

Evaluación de tres métodos para la inactivación de coliformes y *Escherichia coli* presentes en agua residual doméstica, empleada para riego

Naydú Rojas-Higuera¹, Andrea Sánchez-Garibello¹, Adriana Matiz-Villamil², Juan Carlos Salcedo-Reyes³, Ana Karina Carrascal-Camacho⁴, Aura M. Pedroza-Rodríguez^{1*}

¹Laboratorio de Microbiología Ambiental y Suelos, ²Laboratorio de Biotecnología Aplicada, ⁴Laboratorio de Microbiología de Alimentos. Grupo de Biotecnología Ambiental e Industrial (GBAI). Departamento de Microbiología. ³Grupo de Películas Delgadas. Departamento de Física. Facultad de Ciencias. Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, D.C. Colombia.

* apedroza@yahoo.com

Recibido: 23-06-2010; Aceptado: 14-08-2010

Resumen

Objetivo. Evaluar tres tratamientos (lagunaje, fotocatalisis con TiO₂ y desinfección química) para la inactivación de coliformes totales y *Escherichia coli* presentes en agua residual doméstica empleada para riego agrícola. **Materiales y métodos.** El agua residual fue caracterizada por medio de análisis físicos, químicos y microbiológicos. Posteriormente fue sometida a un tratamiento de lagunaje facultativo (TLF), pos tratamiento fotocatalítico (PTFTiO₂/UV) y pos tratamiento químico (PTQ NaClO). Valorando la capacidad desinfectante de cada uno de ellos para inactivar coliformes totales y *E. coli*. A continuación se procesaron tres nuevos lotes de agua residual y se utilizaron para realizar pruebas de riego a escala de laboratorio por 30 días, empleando como modelo plantas de *Lactuca sativa* variedad Batavia y evaluando la concentración inicial y final de los dos grupos. **Resultados.** El PTFTiO₂/UV fue significativamente superior que TLFLF y el PTQ NaClO (p<0,0001) obteniendo 100% de inactivación para coliformes y *E. coli* a los 30 minutos de irradiación a escala de reactor. Respecto a las pruebas de riego de *L. sativa* se demostró que al utilizar el agua tratada por PTFTiO₂/UV no se presentó contaminación con *E. coli* y coliformes a los 30 días de proceso. Por el contrario en las plantas regadas con agua tratada por TLF y PTQ NaClO se observó un incremento en las dos poblaciones generando un problema de contaminación de las hortalizas al finalizar la prueba de laboratorio. **Conclusión.** La fotocatalisis heterogénea TiO₂ fue un método eficaz para la reducción de coliformes y *E.coli* en aguas residuales domésticas.

Palabras clave: fotocatalisis heterogénea, calidad higiénica, *Lactuca sativa*

Abstract

Evaluation of three methods for the inactivation of coliforms and *Escherichia coli* present in domestic wastewaters used in irrigation. Objective. To evaluate three treatments (facultative stabilization ponds, heterogeneous photocatalysis with TiO₂ and chemical disinfection with sodium hypochlorite) for the inactivation of coliforms and *Escherichia coli* present in domestic wastewaters used in agricultural irrigation. **Materials and methods.** Wastewater was characterized by physical, chemical and microbiological analyses and was then exposed to a facultative pond treatment (FPT), post-photocatalytic treatment (PTFTiO₂/UV) and post-chemical treatment (PTQNaClO) to assess the disinfecting capacity of each method in the inactivation of total coliforms and *E. coli*. Three new samples of wastewater were processed and used in irrigation tests on a laboratory-scale basis for 30 days, using *Lactuca sativa* cultivar. Batavia as a model plant and evaluating the initial and final concentrations of the two groups. **Results.** PTFTiO₂/UV was significantly higher than FPT and PTQNaClO (p<0.0001), obtaining 100% of inactivation of coliforms and *E. coli* after 30 minutes of irradiation at a reactor scale. Regarding the irrigation tests with *L. sativa*, we showed that using water treated by PTFTiO₂/UV there is no contamination with *E. coli* and coliforms after 30 days. On the contrary, plants irrigated with water treated by FPT and PTQNaClO showed an increase in the two populations originating a

contamination problem in the vegetable by the end of the laboratory experiments. **Conclusion.** The heterogeneous photocatalysis with TiO_2 was an effective method in the reduction of coliforms and *E. coli* present in domestic wastewater.

