilibrio de adsorción y desorción posteriormente se encendieron las lámparas UV. Adicionalmente, se realizaron los controles de adsorción en oscuridad de fotocátalisis, fotolisis UV, luz visible (lámparas de tungsteno) y absoluto.

Se realizaron muestreos a los 0, 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 50 y 60 minutos para evaluar la inactivación microbiana de heterótrofos en agar Plate Count (PC), coliformes en agar VRB y bacilos Gram positivos en medio Almidón 1% suplementado con polimixina 0,01% (m/v). Para la determinación de parámetros fisicoquímicos se realizaron muestreos cada hora y se determinó el pH, UC, DQO, y cada 4 horas COT por triplicado. Para determinar la eficiencia del tratamiento se determinó el porcentaje de remoción de UC, DQO y COT mediante la ecuación 12 propuesta por Soon y Hameed, 2011 (53):

$$\%Remoción = \left(1 - \left(\frac{C_t}{C_i}\right)\right) * 100 \quad [12]$$

Donde  $C_t$  corresponde a la concentración del tiempo de muestreo en mg/L y  $C_i$  a la concentración inicial a la hora cero de muestreo en mg/L.

## **5.4.2 ETAPA II FENTON HETEROGENEO H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>Fe/CARBÓN ACTIVADO**

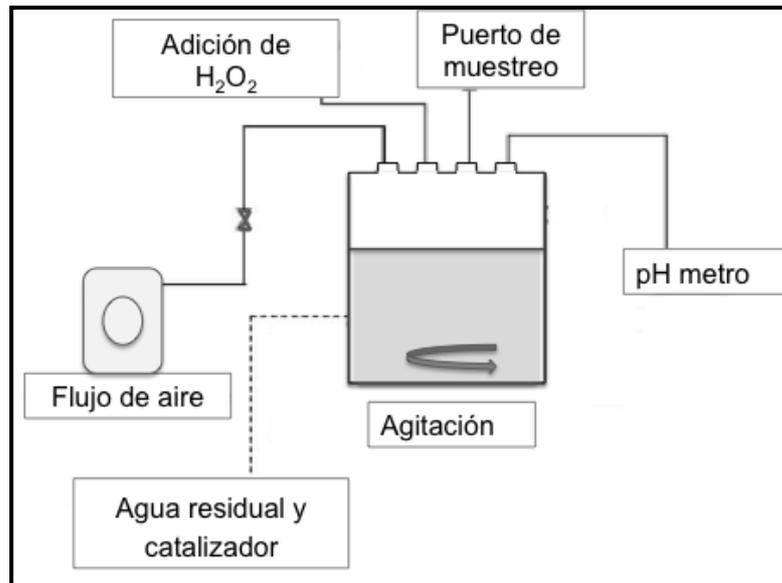
### **5.4.2.1 OBTENCIÓN DE CATALIZADOR DE Fe SOPORTADO EN CARBÓN ACTIVADO (Fe/CA)**

El carbón activado y el catalizador soportado fueron aportados por el Departamento de Química. El carbón activado fue obtenido a partir de residuos de los tallos de rosas. Se hizo uso del equipo de pirólisis del Departamento de Química de la PUJ. Los tallos fueron triturados hasta tamaño menor a 250  $\mu\text{m}$  y pirolizados a 400°C durante 1 h en atmósfera de N<sub>2</sub> (50 mL min<sup>-1</sup>). El carbonizado generado fue activado con NaOH en relación en peso 1:1.

El catalizador de Fe (1% m/m de Fe) fue sintetizado por la técnica de impregnación húmeda incipiente utilizando Fe(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>·9H<sub>2</sub>O como precursor. La calcinación del sólido fue llevada a cabo a 400°C durante 1 h en atmósfera de N<sub>2</sub>.

#### 5.4.2.2 CONFIGURACIÓN DEL REACTOR FENTON

A continuación se presenta el esquema del reactor Fenton en la figura 6. Se utilizó un vaso de vidrio pyrex con un VET de 250mL. El sistema contaba con 4 puertos para control de pH, adición de  $H_2O_2$ , flujo de aire y uno de muestreo.



**Figura 6.** Esquema del reactor Fenton.

Las condiciones de operación fueron las siguientes: se adicionó constantemente peróxido de hidrogeno  $H_2O_2$  0,1M a una velocidad de 50 $\mu$ l/min (0,57g/L), el flujo de aire se mantuvo constante de 1,8L/Lmin, la concentración de catalizador fue de 0,2g/L en un VET de 250mL, adicionalmente el sistema se agitó a 700rpm y el pH se mantuvo controlado en  $3,7 \pm 0,1$ , y el tiempo de tratamiento fue de 14 horas. Finalmente, se realizaron los controles de peróxido de hidrogeno (0,57g/L), y carbón activado (0,2g/L).

Al igual que el tratamiento fotocatalítico, se realizaron muestreos a los 0, 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 50 y 60 minutos para evaluar la inactivación microbiana de heterótrofos, coliformes y bacilos Gram positivos. Para la determinación de parámetro fisicoquímicos se realizó muestreos cada hora y se determinaron UC, DQO, y cada 4 horas COT por triplicado. Finalmente, la eficiencia del sistema se determinó a través del el porcentaje de remoción de UC, DQO y COT mediante la ecuación 12.

### 5.4.3 DETERMINACIÓN DE LA EFICIENCIA EN LA DESINFECCIÓN

Con el fin de analizar los tratamientos fotocatalítico y Fenton en la desinfección del agua residual, se evaluaron las constantes de inactivación asumiendo una cinética de pseudo-primer orden. La fracción sobreviviente fue calculada normalizando los datos obtenidos de las unidades formadoras de colonias UFC/mL, de las poblaciones de heterótrofos, coliformes y bacilos Gram positivos expuestas a cada tratamiento (60). La ecuación fue la siguiente:

$$\ln\left(\frac{Nf}{No}\right) = -kt \quad [13]$$

Donde  $Nf$  es el número de UFC finales luego de exposición a cada tratamiento por un tiempo  $t$  (min),  $No$  el número de UFC a los 0 minutos y  $k$  la constante de inactivación.

Por último, para detectar reactivación celular en el tratamiento fotocatalítico, se realizó un ensayo de reactivación secundaria microbiana en oscuridad una vez finalizadas las 14 horas. Se buscó el aislamiento de heterótrofos, coliformes y bacilos Gram positivos a las 24 y 48 horas.

### 5.4.4 ESPECTROS DE ABSORCIÓN UV-VIS

Se realizó un Barrido UV-Vis en un espectrofotómetro Thermo Scientific Evolution 60® con el fin de evidenciar cambios en las absorbancias durante los tratamientos. Las lecturas se realizaron en un espectrofotómetro UV-Vis en un rango de 200 a 800 nm.

## 5.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Con los datos obtenidos de cada tratamiento en cuanto al mejor tiempo de remoción (%) de DQO, UC e inactivación (%) de microorganismos, se comprobaron los supuestos de normalidad mediante el test de Shapiro-Wilk ( $p > 0,05$ ), luego se calculó la homogeneidad de varianzas de acuerdo al test de Levene ( $p > 0,05$ ) y posteriormente se realizó un análisis de comparación de medias (ANOVA) ( $p < 0,05$ ). Finalmente, se determinaron los mejores tratamientos mediante un análisis HSD (Diferencia Honestamente Significativa) Tukey. Los análisis estadísticos fueron llevado a cabo en el programa IBM SPSS Statistics versión 19.

## 6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 6.1 CARACTERIZACIÓN DEL AGUA RESIDUAL

#### 6.1.1 DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS

En la tabla 5 se presentan los valores de los parámetros fisicoquímicos del agua residual, para efectos de comparación también se presentan los valores máximos permitidos por la Resolución 3857 de 2009 de la SDA y el Decreto 3930 del 2010 del MAVDT.

Tabla 3. Caracterización fisicoquímica del agua residual

Parámetro	Unidades	Valor	SDA Res. 3957 del 2004	MAVDT Dec. 3930 del 2010
pH	unidades	3,22 ± 0,03	5,0 – 9,0	5,0 – 9,0
Temperatura	°C	21,52 ± 0,75	30	30
CE	ms/cm	0,805 ± 0,006	NA	NA
OD	mg/L	7,6 ± 1,97	NA	NA
UC	unidades	1890,7 ± 9,34	1000	350
DQO	ppm	3750,8 ± 214	1500	600
DBO <sub>5</sub>	mg/L	1693 ± 215	800	50
Sólidos Sedimentables (SS)	mL/L	0,3	2	2
Sólidos suspendidos totales (SST)	mg/L	0,046	600	50
Sólidos disueltos totales (SDT)	mg/L	0,062	NA	NA
COT	mg/L	623,2 ± 110	NA	NA

\*NA: No aplica.

De acuerdo con la normatividad colombiana, el agua residual producto de las actividades de docencia de tres laboratorios, no cumple con la mayoría de los parámetros fisicoquímicos de calidad para el vertimiento al sistema de alcantarillado con excepción de los sólidos sedimentables y los suspendidos totales.

Como se puede observar en la tabla 5. Los valores de UC del agua residual sobrepasan el valor máximo permitido por la SDA Res. 3957 por 891 unidades y 1541 unidades más según el MAVDT Dec. 3930. El valor de DQO supera en un 50% lo permitido por la SDA y supera en 3151 mg/L el valor máximo aceptado por el MAVDT Dec. 3930. En cuanto a la DBO<sub>5</sub> esta excedió por 893 mg/L lo solicitado por la SDA Res. 3957 y por 1643 mg/L DBO<sub>5</sub> según el MAVDT Dec. 3930. Por último, el agua residual presentó un pH ácido de 3,22 el cual debe estar entre 5,0 y 9,0 unidades.

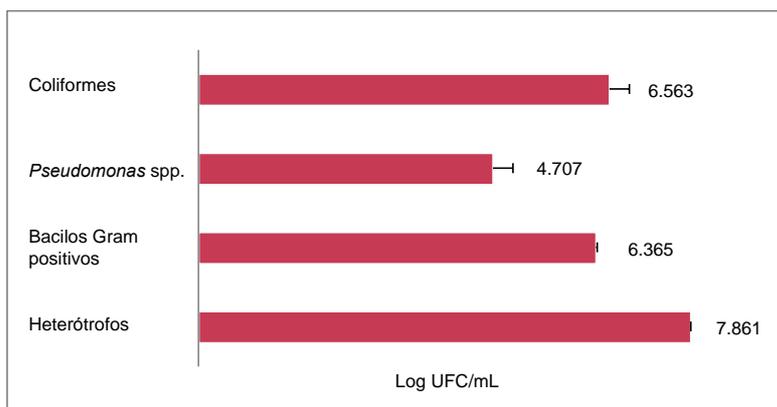
El agua que se utiliza en las diferentes tinciones microbiológicas en los laboratorios de docencia proviene del grifo del agua potable. Generalmente, los valores de conductividad del agua para consumo humano se encuentran entre 0,050 y 0,100ms/cm a 25°C. El agua residual objeto de este estudio presentó 0,805 ms/cm  $\pm$  0,006, debido a la alta concentración de iones, productos celulares como metabolitos cargados como ácidos orgánicos, productos de la degradación, descomposición de macromoléculas y en general la presencia de bacterias, la conductividad eléctrica del agua residual aumenta y es asociada a la presencia de contaminantes orgánicos e inorgánicos (57-82). Por otro lado, el oxígeno disuelto reportado en la tabla 6 es de 7,6 mg/L  $\pm$  1,97 similar a los valores de OD en agua potable los cuales oscilan entre 4,0 y 8,5mg/L.

### **6.1.2 CARACTERIZACIÓN MICROBIOLÓGICA**

El agua residual presenta una carga alta de contaminación derivada de las sustancias químicas en términos de DQO y DBO<sub>5</sub> (ver tabla 5). Por su composición química y pH ácido no se esperaba la sobrevivencia de microorganismos en el agua almacenada. Sin embargo, este estudio se quiso comprobar la presencia de diferentes grupos bacterianos capaces de sobrevivir en el agua residual como resultado de las tinciones microbiológicas, por ejemplo la coloración de Gram, en la cual se realizan sucesivos lavados con colorantes, solventes y mordientes, sobre un frotis bacteriano (25). De estos lavados, es probable que se arrastraran células a los contenedores, por lo que se esperaba encontrar varios géneros de bacterias Gram positivas y Gram negativas.

