

CAPÍTULO 3

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Inactivación de Esporas de *Bacillus subtilis* con Fotocatálisis Solar sencilla.

La Figura 3.1 muestra los resultados correspondientes a la inactivación de esporas de *Bacillus subtilis* con radiación solar y en presencia de $\text{Fe}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2$. Los resultados fueron obtenidos por Guísar (2006), en un proyecto que se desarrolló de manera paralela a este proyecto de tesis. Debido a la relevancia e implicaciones que tienen estos resultados en el análisis de desinfección secuencial que persigue este proyecto, se consideró importante incluirlos para su posterior referencia en este apartado. Es importante mencionar que los microorganismos utilizados tanto en el estudio de Guísar como en este fueron exactamente los mismos. Ambos estudios compartieron el mismo stock de esporas de *Bacillus subtilis*. De la misma manera el simulador solar utilizado en el estudio de Guísar 2006 y en el presente fue el mismo, el cual presentó un flujo fotónico de 1.7×10^6 Eins/s.

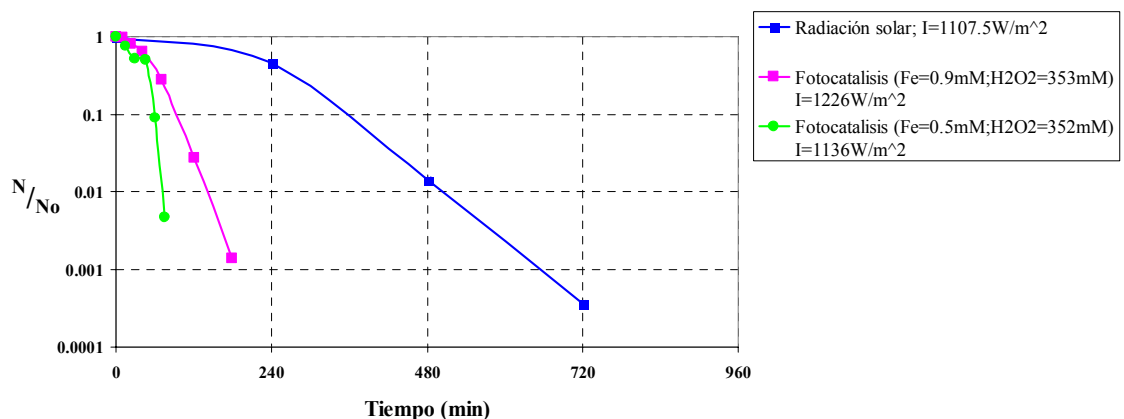


Figura 3.1 Resultados de Inactivación de Esporas de *Bacillus subtilis* con Radiación Solar y Fotocatálisis Solar (20°C) (Guísar, 2006).

Los resultados indican que se requieren aproximadamente 12 horas de exposición a la radiación solar para inactivar el 99.9% de esporas de *B. subtilis* bajo un sol de intensidad de 1,107.5 W/m². Se observa además que el efecto del par catalítico Fe²⁺/H₂O₂ en la viabilidad de esporas es muy significativo. Aquellas esporas expuestas a [Fe²⁺] = 0.9 mM y [H₂O₂] = 352mM requirieron de aproximadamente 2 horas de exposición a la radiación solar para ver afectada su viabilidad en 99%.

No obstante, cuando la concentración de hierro disminuyó a 0.5 mM, el tiempo de exposición requerido para lograr el mismo nivel de inactivación se redujo aproximadamente a 1 hora.

Los resultados reportados por Guísar (2006) indican que la fotocatalisis solar con Fe²⁺/H₂O₂ tienen un claro efecto germicida y posee la capacidad para inactivar a las esporas de *B. subtilis*. Cabe resaltar que debido a su elevada resistencia a la desinfección química, *B. subtilis* ha sido sugerido en otros estudios como indicador de *C. parvum*. Por ello, es muy probable que las dosis reportadas por Guísar sean muy semejantes a las requeridas para controlar la ocurrencia de los ooquistes de *C. parvum* en agua.

3.2 Inactivación de Esporas de *Bacillus subtilis* con Cloro Libre

En la Figura 3.2 se ilustran los resultados correspondientes a la inactivación de esporas de *B. subtilis* con cloro libre. De manera similar a los resultados obtenidos con fotocatalisis solar, la cinética de inactivación de esporas con cloro libre también se caracteriza por la ocurrencia de una fase inicial ($C \times t$ entre 0 y 80 mg-min/L) en la cual

no existe efecto alguno en la viabilidad del microorganismo. Una vez transcurrida esta dosis, las esporas comienzan a ser inactivadas por el cloro libre de manera lineal.

De acuerdo a los datos presentados en la Figura 3.2, la dosis de cloro libre requerida para inactivar 99.9% de las esporas *de B. subtilis* es de aproximadamente 270 mg-min/L. Si se utilizara una concentración de cloro de 4.0 mg/L como Cl₂, entonces el tiempo de contacto requerido para lograr el nivel de inactivación mencionado sería de aproximadamente 70 minutos. Es obvio que un incremento sustancial en la concentración de cloro reduciría los tiempos de contacto. No obstante, la aplicación de cloro en exceso podría resultar en una mayor generación de productos no deseados tales como trihalometanos y ácidos haloacético.

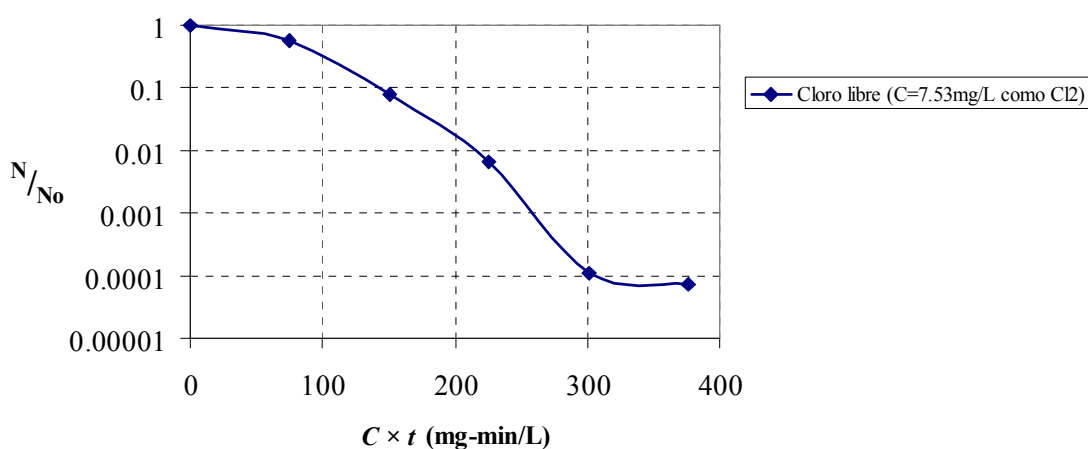


Figura 3.2 Resultado de Inactivación de Esporas de *Bacillus subtilis* con Cloro Libre (pH=6.0, 20°C).

Al igual que en los resultados de fotocátalisis solar las ordenadas expresan la fracción viable de microorganismos (N/N_0), y en este caso el eje de las abscisas denotan el producto de la concentración de cloro y el tiempo de contacto utilizado para cada muestra en particular ($C \times t$).

Para poner en perspectiva los resultados obtenidos con cloro, la Figura 3.3 muestra una comparación de éstas con los reportados en otro estudio (Pang, 2001). A pesar de las pequeñas diferencias en concentraciones de cloro y pH entre ambos estudios, las cinéticas de inactivación reportadas son prácticamente las mismas.