Por su reconocida actividad bactericida y bacteriostática de los compuestos químicos como el alcohol etílico y los colorantes como el cristal violeta (26), era de esperarse bajas concentraciones de microorganismos, sin embargo como lo presenta la figura 7, la población de heterótrofos alcanzó las  $7,9 \pm 0,02$  logUFC/mL

A partir de la muestra de agua residual analizada se identificaron los grupos bacterianos presentados en la figura 7. Se encontró la presencia de coliformes, bacilos Gram positivos y *Pseudomonas* spp., El grupo predominante corresponde a las bacterias heterótrofas y coliformes grupo que incluye a *E. coli*, seguido de los bacilos Gram positivos reconocidos por sus mecanismos de resistencia como la esporulación. Por otra parte, la presencia de *Pseudomonas* spp. es importante ya que se reporta en la literatura la resistencia a la desinfección, además, de ser formadoras de biopelículas lo cual explica su relativa alta población (65).



**Figura 7.** Población microbiana del agua residual

Los microorganismos pueden sobrevivir en aguas residuales mediante diferentes mecanismos de protección y sobrevivencia como la formación de biopelículas o la adherencia a los sólidos, cuando en el agua no se encuentran fuentes de N y C fácilmente asimilables. Los contaminantes que se pueden encontrar en el agua residual (tabla 1) no son considerados fuentes asimilables de N ni C debido a sus estructuras aromáticas y dobles enlaces. En este tipo de agua residual es factible que los microorganismos sobrevivan a partir de la formación de biopelículas, restos celulares y sustancias extracelulares como exopolímeros. Las biopelículas son importantes en los sistemas de tratamientos de aguas residuales y potabilizadoras ya que pueden interferir en procesos de filtración, en la remoción de materia orgánica, y reducen la eficiencia de los tratamientos de oxidación avanzada en la desinfección al de proteger bacterias patógenas como *E. coli* (58).

Las sustancias presentes en la matriz extracelular que componen las biopelículas como macromoléculas, polímeros y restos celulares, sirven de fuente nutricional para las bacterias. Se ha encontrado que la presencia de estas sustancias extracelulares afectan la eficiencia de los radicales oxidantes (ROS), como es el caso de Lui y colaboradores 2007 (58), quienes

encontraron un mayor efecto bactericida del  $\text{TiO}_2$  en células libres frente a las planctónicas que se adhieren a la superficie del contenedor.

Otro mecanismo para la resistencia es la esporulación, sin embargo se obtuvo  $<10$  esporas/mL, pese a que se identificaron colonias presuntivas de *Bacillus* spp. (reconocidos por su capacidad de esporulación), es probable que los bacilos Gram positivos presuntivos de *Bacillus* spp. hayan utilizado otros mecanismos de sobrevivencia como la formación de biopelículas (86), de igual forma es probable que algunos colorantes y compuestos del agua residual inhiban la esporulación, por ejemplo el azul de metileno, lo cual requiere de mayor estudio (85).

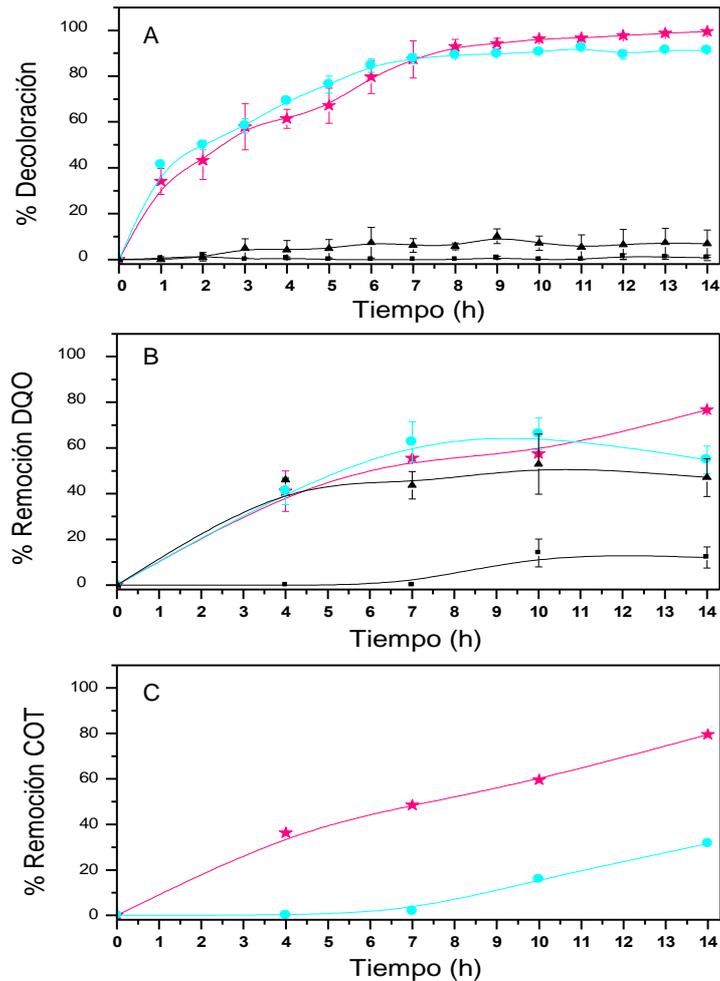
## **6.2 TRATAMIENTOS DE OXIDACIÓN AVANZADA**

### **6.2.1 ETAPA I FOTOCATÁLISIS HETEROGÉNEA UV/ $\text{TiO}_2$**

#### **6.2.1.1 EVALUACIÓN DE PARÁMETROS FÍSICOQUÍMICOS**

La figura 8 presenta las curvas de remoción para los parámetros fisicoquímicos evaluados durante el tratamiento. Las unidades de color al finalizar el proceso fueron de  $8,8 \pm 0,7$  UC, es decir que por medio de fotocatálisis se logró una decoloración de 99,5%, este valor fue similar al obtenido en el control fotolítico UV de 91,3% de remoción con  $152,8 \text{ UC} \pm 0,5$ . En cuanto a la DQO, la fotocatálisis obtuvo un valor final de DQO de  $989,3 \text{ mg/L} \pm 19$  con un porcentaje máximo de remoción de 76,7% mientras que la fotólisis un 54,8% con DQO  $1626 \text{ mg/L} \pm 25$ . Finalmente, la fotocatálisis, removió el 79,5% de COT frente a un 31,6% de la fotólisis UV.

Como lo muestra la figura 8 A, el porcentaje de decoloración aumentó progresivamente desde la hora 0 hasta la hora 7. Inicialmente, el porcentaje de decoloración fue ligeramente más alto para el control de fotólisis UV, posteriormente desde la hora 7 hasta finalizar el proceso la fotocatálisis logró una mayor decoloración que el control.



**Figura 8.** Comportamiento de los parámetros fisicoquímicos durante la fotocatalisis.

A). Porcentaje de decoloración, B). Porcentaje de remoción de DQO, y C). Porcentaje de remoción de COT. Con UV/TiO<sub>2</sub> (magenta), UV (azul claro), TiO<sub>2</sub>/Oscuridad (triangulo negro) y control absoluto (cuadrado negro). A 120rpm, 250mlVET, 0,05 g/L TiO<sub>2</sub>.

Es probable que la relativa baja acción de la fotocatalisis frente a la fotólisis en la decoloración y remoción de DQO en las primeras horas de tratamiento, haya sido el resultado de una alta concentración de microorganismos y sólidos en suspensión que dispersaron o absorbieron la luz UV, como resultado menor luz UV incidía sobre la superficie del semiconductor, generando una baja cantidad de radicales hidroxilo. A medida que el sistema se mantuvo en agitación estos sólidos se desagregaron y transformaron a causa de la acción de radicales oxidantes y lo que permitió que a partir de la hora 7 la fotocatalisis aumentara su eficiencia en la decoloración y remoción de DQO, a causa de una mayor activación de la superficie del TiO<sub>2</sub> adsorción de compuestos y por lo tanto una mayor producción de radicales hidroxilo. De acuerdo con el análisis estadístico no hay diferencias significativas entre la fotocatalisis y la fotólisis en la remoción de color al finalizar el tratamiento ( $\alpha:0,05$  - sig:0,514).

Adicionalmente, la luz UV como control, demostró ser absorbida por las moléculas de los colorantes. Momani y colaboradores 2002 (84), estudiaron la fotólisis de 10 colorantes azo y agua residual textil utilizando un sistema de dos lámparas de Hg de baja energía UV de 253,7nm y VUV de 184,9 nm. Se encontró un 90% en la reducción del color del agua textil en 13 minutos, durante el mismo periodo de tiempo se logró la remoción del 30% de DQO y un incremento en la DBO<sub>5</sub> como indicador de una aumento en la biodegradabilidad. Por otro lado Chen y colaboradores, 2007 (7) encontraron una fotodegradación de un colorante trifenilmetánico (verde de malaquita) con luz UV de 365nm considerable, pero que en presencia del TiO<sub>2</sub> aumento a las 4h al 99,9%. Ya que la eficiencia en la decoloración de los diferentes colorantes depende de la estructura y reactividad de cada uno, diferentes tiempos de irradiación serán necesarios para la decoloración de una mezcla de colorantes.

El agua residual, objeto de este estudio, presenta una variedad de colorantes trifenilmetánicos, azoicos y otros compuestos que en conjunto requieren de mayor tiempo de tratamiento. Como lo observado por Momani *et al*, 2002 cuya agua residual textil requirió de 13 minutos para alcanzar 90% de decoloración, frente a un máximo de 7,5 minutos de 3 colorantes de la familia azo. De igual forma, algunos autores expresaron obtener porcentajes de decoloración por fotocátalisis TiO<sub>2</sub> en mayor tiempo que por fotólisis, en algún punto de sus tratamientos, por ejemplo a los 30 minutos con un 65% de eficiencia o 80 minutos con un 80% de remoción de color por fotocátalisis (8-70). Esto podría explicar cómo hasta la hora 7 se logra una remoción del 87,9% de color por parte de la fotocátalisis heterogénea.

La remoción de DQO a las 7 y 10 horas fue mayor para el control con 7% y 8% más que la fotocátalisis respectivamente (figura 8 B). A partir de la hora 10 a la hora 14, el porcentaje de remoción aumenta significativamente ( $\alpha$ : 0,05 - sig: 0,000) para la fotocátalisis un 30% más que el control al finalizar el tratamiento. Es probable que de las 0 a las 7 horas, la fotodegradación de la materia orgánica se pudo dar de forma directa por la excitación de las moléculas del contaminante por luz UV o por procesos fotooxidativos donde la luz UV conduce a procesos oxidativos en este caso por la acción de radicales hidroxilo provenientes de la activación del TiO<sub>2</sub>, (27). Sin embargo se debe tener en cuenta que la foto-oxidación directa con radiación UV es capaz de degradar los contaminantes orgánicos siempre que éstos absorban dicha radiación y en suficiente cantidad y tiempo para alcanzar estados para que se lleve reacciones químicas de transformación en las moléculas (33).

Por otro lado la remoción del COT fue considerablemente mayor para la fotocátalisis frente al control, superándolo en un 48% a finalizar el tratamiento (figura 8 C). Es factible que la producción de radicales hidroxilo a partir de la fotocátalisis no solo generó un cambio en la estructura química de los colorantes y otros compuestos sino que además es probable que se hayan producido en cantidad suficiente para degradarlos a moléculas más sencillas e inclusive su mineralización en  $\text{CO}_2$  y agua. Por otro lado, la baja remoción lograda por la fotólisis puede deberse a la formación de otros compuestos incoloros y más pequeños que hayan disminuido el porcentaje de remoción de COT en el control fotolítico. De igual forma, durante la fotocátalisis se puede relacionar la degradación de los colorantes y la pérdida de los grupos auxocromos y solubilizadores, la degradación de los solventes y mordientes a moléculas e iones, a un aumento en la conductividad eléctrica del agua residual de  $160,7\mu\text{s}/\text{cm} \pm 5,4$  a  $174,2 \mu\text{s}/\text{cm} \pm 4,2$ , a la hora 14 del tratamiento.

El control de adsorción en oscuridad no logró un porcentaje considerable de decoloración (6,8 % a la hora 14), contrario a lo observado en la DQO donde tuvo un comportamiento similar a la hora 4 y hora 14 que la fotólisis, al finalizar el tratamiento logró un máximo de remoción de DQO de 47,1%. Finalmente el control absoluto logró una remoción del casi el 10% del DQO lo cual puede atribuirse a la presencia de compuestos interferentes en la determinación de la técnica. Pese a que solo se evaluó el porcentaje de remoción de COT en el tratamiento fotocatalítico y con fotólisis como control, se podría corroborar los datos obtenidos de la remoción de DQO por parte del control de adsorción en oscuridad ya que este no decoloró el agua en más de un 10%.