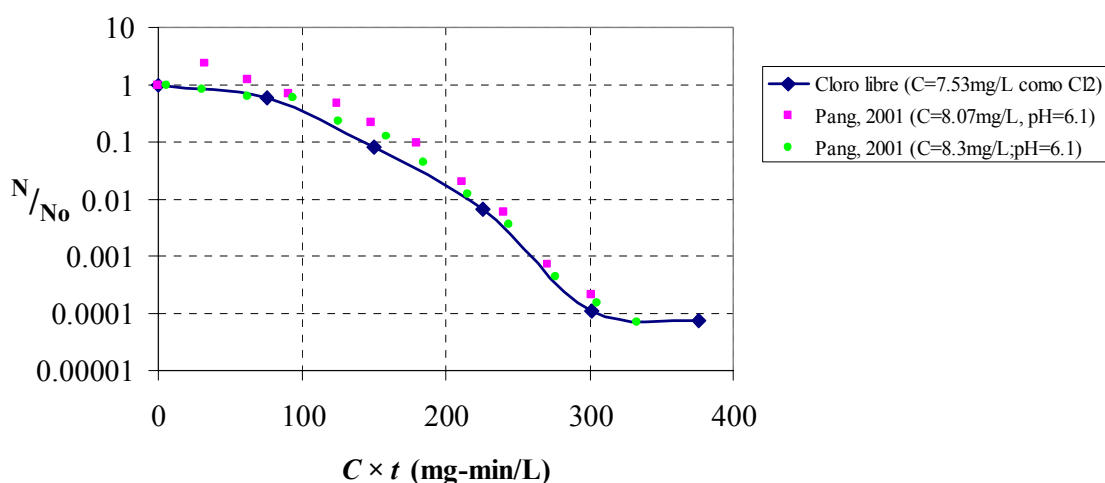


Figura 3.3 Comparación de la Inactivación de Esporas de *Bacillus subtilis* con Cloro Libre con los Experimentos Realizados por Maria Pang ($\text{pH}=6.0$; 20°C).

3.3 Inactivación Secuencial de Esporas de *Bacillus subtilis* con Fotocatálisis Solar Seguida de Cloro Libre.

En las Figuras 3.4 y 3.5 se presentan los resultados correspondientes al tratamiento primario de *B. subtilis* con fotocátalisis solar y su subsecuente tratamiento con cloro libre, respectivamente.

Para el tratamiento primario con fotocátalisis se emplearon concentraciones de $[\text{Fe}^{2+}] = 0.5 \text{ mM}$, $[\text{H}_2\text{O}_2] = 352 \text{ mM}$, y además el tiempo de exposición utilizado fue de 20 minutos. En base a lo observado en la Figura 3.4, resulta evidente que la dosis seleccionada para pretratar esporas en este primer experimento exploratorio resultó

corta y no tuvo efecto en la viabilidad del microorganismo. Las muestras tomadas del reactor a los tiempos 0', 10' y 20' observaron los mismos conteos de unidades formadoras de colonias.

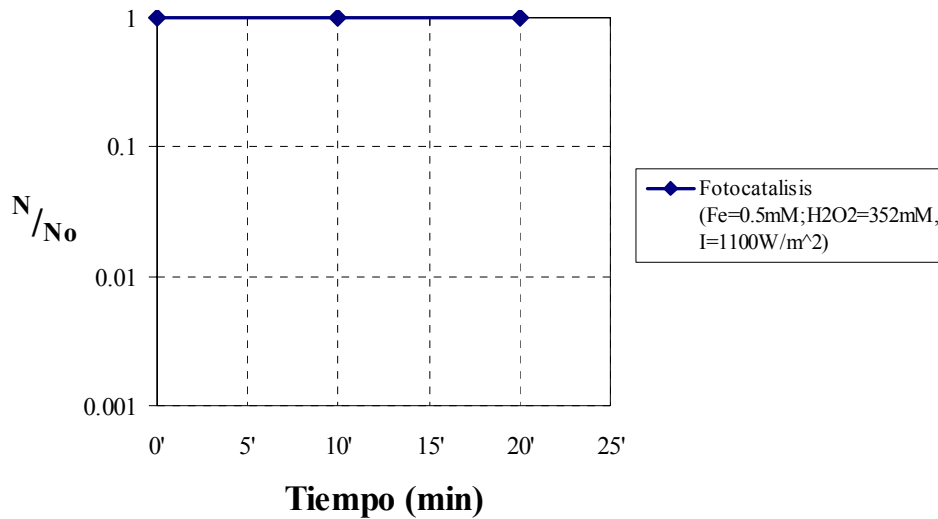


Figura 3.4 Resultado de Inactivación de Esporas de *Bacillus subtilis* con Fotocatalisis Solar Prueba #1. (20°C)