La degradación fotocatalítica de los colorantes se pudo dar de dos maneras de forma directa o indirecta. La ruta directa de degradación seguiría los modelos de Langmuir–Hinshelwood (67), en base a la producción de electrones y huecos por la fotoexcitación del catalizador, el hueco queda atrapada por el colorante adsorbido en la superficie del  $\text{TiO}_2$  y el colorante forma un radical reactivo que luego se recombina con los electrones, regenerando el catalizador. Este modelo ha sido aplicado a la degradación de colorantes tipo azo como el rojo congo (68). Otra ruta directa de degradación es la correspondiente al modelo de Eley–Rideal. Este se basa en la reacción entre los Centro activos en la superficie (S) que reaccionan con el colorante por quimisorción para formar aductos como  $(\text{S-colorante})^+$  que luego se descompone en productos que se recombinan con electrones. Por último, la degradación indirecta del colorante por fotocátalisis heterogénea se basa en la generación del par electrón/hueco en la superficie del catalizador. El hueco es atrapado por las moléculas de agua para formar el radical hidroxilo y los electrones favorecen la producción de  $\text{H}_2\text{O}_2$  que luego se descompondrá

para formar más radicales. Finalmente los radicales producidos serán los responsables de la oxidación de la molécula que producirá intermediarios y productos. Cualquiera que haya sido el mecanismo, es generalmente aceptado que la adsorción de reactivos en la superficie del catalizador es imprescindible para que se lleve a cabo la oxidación fotocatalítica. Por lo tanto si la superficie del catalizador está cubierta con los colorantes la oxidación se pueda dar de forma directa por acción de los huecos ya que la adsorción de compuestos orgánicos en la superficie del  $\text{TiO}_2$  es el primer paso para la transferencia de electrones al colorante. Por otro lado, la oxidación indirecta requiere de la adsorción de agua o  $\text{H}_2\text{O}_2$  en la superficie para la formación de los radicales hidroxilo.

Los intermediarios y subproductos de la degradación por fotocatálisis se desconocen. Sin embargo Saquib y Muneer, 2002 determinaron varias rutas de degradación por fotocatálisis UV/ $\text{TiO}_2$  de un colorante trifenilmetánicos. Los investigadores detectaron subproductos de la degradación del cristal violeta como benzofenona, derivados del ácido p-aminobenzoico, y anilinas.

A parte de los colorantes, los solventes y mordientes como el etanol, el alcohol-acetona y el lugol. Son de los compuestos más utilizados por ser indispensables en la coloración de Gram universalmente utilizada y aplicada en los laboratorios de rutina. Liu y colaboradores 2006 (73), encontraron que la eficiencia en la degradación por fotocatálisis heterogénea UV/ $\text{TiO}_2$  de la acetona y el etanol se daba en una relación inversamente proporcional. Los investigadores encontraron que la presencia de alcohol etílico reduce la tasa de degradación de la acetona y esta disminuye con el aumento del alcohol en el medio, y de la misma forma la acetona inhibe la degradación de etanol. Ambos compuestos se degradan más rápidamente a temperaturas entre  $31^\circ\text{C}$  y  $43^\circ\text{C}$ . La literatura reporta que la degradación del etanol y el alcohol-cetona pueden ser estudiados por espectroscopía de infrarrojo para la determinación de subproductos e intermediarios que afecten la eficiencia en la mineralización y la resistencia de estos a la degradación por los radicales oxidantes. Se ha encontrado que el acetaldehído, ácido acético, formaldehído y ácido fórmico hacen parte de los intermediarios de la oxidación fotocatalítica del etanol que se transforman finalmente a  $\text{CO}_2$  (70).

Por otro lado, el pH en el sistema se mantuvo entre pH 3,42 y pH 4,95 con una media de 4,50. El pH final fue de 4,10. Cambios en el pH afectan la eficiencia en la degradación de colorantes, compuestos aromáticos como clorofenoles entre otros (69). Bajo condiciones ácidas la superficie del catalizador se puede protonar por lo tanto la superficie del dióxido de titanio se mantuvo cargada positivamente. La literatura reporta mayor actividad oxidativa a pH menores, pero el exceso de  $\text{H}^+$  puede disminuir la tasa de

reacción (67). Sin embargo para determinar el efecto del pH sobre la efectividad en la remoción de parámetros fisicoquímicos es necesario la evaluación de diferentes pH e identificar el pH óptimo para el tratamiento.

De igual forma, se debe tener en cuenta la concentración inicial de los contaminantes, ya que a mayores concentraciones, menor es la eficiencia en términos de degradación y decoloración. La literatura reporta un menor porcentaje de degradación de colorantes trifenilmetánicos como la safranina y el cristal violeta a mayores concentraciones manteniendo fija la concentración del catalizador (67). Por lo que se propone determinar en términos de DQO, COT y UC mediante un estudio de los valores máximos que pueda alcanzar el agua durante un periodo de tiempo, y de esta forma determina la aplicabilidad de la técnica con valores máximos y mínimos de carga contaminante.

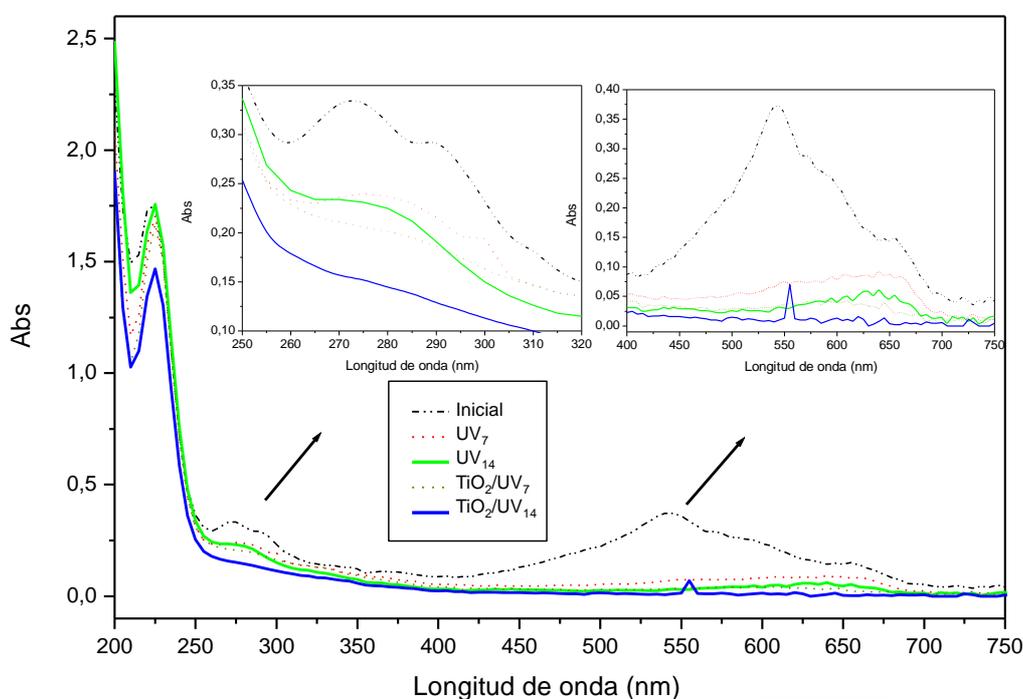
El agua residual tratada por fotocátalisis presentó una carga de materia orgánica en DQO final y de unidades de color cumplen con la Resolución 3957 de 2009 de la SDA, excepto por el pH el cual deberá ser ajustado entre 5,0 y 9,0, para el vertimiento legal del agua. En contraste a lo estipulado por el Decreto 3930 de 2010 de MAVDT, en cuyo caso el agua cumple únicamente con las unidades de color.

Con el fin de disminuir el tiempo de irradiación, lograr mayores porcentajes de remoción de COT y DQO, y de esta forma cumplir con lo estipulado por el Decreto 3930 de 2010 MAVDT, se deben tener en cuenta las condiciones operacionales a las cuales se llevó a cabo la fotocátalisis heterogénea. Como lo muestra la figura 5. No se suministró oxígeno adicional al sistema aparte de la agitación de los vasos de cuarzo. Es probable que mejores resultados de remoción de DQO y COT se obtengan al adecuar bombeo continuo de aire. El oxígeno es requerido como aceptor de electrones de la banda de conducción para producir el radical superóxido y prevenir la recombinación del electrón/hueco de esta forma aumentar la producción de radicales hidroxilo y otras especies oxidantes y observar un aumento en la tasa de oxidación de compuestos intermediarios (72). Poco oxígeno en el sistema puede generar un efecto adverso como lo reportado por Saquib y Muneer en la degradación de dos colorantes trifenilmetánicos (69).

Los efectos tóxicos de los colorantes, solventes y mordientes son reconocidos, sin embargo sus productos de degradación y su efecto en el medio ambiente mediante estos tratamientos se desconocen por lo que es pertinente el estudio de la toxicidad del agua tratada por medio de la aplicación de bioensayos (71). Con el fin de conocer los efectos a corto y largo plazo sobre la vida acuática y la salud humana.

### 6.2.1.2 ESPECTRO DE ABSORCIÓN UV-VIS (FOTOCATÁLISIS)

Las curvas espectrales obtenidas permitieron observar la transformación de los contaminantes incluyendo los colorantes a través del tiempo de tratamiento. Como lo muestra la figura 9. El tratamiento fotocatalítico fue capaz de transformar las sustancias que emiten color en el rango del espectro visible (450nm-700nm) desde la hora inicial en línea negra punteada hasta la hora 14 (TiO<sub>2</sub>/UV<sub>14</sub>, línea azul), así mismo de otros compuestos y derivados que absorben a menores longitudes de onda como los alcoholes y acetona (200-300). Teniendo en cuenta los efectos batocrómicos, hipsocromicos, y transiciones que puedan presentarse entre los diferentes compuestos orgánicos del agua residual (87)



**Figura 9.** Espectros de absorción UV-visible del agua tratada por fotocatalisis (TiO<sub>2</sub>/UV) y fotólisis (UV), desde la hora inicial, hora 7 (TiO<sub>2</sub>/UV<sub>7</sub>) y hora 14 (TiO<sub>2</sub>/UV<sub>14</sub>) del proceso.

Pese a que la fotólisis logró un porcentaje de coloración muy cercano al de la fotocatalisis a la hora 14 del proceso, es probable que como se mencionó anteriormente, quedaran compuestos intermedios que absorben en el rango del ultravioleta, lo cual se puede observar detalladamente en la figura 9. Sin embargo, se debe tener en cuenta la presencia de otros compuestos y sus intermedios diferentes a los colorantes, lo cual requiere de más estudio y la determinación de picos máximos de absorción por parte de los productos de la fotocatalisis y del control UV.

### 6.2.1.3 COMPORTAMIENTO DE LA POBLACIÓN MICROBIANA

A continuación la figura 10 resume el comportamiento de la población microbiana durante el tratamiento fotocatalítico del agua residual. La eficiencia en la desinfección se evaluó a partir de la inactivación de 2 poblaciones específicas (coliformes y bacilos) y de bacterias en general o heterótrofas que se encuentran en concentraciones altas en el agua residual.