Cuando las esporas pretratada con fotocatalisis fueron expuestas al cloro, éstas correspondieron al desinfectante de manera casi idéntica a como lo habían hecho sin pretratamiento alguno (ver Figura 3.5). Resulta interesante observar cómo la aplicación limitada de la reacción foto-Fenton sobre las esporas no produce alteración alguna en ellas y éstas son capaces de soportar la acción oxidante del cloro como si estuvieran intactos.

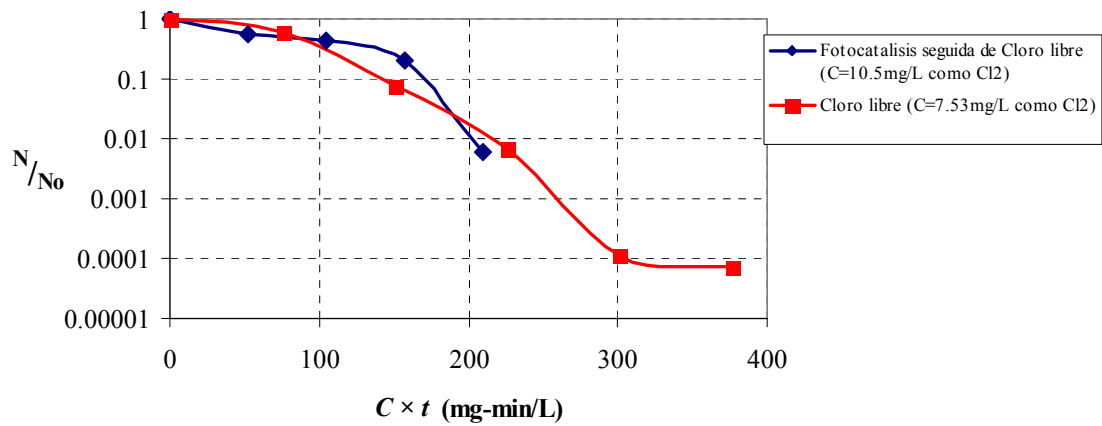


Figura 3.5 Resultado de Inactivación de Esporas de *Bacillus subtilis* con Fotocatalisis Solar Seguida de Cloro Libre y Cloro Libre Prueba #1 (pH=6.0;20°C).

En virtud a los resultados obtenidos en el experimento secuencial exploratorio, se decidió realizar una segunda prueba en la que la dosis de fotocatalisis afectara notoriamente a las esporas. Se propuso aplicar las mismas concentraciones de fierro y peróxido de hidrógeno que las usadas en el experimento #1, sólo que esta vez el tiempo de exposición a la radiación solar artificial aproximada de 1,100 W/m² sería de 60 minutos. Los resultados procesados en la Figura 3.6 demuestran que en esta segunda prueba se logró reducir la viabilidad de la población de esporas al 10% de su valor original.

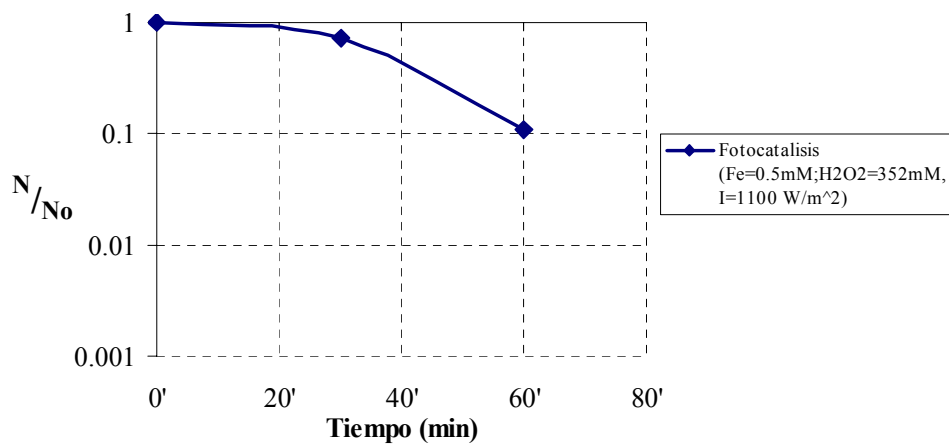


Figura 3.6 Resultado de Inactivación de Esporas de *Bacillus subtilis* con Fotocatalisis Solar Prueba #2 (20°C).

De forma similar a lo realizado en la prueba #1, las esporas pretratadas fueron expuestas a cloro libre. Los resultados de esta segunda etapa del tratamiento secuencial se muestran en la Figura 3.7. Contrario a lo observado en la prueba #1, el pretratamiento con fotocátalisis elegido para la segunda prueba produce cambios importantes en la cinética de inactivación del cloro libre. Ahora la cinética se caracteriza por una caída súbita en la viabilidad durante los tiempos de contacto cortos, pero esta caída se suaviza casi de manera inmediata (a partir de los 8 min. de tiempo de contacto) y de hecho se convierte en una fase prolongada con muy escasa inactivación. Nuevamente, la cinética asociada con cloro “secundario” alcanza a la obtenida originalmente por cloro solo, y a reserva de confirmarse experimentalmente en estudios posteriores, ésta desarrolla tasas de inactivación subsecuentes muy similares a la del cloro solo después de “reunirse” con ella.

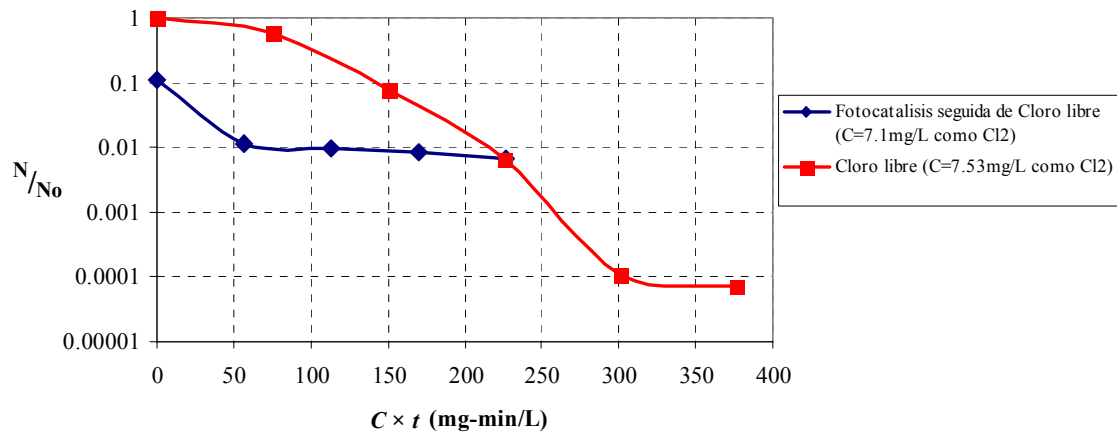


Figura 3.7 Resultado de Inactivación de Esporas de *Bacillus subtilis* con Fotocátalisis Solar Seguida de Cloro libre y Cloro libre Prueba #2 (pH=6.0;20°C)