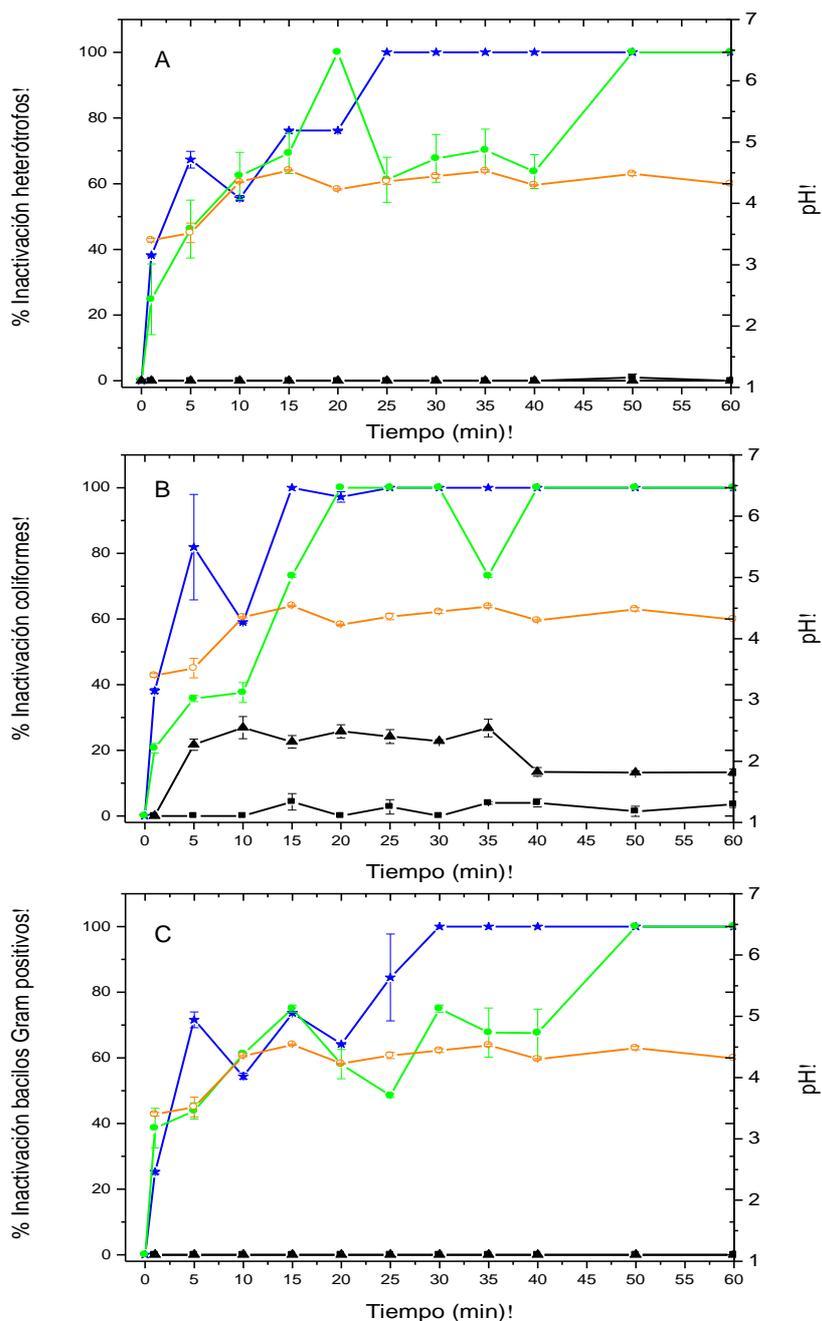


Figura 10. Cinéticas de inactivación de microorganismos

A). heterótrofos, B). coliformes y C). bacilos Gram positivos. Mediante el tratamiento UV/TiO<sub>2</sub> representado por la línea azul, UV (verde), TiO<sub>2</sub>/Oscuridad (símbolo triangulo negro) y control absoluto (cuadrado negro). pH en línea naranja.

Como lo muestra la figura, a los 5 minutos de tratamiento fotocatalítico se logró una rápida inactivación del 67,3% de microorganismos heterótrofos, 81,9% de coliformes y 71,6 % de bacilos Gram positivos. En este periodo, las especies oxidantes producidas atacan la pared y membrana celular, gradualmente esta pierde permeabilidad y se oxida. Hacia los 10 y 20 minutos de tratamiento se observó una caída en la inactivación (%), por la activación de mecanismos reparadores frente a los radicales oxidantes (ROS), este fenómeno es observado en los heterótrofos y bacilos Gram positivos pero no en los coliformes, lo cual demuestra una sobrecarga en los sistemas enzimáticos defensores contra los radicales oxidantes en las bacterias coliformes a partir de los 10 minutos y probablemente, perforaciones de la membrana, daño celular y del material genético considerable en este grupo bacteriano. La inactivación de microorganismos por fotocátalisis depende de factores como el tiempo de irradiación. La literatura reporta mayor inactivación a mayor tiempo de irradiación ya que esto incrementa la producción de radicales hidroxilos que causan el daño celular.

La fotocátalisis heterogénea fue capaz de inactivar el 100% de los coliformes a los 15 minutos. Esto como resultado del continuo ataque de los ROS sobre la membrana, proteínas y otros componentes celulares incluido el DNA, lo cual acelero la muerte celular (63). Los sistemas de defensa al estrés oxidativo no son capaces de continuar protegiendo la célula y por lo tanto la población se inactiva al 100%, al finalizar este periodo. Mientras que los microorganismos heterótrofos se inactivo el 100% a los 25 minutos y los bacilos Gram positivos fueron los más resistentes a los 30 minutos de tratamiento

Se realizó un ensayo de reactivación en oscuridad a las 24h y 48 horas donde se obtuvo <10UFC/mL de coliformes, heterótrofos y bacilos Gram positivos, indicando el efecto bactericida y una probable mineralización celular en el caso de la fotocátalisis. Sin embargo, si hubo reactivación secundaria con la fotolisis recuperando 4,9, 4,1 y 4,9 logUFC/mL de heterótrofos, coliformes y bacilos respectivamente (tabla 6), en este caso se observó un efecto bacteriostático, y la reconstitución celular a través de sistemas reparadores en oscuridad de daños por UV en el material genético como de otros componentes celulares, como lo son los sistemas reparadores de DNA y SOS encontrados en *E. coli* (58). Este ensayo en oscuridad garantiza la total desinfección del agua residual por el tratamiento UV/TiO<sub>2</sub>.

**Tabla 5. Reactivación secundaria**

	Inicial Log UFC/mL			60 minutos Log UFC/mL			24 horas Oscuridad			48 horas Oscuridad		
	Het	Col	BGP	Het	Col	BGP	Het	Col	BGP	Het	Col	BGP
UV/TiO <sub>2</sub>	7,124 ± 0,05	6,758 ± 0,07	6,454 ± 0,01	0	0	0	0	0	0	0	0	0
UV	6,191 ± 1,16	6,340 ± 0,01	6,796 ± 0,03	0	0	0	2,489 ± 0,04	0	2,350 ± 0,04	4,927 ± 0,07	4,136 ± 0,04	4,903 ± 0,03

(Het): Heterótrofos

(Col): Coliformes

(BGP): Bacilos Gram positivos

Los coliformes fueron el grupo que más rápidamente se inactivó completamente tanto por UV/TiO<sub>2</sub> ( $0,8744 \text{ min}^{-1}$ ,  $R^2 = 0,9946$ ) estos resultados obtenidos soporta lo reportado por algunos autores quienes observaron una mayor resistencia de bacterias Gram positivas frente a Gram negativas en sistemas de desinfección fotocatalíticos UV/TiO<sub>2</sub> (39, 60, 61, 62). Los resultados obtenidos en esta investigación coincide a los reportado por Hsuan-Liang y colaboradores 2003 quienes observaron que la inactivación de bacterias Gram negativas (*E. coli*) era mayor que con Gram positivas (*S. aureus*, *E. faecium* y *L. helveticus*), al igual que Pal y colaboradores 2007 quienes observaron en las bacterias Gram negativas: *E. coli* k-2 y *P. fluorescens* las mayores velocidades de inactivación ( $0,0078\text{--}0,2442 \text{ min}^{-1}$ ) en comparación a las bacterias Gram positivas especialmente *B. subtilis* (60). Por otro lado, Klaus, *et al* 2003 encontró que siguiente orden de inactivación por especies oxidantes: *E. coli* > *P. aeruginosa* > *S. aureus* > *E. faecium* > *C. albicans*., el mismo orden en el que aumenta la densidad de la pared celular. Los investigadores proponen medir el cambio en la carga superficial y la hidrofobicidad de la bacteria y correlacionar estos datos con los encontrados en el orden de inactivación.

**Tabla 6. Constantes de inactivación de primer orden (k) en min<sup>-1</sup> para las 3 poblaciones microbianas por fotocátalisis.**

Constantes de inactivación (k) en min <sup>-1</sup>					
Fotocátalisis UV/TiO <sub>2</sub>			Fotolisis UV		
Heterótrofos	Bacilos Gram positivos	Coliformes	Heterótrofos	Bacilos Gram positivos	Coliformes
0,366 ± 0,002	0,2677 ± 0,002	0,8744 ± 0,07	0,2058 ± 0,143	0,2574 ± 0,023	0,2852 ± 0,003
R <sup>2</sup> = 0,9948	R <sup>2</sup> = 0,9240	R <sup>2</sup> = 0,9946	R <sup>2</sup> = 0,9761	R <sup>2</sup> = 0,97921	R <sup>2</sup> = 0,9998

En este trabajo se encontró que los mas resistentes a la fotocátalisis UV/TiO<sub>2</sub>, fueron los bacilos Gram positivos (0,2677 min<sup>-1</sup>, R<sup>2</sup> =0,9240). Las bacterias Gram positivas tienen una capa gruesa de peptidoglicado en contraste a las bacterias Gram negativas que presentan una capa delgada de peptidoglicano, adicionalmente presentan una membrana externa que contiene lípidos que se separa de la pared por el espacio periplasmático. Es posible que los radicales oxidantes sean absorbidos por el péptidoglicano en las bacterias Gram positivas disminuyendo el número de radicales que ingresan a la célula y dañan el DNA. Como son numerosos los radicales que se producen, es claro que los mecanismos de inactivación son diferentes en bacterias Gram positivas y Gram negativas (61-66). La fotocátalisis es más eficiente en la inactivación de bacilos Gram positivos ( $\alpha$ : 0,05 - sig: 0,000).

La presencia del catalizador en oscuridad solo disminuyo un 10% la taza de sobrevivencia de los coliformes, en los heterótrofos y bacilos Gram positivos no se obtuvo más de 3,4% de inactivación.

El pH del agua residual inicial fue de 3,42, lo cual de entrada es una condición estresante para la mayoría de bacterias neutrófilas presentes. El pH óptimo de las bacterias neutrófilas se encuentra entre 6.0 y 8.0. A pH ácidos estas bacterias disminuyen la velocidad de crecimiento, los mecanismos de resistencia al ácido involucran la producción de proteínas que protegen la célula del choque acido. Por tales razones es probable que estos factores contribuyeran a una rápida disminución de las bacterias frente a los reportado en la literatura (45).

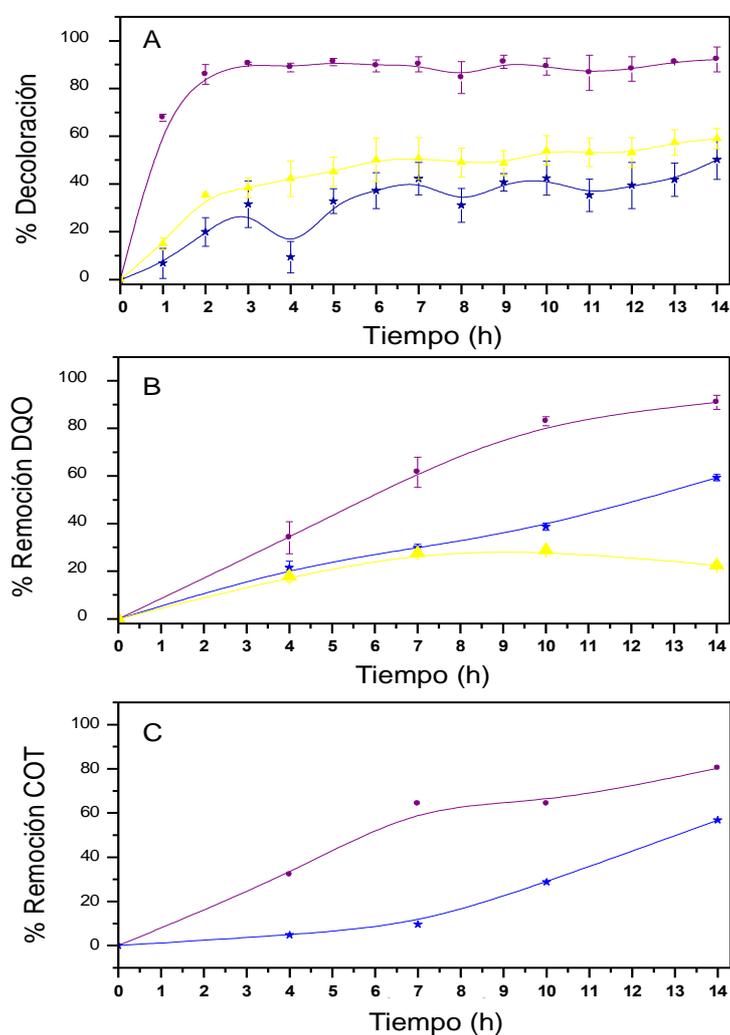
Las lámparas utilizadas fueron las UV-C, reportadas por algunos autores con mayor actividad microbicida sobre otras como las lámparas de UV-A, Liu y Yan 2003 (62) obtuvieron una inactivación total de *E. coli* a los 30 minutos de tratamiento, mismo resultado reportado por Villanueva 2009. La gran eficiencia en la UV-C fotocátalisis puedes se explicada por una mejor activación fotónica de las partículas de dióxido de titanio (62).

## **6.2.2 ETAPA II FENTON HETEROGÉNEO H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe-CARBÓN ACTIVADO**

### **6.2.2.1 EVALUACIÓN DE PARÁMETROS FISICOQUÍMICOS**

La figura 11 presenta los porcentajes de decoloración, remoción de DQO y COT durante el tratamiento Fenton heterogéneo H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>Fe/Carbón activado. A las 14 horas de tratamiento se obtuvo el 50,1 % de UC con un final de 301 UC  $\pm$  9,4, un 59,3 % de

remoción de DQO: 1195 mg/L $\pm$  12,5, y 56,57 % de COT: 228 mg/L. A diferencia de lo obtenido por el control de carbón activado (CA) el cual removió el 92,15% de UC con 26,5 UC  $\pm$  11,4 finales, 91% de DQO con un final de 139,5 mg/L  $\pm$  36,5, y 80,33% de COT: 140mg/L. Como lo presenta la figura 11 A, los porcentajes de decoloración fueron más altos para el control con CA. A la hora 2 de tratamiento el CA ha logrado decolorar el agua residual en un 87,2%, posteriormente los valores se mantienen constantes hasta alcanzar el máximo de 93,8% a la hora 14. El comportamiento del tratamiento Fenton se mantuvo fluctuante durante todo el proceso alcanzado un máximo de decoloración a las 14 horas de 50,1,5 %, por debajo del control de peróxido de hidrogeno el cual obtuvo una remoción de color del 59%.



**Figura 11.** Comportamiento de los parámetros fisicoquímicos durante el tratamiento Fenton heterogéneo.

A). Porcentaje de decoloración, B). Porcentaje de remoción de DQO, y C). Porcentaje de remoción de COT. Con Fenton H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe/CA (azul), carbón activado (CA) (violeta), H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (amarillo) y control absoluto (cuadrado negro). A 700rpm, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 0,1M 50ul/min, aire a 1,8L/Lmin, 0,2g/L catalizador de, pH 3,7  $\pm$  0,1, durante 14 horas.

El control de carbón activado fue mas eficiente en la remoción de UC junto con el  $H_2O_2$  frente al tratamiento Fenton ( $\alpha$ : 0,05 - sig: 0,000), en contraste a lo que reportan algunas investigaciones como Ramirez y colaboradores 2007 (16) quienes estudiaron catalizadores soportados en matrices de carbón activado obtenidos a partir de residuos agroindustriales (huesos de olivo), preparado a partir de acetato ferroso. Se encontró que el catalizador soportado en CA es capaz de remover hasta el 100% de color en 4 horas en un agua residual que contiene el colorante naranja II, el porcentaje de mineralización fue del 90% de acuerdo a análisis de COT. Así mismo, Santos y colaboradores 2009, han estudiado la eliminación de varios colorantes utilizando distintos carbones activos como catalizadores, quienes proponen la formación de radicales  $OH\cdot$  como responsables de la oxidación de los contaminantes, observando que los carbones sometidos a un tratamiento reductor mostraban la mayor actividad (85). Karthikeyan y colaboradores 2011, utilizaron como matriz de soporte de catalizador el carbón activado de estructura mesoporosa, con 10g/L de catalizador en 4 horas lograron una remoción de COD del 90% (79). Dantas y colaboradores 2006 (90), estudiaron el tratamiento de las aguas residuales de una industria textil mediante los procesos simultáneos de adsorción y oxidación con catalizadores  $Fe_2O_3/CA$  y peróxido de hidrógeno. Los resultados obtenidos mostraron una muy baja lixiviación del hierro a la fase acuosa a pH de 3. Además, el consumo de peróxido de hidrógeno fue menor que en el proceso homogéneo, consiguiendo un 71% de remoción de DQO en 1 hora, a temperatura ambiente, con una concentración de catalizador de 300 mg/L y dosis de  $H_2O_2$  inferiores a la estequiométrica.

De igual forma, se ha estudiado la remoción de contaminantes como el azul de metileno por catalizadores soportados con hierro (78). Castro y colaboradores 2009, utilizaron catalizadores de hierro soportados en CA. En ese estudio se utilizó CA proveniente de los residuos de la industria del café y fue comparado frente a carbón de grado comercial. Se encontró que la mejor actividad catalítica provenía del CA de los residuos de la molienda del café, de igual forma el CA no presento perdida de iones férricos demostrando que puede ser reutilizado hasta 4 veces, pero desconocen el mecanismo involucrado.

En cuanto a la remoción de DQO (%) el tratamiento Fenton no logró remover más del 59,3%. El control con CA fue claramente superior con un 91,0%. El control de peróxido de hidrogeno tuvo un comportamiento similar al Fenton desde la hora 0 hasta la hora 7, posteriormente la remoción de DQO fue mayor que el control de  $H_2O_2$  (Figura 11 B). Por otro lado, la remoción de COT fue superior al tratamiento Fenton en un 23,6%. Es probable que el CA como parte de la remoción de color y otros compuestos, esto se viera

reflejado igualmente en la remoción de DQO y COT. El CA demostró ser eficiente en la remoción de color, DQO y COT pero debe tenerse en cuenta que el carbón activo no presentaba una actividad significativa ya que la disminución en los contaminantes podía atribuirse a los efectos de adsorción del mismo en la superficie del carbón, por lo tanto no hay destrucción de los contaminante sino una transferencia de una matriz líquida a una sólida.

El peróxido de hidrogeno obtuvo mayores porcentajes en la decoloración que el tratamiento Fenton y un comportamiento similar en la remoción de DQO. Es necesario determinar la concentración adecuada de peróxido de hidrogeno. En este estudio, la concentración de peróxido en el sistema fue de 0,57g/L. Agustino y colaboradores 2009, evaluaron diferentes concentraciones de peróxido y carbono activado para la adsorción de compuestos refractarios. Los investigadores evaluaron concentraciones de peróxido de 0,5g a 5,0g/L, se encontró que 3.0–3.5 g/L de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en el sistema removía hasta el 33% de DQO con un inicial de 8000mg/L. Por lo tanto, una concentración muy alta de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en presencia del carbono activado granula podría inhibir la formación de radicales hidroxilo al convertirlo rápidamente al radical hidroxiperoxilo HO<sub>2</sub> de menor actividad oxidante ( $E^{\circ} = 1.70 \text{ e.V}$ )

Existe la posibilidad de que en el sistema Fenton los productos de reacción como ácidos orgánicos hayan secuestrado el hierro, sacándolo del ciclo catalítico y disminuyendo la eficiencia en la producción de radicales oxidantes. Por último pudo haberse dado lixiviación del hierro, desactivación de los sitios activos o envenenamiento del catalizador (53). Es probable que la baja remoción en porcentaje obtenida de COT por parte del tratamiento Fenton, se deba a la presencia de compuestos y derivados principalmente ácidos orgánicos de cadena corta como acético, fórmico, que son más resistentes al tratamiento, y que además, pudo ser el principal responsable de la lixiviación de hierro si esta hubiera ocurrido. Sin embargo al no tener datos de las propiedades fisicoquímicas del catalizador ni el peróxido residual, estas afirmaciones requieren de estudios posteriores.

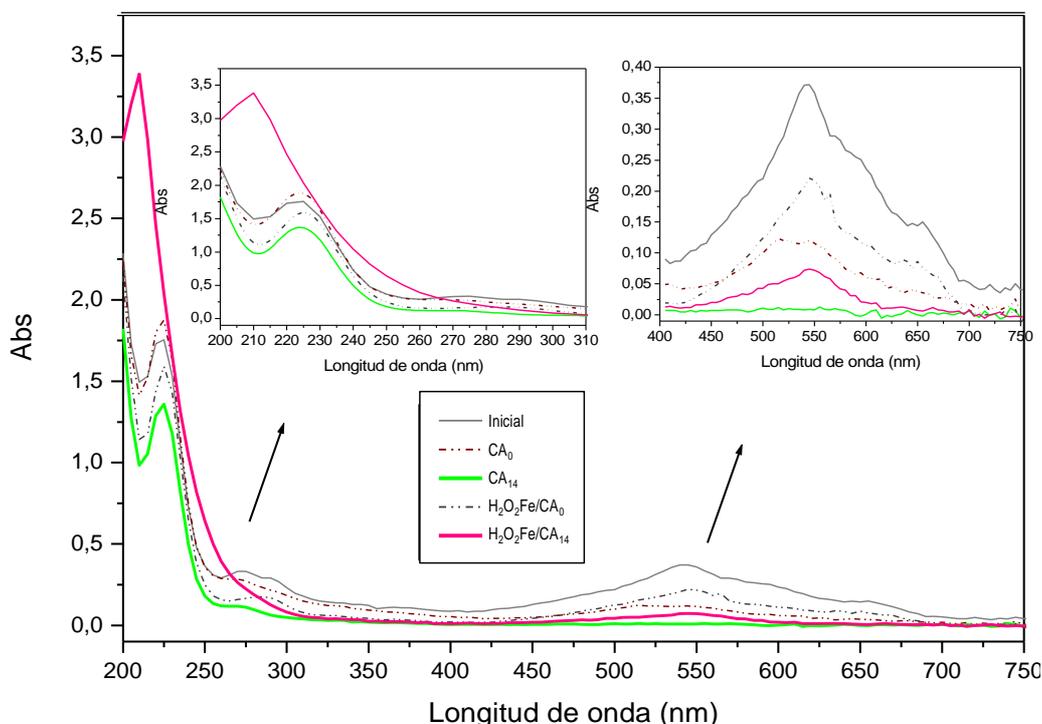
La actividad catalítica puede aumentarse mediante un área externa superficial mesoporosa, para disminuir la resistencia de la transferencia de masa de los reactantes al acceder a la superficie del carbón. Sin embargo, al no obtener datos sobre el área superficial del catalizador es probable que este no presentara la adecuada para evitar la pérdida del catalizador o que se diera el contacto con los contaminantes por lo que se recomienda el análisis microscópico por SEM y XRD del catalizador (53, 77). Así mismo,

el uso de metales de transición como el Fe, Co y Ni pueden potenciar la acción del catalizador de hierro y evitar la pérdida de este.

De acuerdo con la Resolución 3957 de 2009 de la SDA y el Decreto 3930 de 2010 de MAVDT, el agua residual tratada por Fenton heterogéneo  $H_2O_2/Fe$ -Carbón activado evaluado no cumple con el DQO, y pH para poder ser vertida. Por lo tanto el sistema Fenton heterogéneo evaluado no fue eficiente para la remoción de materia orgánica en DQO, COT y UC. Se requiere de estudios posteriores para identificar las condiciones óptimas de tratamiento.

### 6.2.2.2 ESPECTROS DE ABSORCIÓN UV-VIS (FENTON)

Para evidenciar los cambios en la absorbancia del agua residual se realizó una curva espectral desde el agua residual sin tratar (inicial), la hora cero del control con carbón activado ( $CA_0$ , línea punteada gris) y de Fenton ( $Fe/CA_0$ , línea punteada roja), hasta la hora 14 de tratamiento. Como lo muestra la figura 12, la curva espectral permite visualizar los cambios en los rangos visible (400nm-700nm) confirmando que el carbón activado adsorbe los colorantes a sus estructura. De igual forma es posible observar cambios en la zona de luz UV por Fenton lo cual indica un cambio en la composición y presencia de otros compuestos entre los 200nm y 250nm.