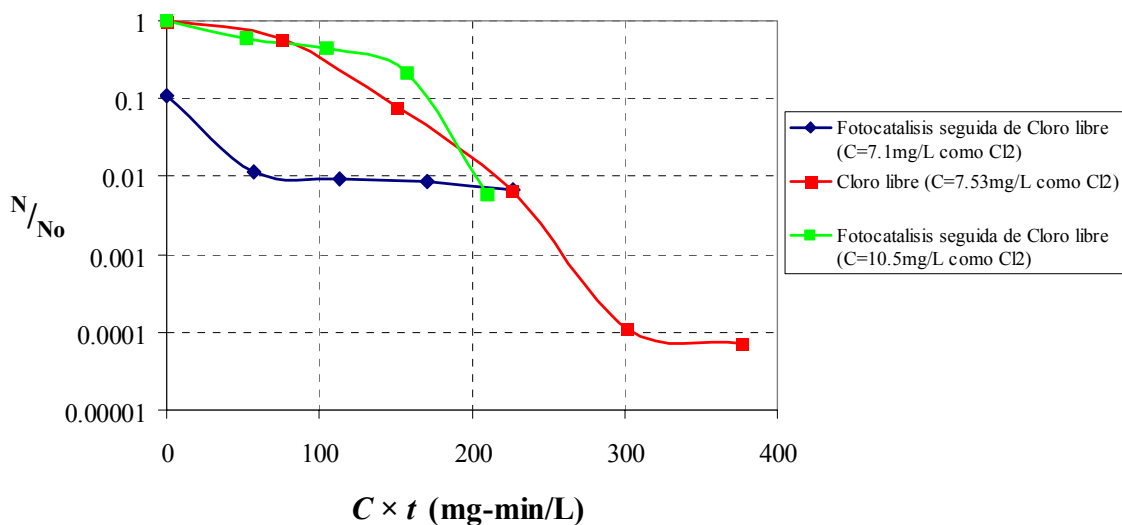


Figura 3.8 Efectos Observados en la Inactivación Secuencial de Esporas de *Bacillus subtilis* con Cloro Libre Después de Fotocatálisis Solar.

En la Figura 3.8 se observa que en la prueba #1 la cinética de inactivación se caracteriza por una caída gradual en la viabilidad durante los tiempos de contacto cortos, en cambio en la prueba # 2, la cinética se caracteriza por tener una caída súbita en los mismos tiempos de contacto. Después de la caída, la cinética de inactivación se estabiliza convirtiéndose en una etapa de muy escasa inactivación para ambas pruebas, a continuación la cinética se asocia con la de cloro “secundario” y alcanza a la obtenida originalmente por cloro solo.

Al analizar los efectos producidos en los microorganismos por diferentes niveles de fotocatálisis solar se recomienda realizar más experimentos con las mismas condiciones pero con tiempos de exposición mayores a los utilizados. Es probable que exista una relación directa entre el nivel de pretratamiento con fotocatálisis solar y la magnitud de la caída inicial observada en la cinética de inactivación. Si la aplicación de mayores niveles de fotocatálisis solar resultara en caídas iniciales más pronunciadas,

entonces el potencial de los procesos secuencial para inactivar no solo esporas de *B. subtilis* sino también otros microorganismos patógenos sería sumamente significativo.

Por último se concluye que con los resultados obtenidos con anterioridad no se puede determinar si el efecto de desinfección secuencial es efectivo o no, ya que para corroborar estos resultados se recomienda realizar más experimentos con diferentes concentraciones de cloro, condiciones de temperatura y pH para poder llegar a una decisión final acerca de los efectos de la desinfección secuencial ya que en esta tesis se realizaron experimentos preliminares que no permiten definir con certeza estos efectos.

3.4 Efecto de la combinación de Fotocatálisis Solar seguida de Cloro Libre en la Viabilidad de Huevos de Helminto.

Las esporas de *Bacillus subtilis* son uno de los microorganismos más resistentes a la desinfección química y por ello se utilizan como indicadores de *C. parvum*. Los huevos de helminto por su parte son microorganismos sumamente resistentes y se utilizan como indicadores en el agua residual. A pesar de las fuertes diferencias que existen entre ambos microorganismos en términos de composición química y biológica (por ejemplo que el exterior de una spora es una capa gruesa abundante en proteínas, mientras que en el caso de los huevos de helmintos se tiene una capa mas delgada rica en proteínas y lípidos) se puede esperar que las dosis probadas para inactivar esporas de *Bacillus subtilis* con catalizador y con cloro resultarían al menos como guías importantes para determinar los efectos de los mismos tratamientos en huevos de helmintos.

Por supuesto que estas “extrapolaciones” deben de corroborarse experimentalmente, y estos experimentos se realizarán posteriormente a este trabajo de tesis en los laboratorios de la Universidad de las Américas, Puebla.