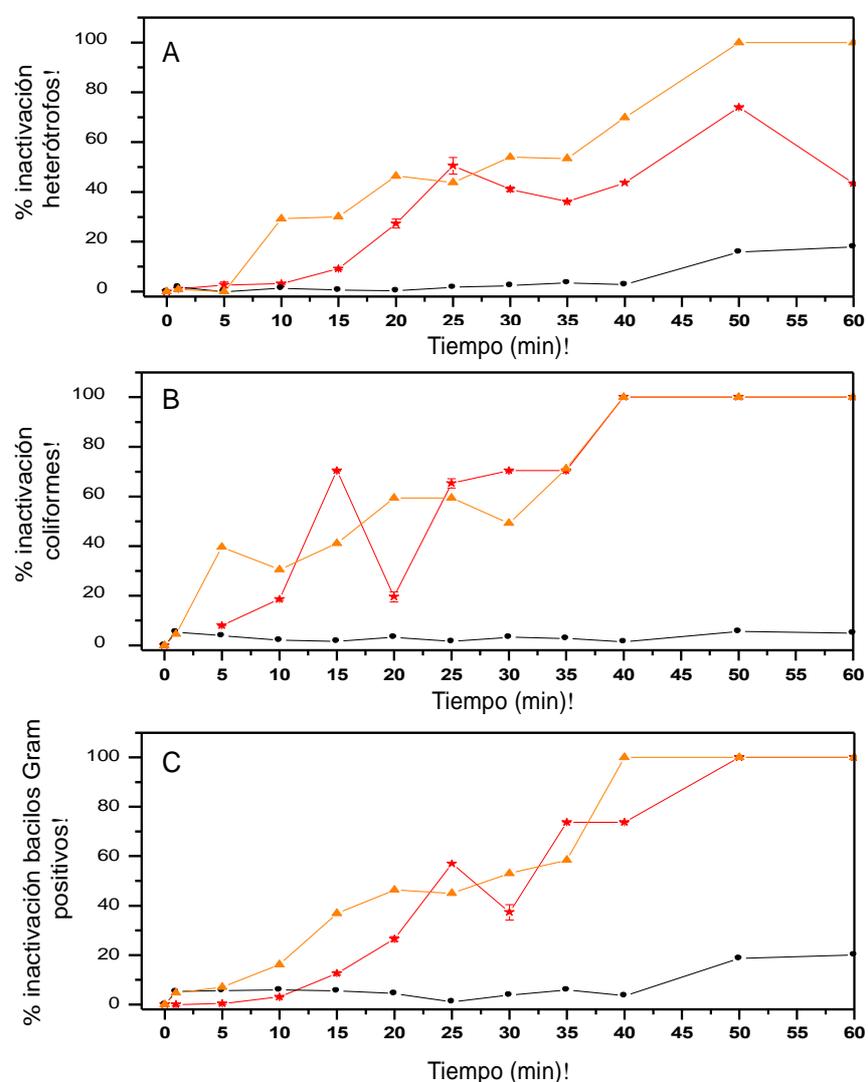


**Figura 12.** Espectros de absorción UV-visible del agua tratada por Fenton heterogéneo  $H_2O_2Fe/CA$ , y carbón activado (CA) como control, desde el agua residual sin tratar (inicial), a la hora 0 ( $H_2O_2Fe/CA_0$ ), ( $CA_0$ ) y a las 14 horas de tratamiento ( $H_2O_2Fe/CA_{14}$ ), ( $CA_{14}$ ).

Como se puede observar, el carbón activado (línea verde) es capaz de adsorber compuestos dentro de los que se encuentran colorantes y otros que no absorben en el rango visible como alcoholes, fenoles, y acetonas. En contraste a lo esperado por el tratamiento Fenton (línea magenta).

### 6.2.2.3 COMPORTAMIENTO DE LA POBLACIÓN MICROBIANA

A continuación la figura 13 presenta el comportamiento de la población microbiana durante el tratamiento Fenton del agua residual.



**Figura 13.** Cinéticas de inactivación de microorganismos

A). heterótrofos, B). coliformes y C). bacilos Gram positivos, mediante el tratamiento Fenton H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>Fe/CA representado por la línea roja y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (naranja) y carbón activado (negro) como controles.

La inactivación de los 3 grupos bacterianos por el tratamiento Fenton ocurre de forma diferente para los 3 grupos bacterianos durante los primeros minutos, los heterótrofos de los 0 a los 15 minutos presentaron una activación máxima del 9%, de los coliformes el 19% de la población se inactivo a los 10 minutos y lo bacilos Gram positivos el 2%. Posteriormente de los 15 a los 20 minutos la inactivación de bacterias heterótrofas aumenta a 29%, lo coliformes se inactivaron rápidamente a los 15 minutos pero luego cae el porcentaje a los 20 minutos por una activación de los mecanismos de resistencia al estrés oxidativo, mientras que de los bacilos Gram positivos se inactivo el 57% a los 25 minutos.

A diferencia de los heterótrofos los coliformes demostraron ser mas sensibles a los radicales oxidantes producidos a partir de la reacción Fenton, el pH ácido y la presencia de peróxido de hidrogeno, ya que a los 40 minutos de tratamiento el porcentaje de inactivación fue el 100%. Los heterótrofos, por su parte, mostraron ser mas resistentes, de los 25 a los 40 minutos el porcentaje cae como consecuencia de la resistencia a la desinfección, logrando un máximo de inactivación a los 60 minutos del 74% de la población. A diferencia de los bacilos quienes a partir de los 50 minutos se inactivo el 100% de la población.

Lo anterior indica que este método no logra una eficiente desinfección del agua ya que la población microbiana total del agua residual a las 14 horas fue de  $1,7 \pm 0,001$  UFC/mL.

Por otro lado, el control de peróxido inactivo mayores porcentajes de heterótrofos que el tratamiento Fenton, y en los primeros minutos de los coliformes y bacilos, sin embargo el comportamiento es similar. De acuerdo al análisis estadístico, el peróxido de hidrogeno es mejor que el Fenton en cuanto a la inactivación de microorganismos se refiere ( $\alpha$ : 0,05 - sig: 0,000).

A continuación la tabla 8 presenta las constantes de inactivación del tratamiento Fenton. La inactivación fue rápida para los 3 grupos con el uso de peróxido de hidrogeno como control. El grupo que mas rápidamente se inactivó fue el de las bacterias heterótrofas ( $0,1924 \text{ min}^{-1}$ ,  $R^2 = 0,9524$ ), el grupo que mostro mayor resistencia fueron los bacilos Gram positivos ( $0,1661 \text{ min}^{-1}$ ,  $R^2 = 0,9627$ ). Resultados similares se encontraron para Fenton: heterótrofos ( $0,1661 \text{ min}^{-1}$ ,  $R^2 = 0,9621$ ), y bacilos Gram positivos ( $0,1924 \text{ min}^{-1}$ ,  $R^2 = 0,9524$ ).

**Tabla 7. Constantes de inactivación de primer orden ( $k$ ) en  $\text{min}^{-1}$  para las 3 poblaciones microbianas por Fenton.**

Constantes de inactivación ( $k$ ) en $\text{min}^{-1}$					
Fenton $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe-CA}$			Peroxido de hidrogeno $\text{H}_2\text{O}_2$		
<i>Bacilos Gram positivos</i>	<i>Coliformes</i>	<i>Heterotrofos</i>	<i>Heterótrofos</i>	<i>Coliformes</i>	<i>Bacilos Gram positivos</i>
$0,1661 \pm 0,23$	$0,1903 \pm 0,06$	$0,1924 \pm 0,07$	$0,1 \pm 0,1$	$0,149 \pm 1,12$	$0,1343 \pm 0,5$
$R^2 = 0,9627$	$R^2 = 0,9874$	$R^2 = 0,9524$	$R^2 = 0,9821$	$R^2 = 0,9793$	$R^2 = 0,9668$

Pese a que las bacterias heterótrofas fueron rápidamente inactivadas en los primeros minutos, no se logro una inactivación completa de los microorganismos. Algunos autores proponen el uso de foto-Fenton para la inactivación y completa desinfección de aguas residuales, así como la inactivación y desinfección de microorganismos por medio del Fenton homogéneo frente al heterogeneo (80). Spuhler y colaboradores 2010, discutieron el efecto de los iones férrico y ferroso y del Foto-Fenton en la inactivación de *E. coli k-12* por sistemas solares. Se encontró en el estudio sobresalio la gran capacidad del for  $\text{Fe}^{3+}/\text{H}_2\text{O}_2/h\nu$ , para inactiva el 355% y remover el COT un 90%, con una velocidad de inactivación de  $(0.212 \text{ min}^{-1} \pm 0.006)$ .

## 7. CONCLUSIONES

Se caracterizó microbiológicamente el agua residual. Se identificó una población de 7,8 logUFC/mL de heterorofos, 6,6 log UFC/mL de coliformes, 6,4 log UFC/mL de bacilos Gram positivos presuntivos de *Bacillus* spp. y 4,7 log UFC/mL de *Pseudomonas* spp. Asimismo se caracterizó fisicoquímicamente el agua residual, dentro de los que se determinó la carga inicial contaminante de DQO de 3751 ppm, DBO<sub>5</sub> de 1693 ppm, y COT 623 ppm entre otros parámetros.

Se evaluaron dos sistemas de oxidación avanzada (Fotocatálisis heterogénea UV/TiO<sub>2</sub> y Fenton heterogéneo H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>Fe/Carbón activado) en el tratamiento del agua residual de los laboratorio 233, 214 y 224 de los Edificios Ángel Valtierra S.J. (Ed. 51) y Felix Restrepo S.J.(Ed. 50) de microbiología para la remoción de color, DQO y COT, y su eficiencia en la desinfección del agua en la remoción de tres poblaciones microbianas presentes en el residual.

El sistema fotocatalítico obtuvo una remoción de DQO UC y COT considerable, sin embargo de acuerdo a la DQO final de 971 mg/L ± 14,1 el agua residual no cumpliría con lo estipulado por el Decreto 3930 de 2010 de MAVDT, por lo cual se proponen algunos ajustes operacionales. Por otro lado, el sistema logro ser eficiente en la desinfección del agua residual al no observarse reactivación secundaria.

El sistema Fenton heterogéneo H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>Fe/Carbón activado obtuvo porcentajes de remoción de materia orgánica y color menores al control con carbón activado. Así mismo, el sistema mostro ser deficiente en la inactivación de microorganismos heterótrofos.

## **8. RECOMENDACIONES**

El agua tratada por los dos procesos de oxidación avanzada requiere de ensayos de ecotoxicidad con el fin de determinar la toxicidad del agua tratada.

Considerar algunas mejoras al sistema de fotocátalisis dentro de las que se incluye la determinación de las concentraciones óptimas de catalizador, el efecto del pH, y la adición de oxígeno.

Identificar las características de soporte de carbón activado y del catalizador, y determinar el peróxido residual y el hierro que se desprende del soporte. Adicionalmente evaluar las concentraciones óptimas de catalizador y peróxido de hidrógeno.

## 9. BIBLIOGRAFIA

1. Ministerio de ambiente, vivienda y desarrollo territorial. Política nacional para la gestión integral del recurso hídrico. [http://www.minambiente.gov.co/documentos/5774\\_240610\\_libro\\_pol\\_nal\\_rec\\_hidri\\_co.pdf](http://www.minambiente.gov.co/documentos/5774_240610_libro_pol_nal_rec_hidri_co.pdf) Consultado el 4 de abril de 2012.
2. Ministerio de ambiente, vivienda y desarrollo territorial plan nacional de manejo de aguas residuales municipales en colombia. [http://portalterritorial.gov.co/apc-aafiles/7515a587f637c2c66d45f01f9c4f315c/PLAN\\_NACIONAL\\_DE\\_MANEJO\\_DE\\_AGUAS\\_RESIDUALES\\_MUNICIPALES\\_EN\\_COLOMBIA.pdf](http://portalterritorial.gov.co/apc-aafiles/7515a587f637c2c66d45f01f9c4f315c/PLAN_NACIONAL_DE_MANEJO_DE_AGUAS_RESIDUALES_MUNICIPALES_EN_COLOMBIA.pdf) Consultado el 4 de abril de 2012.
3. Oller I, Malato S, Sánchez-Perez JA. Combination of advanced oxidation processes and biological treatments for wastewater decontamination review. *Science of The Total Environment* 2011; **409** (20): 4141-4166
4. Mandal T, Maity S, Dasgupta D, Datta S. Advanced oxidation process and biotreatment: Their roles in combined industrial wastewater treatment. *Desalination* 2010, **250**: 87-94.
5. Pedroza A, Martinez M, Rodriguez R, Rosas A. Estudio de efecto de dos inductores y un protectores enzimática sobre la actividad lacasa y MnP producida por *T. versicolor* y su efecto en la decoloración de efluentes papeleros. *Universitas Scientiarum* 2005, **10**: 27-36.
6. Tayade R, Surolia P, Kulkarni R, Jasra R. Photocatalytic degradation of dyes and organic contaminants in water using nanocrystalline anatase and rutile TiO<sub>2</sub>. *Science and Technology of Advanced Materials* 2007; **8**: 455-462.
7. Chen C, Lu C, Chung Y, Jan J. UV light induced photodegradation of malachite green on TiO<sub>2</sub> nanoparticles. *Journal of Hazardous Materials* 2007; **141**: 520-528.
8. Abu-Tariq M, Faisal M, Saquib M, Muneer M. Heterogeneous photocatalytic degradation of an anthraquinone and a triphenylmethane dye derivative in aqueous suspensions of semiconductor. *Dyes and Pigments* 2008; **76** (2): 358-365.
9. Matilainen A, Sillanpää M. Removal of natural organic matter from drinking water by advanced oxidation processes. *Chemosphere* 2010; **80** (4): 351-365.
10. Gogate P, Pandit A. A review of imperative technologies for wastewater treatment I: oxidation technologies at ambient conditions. *Advances in Environmental Research* 2004; **8** (3-4): 501-551.
11. Yap C, Gan S, Ng H. Fenton based remediation of polycyclic aromatic hydrocarbons-contaminated soils. *Chemosphere* 2011; **83** (11): 1414-1430
12. Mazille F, Moncayo-Lasso A, Spuhler D, Serra A, Peral J, Benítez N, Pulgarin C. Comparative evaluation of polymer surface functionalization techniques before iron

- oxide deposition. Activity of the iron oxide-coated polymer films in the photo-assisted degradation of organic pollutants and inactivation of bacteria. *Chemical Engineering* 2010; **160** (1): 176-184
13. Sciacca F, Rengifo-Herrera JA, Wéthé J, Pulgarin C. Dramatic enhancement of solar disinfection (SODIS) of wild *Salmonella* sp. in PET bottles by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> addition on natural water of Burkina Faso containing dissolved iron. *Chemosphere* 2010; **78** (9): 1186-1191.
  14. Malato S, Fernandez P, Maldonado M, Blanco J, Gernjak W. Decontamination and disinfection of water by solar photocatalysis: Recent overview and trends. *Catalysis Today* 2009; **147**: 1-59.
  15. Lücking F, Köser H, Jank M, Ritter A. Iron powder, graphite and activated carbon as catalysts for the oxidation of 4-chlorophenol with hydrogen peroxide in aqueous solution. *Water Research* 1998; **32** (9): 2607-2614.
  16. Ramirez J, Maldonado F, Pérez A, Moreno C, Costa C, Madeira L. Azo-dye Orange II degradation by heterogeneous Fenton-like reaction using carbon-Fe catalysts. *Applied Catalysis B: Environmental* 2007; **75** (3-4): 312-323.
  17. Boateng M, Price S, Huddersman K, Walsh S. Antimicrobial activities of hydrogen peroxide and its activation by a novel heterogeneous Fenton's-like modified PAN catalyst. *Journal of Applied Microbiology* 2011; **111**: 1533-1543
  18. Patel D, Patel K. Synthesis, characterization and application of quinazolinone based reactive dyes for various fibers. *Fibers and Polymers* 2010; **11** (4): 537-544.
  19. Khosa M, Sakhawat S, Nazar M. Uv-visible spectrometric study and micellar enhanced ultrafiltration of alizarin red s dye. *Journal of Dispersion Science and Technology* 2011; **32** (11): 1634-1640
  20. Berenfeld M, Harfouch S, Caputo P. 2012. Rinsable dyes and methods for their preparation. <http://www.freepatentsonline.com/y2012/0004400.html> Consultado el 24 enero 2012.
  21. Bassemir, RW, Bean A. Inks. *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology* 2004
  22. M. Saquib, M. Muneer, TiO<sub>2</sub>-mediated photocatalytic degradation of a triphenylmethane dye (gentian violet), in aqueous suspensions, *Dyes and Pigments* 2003; **56** (1): 37-49
  23. Culp S, Mellick P, Trotter R, Greenlees K, Kodell R, Beland F. Carcinogenicity of malachite green chloride and leucomalachite green in B6C3F1 mice and F344 rats. *Food and Chemical Toxicology*, 2006; **44** (8): 1204-1212
  24. Pathak W, Collie C, Hsu T.C. Cytogenetic toxicity of gentian violet and crystal violet on mammalian cells in vitro, *Mutation Research/Genetic Toxicology* 1978; **58** (2-3): 269-276,
  25. Oplatowska M, Donnelly R, Majithiya R, Kennedy D, Elliott C. The potential for human exposure, direct and indirect, to the suspected carcinogenic triphenylmethane dye Brilliant Green from green paper towels. *Food and Chemical Toxicology* 2011; **49** (8): 1870-1876.

26. Norrby K, Mobacken H. Effect of triphenylmethane dyes (brilliant green, crystal violet, methyl violet) on proliferation in human normal fibroblast-like and established epithelial-like cell lines. *Acta Derm Venereol.* 1972; **52** (6): 476-83.
27. Rana S. Photocatalytic degradation of priority pollutants. Department of biotechnology & environmental sciences. Master thesis Dissertation. Thapar university Patiala, 2009, 89p.
28. Glaze W, Kang J-W, Douglas H. Ozone C. The Chemistry of Water Treatment Processes Involving Ozone, Hydrogen Peroxide and Ultraviolet Radiation. *Science & Engineering* 1987; **4** (9): 335-352
29. Garcia V. Wet oxidation processes for water pollution remediation. **Tesis doctoral.** Universidad de Barcelona, 2006.
30. Chong M-N, Jin B, Chow C, Saint C. Recent developments in photocatalytic water treatment technology: a review. *Water Research* 2010; **44** (10): 2997-3027
31. Rodríguez A., Letón P, Rosal R, Dorado M, Villar S, Sanz J. Tratamientos avanzados de aguas residuales industriales. Informes de Vigilancia Tecnológica CITME CEIM. Madrid, 2006 137p.
32. Choi Y, Young Choi. The effects of UV disinfection on drinking water quality in distribution systems. *Water Research* 2010; **44** (1):115-122.
33. EPA. Ultraviolet disinfection guidance manual for the final long term 2 enhanced surface water treatment rule. EPA's Office of Water 2006, Chapter 2. 1–20.
34. Buchanan W , Roddick F, Porter N. Formation of hazardous by-products resulting from the irradiation of natural organic matter: comparison between UV and VUV irradiation. *Chemosphere* 2006; **63**: 1130-1141
35. Gómez L, Urkiaga A, Gutiérrez M, Fuentes L. Tratamiento de Aguas Residuales - Fotooxidación de verlicos químicos. *Ingeniería Química* 2000; **32** (371): 211-216.
36. Naddeo V, Landi M, Belgiorno V, Napoli R. Wastewater disinfection by combination of ultrasound and ultraviolet irradiation. *Journal of Hazardous Materials* 2009; **168** (2): 925-929.
37. Villanueva C. Fotocatálisis con TiO<sub>2</sub>/ultravioleta y TiO<sub>2</sub> Cu<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>/visible como sistemas de desinfección para inactivar *E. coli* proveniente de agua residual doméstica. **Tesis maestría.** Bogotá – Colombia, 2011.
38. Askeland D. *Ciencia en ingeniería de los materiales.* Tercerda edición. International Thomson Editores. Mexico D.F., Mexico, 1998. 579-581p.
39. Foster H, Ditta I, Varghese S, Steele A. Photocatalytic disinfection using titanium dioxide: spectrum and mechanism of antimicrobial activity. *Applied Microbiology Biotechnology* 2011; **90**, 1847-1868.
40. Pihosh Y, Goto M, Kasahara A, Tosa M. Photocatalytic property of TiO<sub>2</sub> thin films sputtered-deposited on unheated Substrates. *Applied Surface Science* 2009; **256** (4): 937-942.

41. Portela R. Eliminación fotocatalítica de H<sub>2</sub>S en aire mediante TiO<sub>2</sub> soportado sobre sustratos transparentes en el UV-A. **Tesis Doctoral**. Universidad de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, 2008.
42. Rojas N, Sánchez A, Matiz A, Salcedo J, Carrascal A, Pedroza A. Evaluación de tres métodos para la inactivación de coliformes y *Escherichia coli* presentes en agua residual doméstica, empleada para riego. *Universitas Scientiarum* 2010; **15** (2): 139-14.
43. Pedroza A, Mosqueda R, Alonso N, Rodríguez R. Sequential treatment via *Trametes versicolor* and UV/TiO<sub>2</sub>/RuxSey to reduce contaminants in waste water resulting from the bleaching process during paper production. *Chemosphere* 2007; **67**, 793–801.
44. Pozzo R, Baltanás M, Cassano A, Supported titanium oxide as photocatalyst in water decontamination: State of the art. *Catalysis Today* 1997; **39** (3): 219-231
45. Rincón A.G, Pulgarín C. Effect of pH, inorganic ions, organic matter and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> on *E. coli* K12 photocatalytic inactivation by TiO<sub>2</sub> Implications in solar water disinfection. *Applied Catalysis B: Environmental* 2004; **51**: 283-302.
46. Mathews N.R, Morales E.R, Cortés M, Toledo J. TiO<sub>2</sub> thin films influence of annealing temperature on structural, optical and photocatalytic properties. *Solar Energy*, 2009; **83**: 1499-1508.
47. Herrmann J-M. Photocatalysis fundamentals revisited to avoid several misconceptions, *Applied Catalysis B: Environmental* 2010; **99** (3-4): 461-468
48. 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**: 157-178.
49. 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 TiO<sub>2</sub> medium. *Water Science Technology*. 2008; **58** (1):247-252.
50. Fenton H. Oxidation of tartaric acid in presence of iron. *Journal of the Chemical Society Transactions*, 1894; **65**: 899-910.
51. Neyens E, Baeyens J. A review of classic Fenton's peroxidation as an advanced oxidation technique. *Journal of Hazardous Materials*. 2003; **98** (1-3): 33-50
52. Fan H, Huang S, Chung W, Jan J, Lin W, Chen C. Degradation pathways of crystal violet by Fenton and Fenton-like systems: Condition optimization and intermediate separation and identification. *Journal of Hazardous Materials* 2009; **171**:1032-1044.
53. Soon A, Hameed, B.H. Heterogeneous catalytic treatment of synthetic dyes in aqueous media using Fenton and photo-assisted Fenton process. *Desalination* 2011; **269** (1-3): 1-16

54. Pignatello J, Oliveros J, MacKay A. Advanced Oxidation Processes for Organic Contaminant Destruction Based on the Fenton Reaction and Related Chemistry. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* 2006; **36**(1): 1-84
55. Martínez E, López G. Tratamiento químico de contaminantes orgánicos. El proceso Fenton. *Ingeniería Química* 2001; **371**: 149-153
56. Blanco J. Degradación de un efluente textil real mediante procesos Fenton y Foto Fenton. **Tesis maestría**, Universidad Politecnica de Catalunya. Barcelona, España, 2009 152p.
57. American Publics Health Association. *Standar methods for the examination of water and wastewater*. 2005. 21 Edition. United States of America
58. Liu Y, Li J, Qiu X, Burda C. Bactericidal activity of nitrogen-doped metal oxide nanocatalysts and the influence of bacterial extracellular polymeric substances (EPS). *Journal of Photochemistry and Photobiology* 2007; **190**: (1) 94-100.
59. Dwyer D, Kohanski M, James J Collins, Role of reactive oxygen species in antibiotic action and resistance. *Current Opinion in Microbiology* 2009; **12** (5): 482-489
60. Pal A, Pehkonen S, Yu L, Ray M. Photocatalytic inactivation of Gram-positive and Gram-negative bacteria using fluorescent light. *Journal of Photochemistry and Photobiology* 2007; **186** (2-3): 335-341.
61. Kühn K, Chaberny I, Massholder K , Stickler M, Benz V, Sonntag H, Erdinger L. Disinfection of surfaces by photocatalytic oxidation with titanium dioxide and UVA light. *Chemosphere* 2003; **53** (1): 71-77.
62. Liu H-L, Yang T. Photocatalytic inactivation of *Escherichia coli* and *Lactobacillus helveticus* by ZnO and TiO<sub>2</sub> activated with ultraviolet light. *Process Biochemistry* 2003; **39** (4): 475-481
63. Benabbou A, Derriche Z, Feliz C, Lejeune P, Guillard C. Photocatalytic inactivation of *Escherichia coli* Effect of concentration of TiO<sub>2</sub> and microorganism, nature, and intensity of UV irradiation. *Applied Catalysis* 2007; **76**: 257-263.
64. Herrera J.A, Rodríguez J.M, , Viera A, Tello E, Valdés do Campo C, Arana J, Pérez J. The photocatalytic disinfection of urban waste waters. *Chemosphere* 2000; **41** (3): 323-327.
65. Pigeot-Rémy S, Simonet F, Atlan D, Lazzaroni J, Guillard C. Bactericidal efficiency and mode of action: A comparative study of photochemistry and photocatalysis. *Water Research* 2012. In press.
66. Van Grieken R, Marugán J, Pablos C, Furones L, López A. Comparison between the photocatalytic inactivation of Gram-positive *E. faecalis* and Gram-negative *E. coli* faecal contamination indicator microorganisms. *Applied Catalysis* 2010; **100** (1-2): 212-220.

67. Rauf M, Ashraf S. Fundamental principles and application of heterogeneous photocatalytic degradation of dyes in solution. *Chemical Engineering Journal* 2009; **151** (1-3): 10-18.
68. Rauf M, Bukallah S.B, Hammadi A, Soliman A, Hammadi F. The effect of operational parameters on the photoinduced decoloration of dyes using a hybrid catalyst  $V_2O_5/TiO_2$ . *Chemical Engineering Journal* 2007; **129**: 167–172.
69. Saquib M, M. Muneer,  $TiO_2$ -mediated photocatalytic degradation of a triphenylmethane dye (gentian violet), in aqueous suspensions. *Dyes and Pigments* 2003; **56** (1): 37-49.
70. Coronado J, Kataoka S, Tejedor I, Anderson M. Dynamic phenomena during the photocatalytic oxidation of ethanol and acetone over nanocrystalline  $TiO_2$ : simultaneous FTIR analysis of gas and surface species. *Journal of Catalysis* 2003; **219** (1): 219-230.
71. Soutsas K, Karayannis V, Poullos I, Riga A, Ntampeglitis K, Spiliotis X, Papapolymerou G. Decolorization and degradation of reactive azo dyes via heterogeneous photocatalytic processes. *Desalination* 2010; **250** (1): 345-350.
72. O'shea K, Garcia I, Aguilar M.  $TiO_2$  photocatalytic degradation of dimethyl- and diethyl- methylphosphonate, effects of catalyst and environmental factors. *Research on chemical intermediates* 1997; **23**(4): 325-339.
73. Liu Y, Ding B, Dong S. Investigation of the Photocatalytic Degradation of Ethanol and Acetone. *Maximize Comfort: Temperature, Humidity, and IAQ* 2006; **1** (3-4)
74. Alshamsi F, Albadwawi AS, Alnuaimi MM, Rauf M , Ashraf SS. Comparative efficiencies of the degradation of Crystal Violet using UV/hydrogen peroxide and Fenton's reagent. *Dyes and Pigments* 2007; **74**(2):283-287.
75. Mills A. An overview of the methylene blue ISO test for assessing the activities of photocatalytic films. *Applied Catalysis* 2012 Available online.
76. Kaneva N, Stambolova I, Blaskov V, Dimitriev Y, Vassilev S, Dushkin C. Photocatalytic activity of nanostructured ZnO films prepared by two different methods for the photoinitiated decolorization of malachite green. *Journal of Alloys and Compounds* 2010; **500** (2): 252-258.
77. Duarte F, Maldonado F, Pérez A, Madeira L. Fenton-like degradation of azo-dye Orange II catalyzed by transition metals on carbon aerogels. *Applied Catalysis* 2009; **85** (3-4) 139-147.
78. Castro C, Guerreiro M, Gonçalves M, Oliveira L, Anastácio A. Activated carbon/iron oxide composites for the removal of atrazine from aqueous medium. *Journal of Hazardous Materials* 2009; **164**(2-3): 609-614.
79. Karthikeyan S, Titus A, Gnanamani A, Manda AI, Sekaran G. Treatment of textile wastewater by homogeneous and heterogeneous Fenton oxidation processes. *Desalination* 2011; **281**: 438-445.
80. Spuhler D, Rengifo J, Pulgarin C. The effect of  $Fe^{2+}$ ,  $Fe^{3+}$ ,  $H_2O_2$  and the photo-Fenton reagent at near neutral pH on the solar disinfection (SODIS) at low

temperatures of water containing *Escherichia coli* K12. *Applied Catalysis* 2010; **96** (1-2); 126-141.

81. Rey A. Catalizadores de hierro soportado sobre carbón activo para la oxidación catalítica de fenol con peróxido de hidrógeno. **Tesis Doctoral** Universidad Autónoma de Madrid. 2010 Madrid – España
82. De Laat J, Giang-Le T. Effects of chloride ions on the iron (III)-catalyzed decomposition of hydrogen peroxide and on the efficiency of the Fenton-like oxidation process. *Applied Catalysis* 2006; **66** (1-2):137-146.
83. Lyew D, Sheppard J. Use of conductivity to monitor the treatment of acid mine drainage by sulphate-reducing bacteria. *Water Research* 2010; **35** (8): 2081-2086.
84. Al-Momani F, Touraud E, Degorce-Dumas J, Roussy J, Thomas O. Biodegradability enhancement of textile dyes and textile wastewater by VUV photolysis. *Journal of Photochemistry and Photobiology* 2002; **153** (1-3): 191-197.
85. Burke W, Pietuch T, Yee S. Sensitivity of *Bacillus subtilis* sporulation to methylene blue inhibition. *Current Microbiology* 1979; **2** (4): 227-231.
86. Ryu JH, Beuchat LR. Biofilm formation and sporulation by *Bacillus cereus* on a stainless steel surface and subsequent resistance of vegetative cells and spores to chlorine, chlorine dioxide, and a peroxyacetic acid-based sanitizer. *Journal of Food Protection* 2005; **68** (12): 2614-2622.
87. Spectroscopy of Organic Compounds. Disponible en: <http://nsdl.niscair.res.in/bitstream/123456789/793/1/spectroscopy+of+organic+compounds.pdf> Consultado el 10 mayo del 2012.
88. Santos V, Pereira M, Faria P, Orfão J. Decolourisation of dye solutions by oxidation with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in the presence of modified activated carbons. *Journal of Hazardous Materials* 2009; **162**(2-3):736-742.
89. Kurniawan T, Lo W-H. Removal of refractory compounds from stabilized landfill leachate using an integrated H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> oxidation and granular activated carbon (GAC) adsorption treatment. *Water Research* 2009; **43** (16): 4079-4091
90. Dantas T, Mendonça V, José H, Rodrigues A, Moreira R. Treatment of textile wastewater by heterogeneous Fenton process using a new composite Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>/carbon. *Chemical Engineering Journal* 2006; **18**(1-2): 77-82.

## 8. ANEXOS

### 8.1 Analisis estadístico

#### HETERÓTROFOS

##### NORMALIDAD

###### Pruebas de normalidad<sup>b,c,d</sup>

Tx	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Heterotrofos 3,00	,175	3	.	1,000	3	1,000
5,00	,175	3	.	1,000	3	1,000

##### HOMOGENEIDAD DE VARIANZAS

###### Prueba de homogeneidad de varianzas

% inactivación Heterótrofos

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
3,153	4	10	,064

##### DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS ENTRE TRATAMIENTOS

###### ANOVA

% Inactivación Heterótrofos

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	21771,246	4	5442,812	3773,180	,000
Intra-grupos	14,425	10	1,442		
Total	21785,671	14			

##### PRUEBAS POST HOC subconjuntos homogéneos

###### % inactivación Heterótrofos

Tx	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
HSD de Tukey <sup>a</sup> 4,00	3	,0000			
5,00	3		40,4000		
3,00	3			50,5500	
1,00	3				100,0000
2,00	3				100,0000

Sig.	1,000	1,000	1,000	1,000
------	-------	-------	-------	-------

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3,000.

## COLIFORMES

### NORMALIDAD

#### Pruebas de normalidad<sup>b,c</sup>

Tx	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Coliformes 3,00	,175	3	.	1,000	3	1,000
4,00	,175	3	.	1,000	3	1,000
5,00	,175	3	.	1,000	3	1,000

a. Corrección de la significación de Lilliefors

b. Coliformes es una constante cuando Tx = 1,00 y se ha desestimado.

c. Coliformes es una constante cuando Tx = 2,00 y se ha desestimado.

### HOMOGENEIDAD DE VARIANZAS

#### Prueba de homogeneidad de varianzas

% inactivación Coliformes

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
3,313	4	10	,057

### DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS ENTRE TRATAMIENTOS

#### ANOVA

% Inactivación Coliformes

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	18126,930	4	4531,733	1625,151	,000
Intra-grupos	27,885	10	2,788		
Total	18154,815	14			

## PRUEBAS POST HOC subconjuntos homogéneos

### % Inactivación Coliformes

Tx	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
HSD de Tukey <sup>a</sup>					
4,00	3	5,1000			
3,00	3		65,3000		
5,00	3			73,8500	
1,00	3				100,0000
2,00	3				100,0000
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

- a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3,000.

## BACILOS GRAM POSITIVOS

### NORMALIDAD

#### Pruebas de normalidad<sup>b</sup>

Tx	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Bacilos 2,00	,356	3	.	,818	3	,157
3,00	,175	3	.	1,000	3	1,000
4,00	,175	3	.	1,000	3	1,000
5,00	,175	3	.	1,000	3	1,000

- a. Corrección de la significación de Lilliefors

- b. Bacilos es una constante cuando Tx = 1,00 y se ha desestimado.

### HOMOGENEIDAD DE VARIANZAS

#### Prueba de homogeneidad de varianzas

% Inactivación Bacilos

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
3,325	4	10	,056

## DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS ENTRE TRATAMIENTOS

### ANOVA

% Inactivación Bacilos

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	16930,584	4	4232,646	3279,850	,000
Intra-grupos	12,905	10	1,290		
Total	16943,489	14			

PRUEBAS POST HOC subconjuntos homogéneos

### % Inactivación Bacilos

Tx	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
HSD de Tukey <sup>a</sup>					
4,00	3	4,1500			
3,00	3		37,3000		
5,00	3			74,3000	
2,00	3			74,9000	
1,00	3				100,0000
Sig.		1,000	1,000	,963	1,000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3,000.

### % DECOLORACIÓN

NORMALIDAD

#### Pruebas de normalidad

Tx	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Decoloración 1,00	,328	3	.	,871	3	,298
2,00	,385	3	.	,750	3	,000
3,00	,175	3	.	1,000	3	1,000
4,00	,175	3	.	1,000	3	1,000
5,00	,175	3	.	1,000	3	1,000

a. Corrección de la significación de Lilliefors

HOMOGENEIDAD DE VARIANZAS

#### Prueba de homogeneidad de varianzas

% Decoloración

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
2,103	4	10	,155

DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS ENTRE TRATAMIENTOS

**ANOVA**

% Decoloración

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	10720,652	4	2680,163	69,844	,000
Intra-grupos	383,737	10	38,374		
Total	11104,388	14			

PRUEBAS POST HOC subconjuntos homogéneos

% Decoloración

Tx	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
HSD de Tukey <sup>a</sup>				
3,00	3	27,5500		
5,00	3		62,3000	
2,00	3			91,3000
4,00	3			92,1500
1,00	3			99,5333
Sig.		1,000	1,000	,514

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3,000.

**% REMOCIÓN DQO**

NORMALIDAD

**Pruebas de normalidad**

Tx	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
DQO 1,00	,253	3	.	,964	3	,637
2,00	,317	3	.	,888	3	,348
3,00	,189	3	.	,998	3	,908
4,00	,178	3	.	1,000	3	,959
5,00	,190	3	.	,997	3	,903

**Pruebas de normalidad**

Tx	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
DQO 1,00	,253	3	.	,964	3	,637
2,00	,317	3	.	,888	3	,348
3,00	,189	3	.	,998	3	,908
4,00	,178	3	.	1,000	3	,959
5,00	,190	3	.	,997	3	,903

a. Corrección de la significación de Lilliefors

**HOMOGENEIDAD DE VARIANZAS**

**Prueba de homogeneidad de varianzas**

% Remoción DQO

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
4,435	4	10	,026

**DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS ENTRE TRATAMIENTOS**

**ANOVA**

% Remoción DQO

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	6221,697	4	1555,424	40,937	,000
Intra-grupos	379,954	10	37,995		
Total	6601,651	14			

**PRUEBAS POST HOC subconjuntos homogéneos**

% Remoción DQO

Tx	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
HSD de Tukey <sup>a</sup> 5,00	3	35,3000			
2,00	3		54,8400		
3,00	3		65,4667	65,4667	
1,00	3			76,7333	
4,00	3				95,8667
Sig.		1,000	,287	,241	1,000