Key words: heterogeneous photocatalysis, hygienic quality, *Lactuca sativa*

Resumo

Avaliação de três métodos para a inativação de coliformes totais e *Escherichia coli* presentes em águas residuais domésticas utilizadas para a irrigação. Objetivo. Avaliar três tratamentos (lagoas, fotocatalise com TiO_2 e desinfecção química) para inativação de coliformes totais e *Escherichia coli* presentes em águas residuais domésticas utilizadas na irrigação dos cultivos. **Materiais e métodos.** O efluente foi caracterizado por análises físicos, químicos e microbiológicos. Posteriormente foi submetido a tratamento de lagoas facultativas (TLF), pós-tratamento fotocatalítico ($\text{PTF}_{\text{TiO}_2/\text{UV}}$) e pós-tratamento químico ($\text{PTQ}_{\text{NaClO}}$). Avaliando a capacidade desinfetante de cada um para inativar coliformes totais e *E. coli*. Posteriormente, foram processados três novos lotes de águas residuais para testar a irrigação em escala de laboratório por 30 dias, utilizando-se como modelo plantas de *Lactuca sativa* variedade Batavia e avaliando a concentração inicial e final dos dois grupos. **Resultados.** O $\text{PTFTiO}_2/\text{UV}$ foi significativamente maior a TLFLF e PTQ NaClO ($p < 0,0001$) apresentando 100% de inativação para coliformes e *E. coli* em 30 minutos de irradiação a escala do reator. Quanto aos testes de irrigação de *L. sativa* foi demonstrado que, ao utilizar a água tratada com $\text{PTFTiO}_2/\text{UV}$ não se apresentou contaminação com *E. coli* e coliformes a 30 dias do tratamento. Em contrapartida, em plantas irrigadas com água tratada por TLF e PTQ NaClO observou-se um aumento nas duas populações gerando um problema de contaminação de hortaliças no final do teste de laboratório. **Conclusão.** A fotocatalise heterogênea TiO_2 foi um método eficaz para reduzir coliformes e *E. coli* em águas residuais domésticas.

Palavras-chave: foto-catálise heterogênea, qualidade higiênica, *Lactuca sativa*

Introducción

En los últimos 10 años, los agricultores han incorporado en sus prácticas agrícolas el uso de aguas recicladas, debido a que los recursos hídricos naturales paulatinamente se están reduciendo (1), este tipo de agua constituye un riesgo al traer microorganismos patógenos que pueden llegar a los cultivos (2). Parte de esta agua proviene de lagunas de oxidación, donde se han realizado tratamientos primarios para reducir la carga orgánica (3). La sabana de Bogotá, es una de las fuentes de hortalizas más grandes de país, es frecuente el uso de estas aguas de riego recicladas. Sin embargo, a pesar de tener un tratamiento biológico previo, no se garantiza la calidad microbiológica debido a la carga biológica tan elevada que ingresa a las lagunas de oxidación de modo que, si bien se logra reducir la concentración de bacterias, no es apta para riego. Tradicionalmente se utiliza la desinfección con cloro para eliminar microorganismos en aguas residuales y potables; por su bajo costo, facilidad de adquisición y efectividad comprobada. No obstante, este método químico tiene desventajas como su inactivación en presencia de materia orgánica, generación de olores, posible formación de intermediarios tóxicos como cloraminas y trihalometanos (4). Por estas razones recientemente, se han desarrollado otras alternativas de inactivación como los procesos de oxidación avanzada (POAs), dentro de los que se destaca la fotocatalisis heterogénea con TiO_2 . El efecto desinfectante o esterilizador de un semiconductor (catalizador) se basa en la generación de pares electrón-hueco y su posterior recombinación en procesos de transferencia de carga interfacial (oxidativos o reductivos), en presencia de radiación electromagnética

con energía mayor que la brecha de energía prohibida del semiconductor ($E_g \sim 3.4 \text{ eV}$). Se ejerce, de esta manera, un efecto inactivador sobre la población microbiana expuesta mediante la oxidación del agua adsorbida en la superficie del TiO_2 para formar especies fuertemente oxidantes, como los radicales hidroxilo ($*\text{OH}$), que son considerados los principales responsables del daño celular en los microorganismos (5,6).

El objetivo de este trabajo fue evaluar la efectividad de tres tratamientos: Biológico (lagunaje facultativo), físico (TiO_2/UV) y químico (NaClO) como alternativas para la reducción o eliminación de coliformes totales y *Escherichia coli* presentes en agua residual doméstica empleada para riego de *Lactuca sativa* variedad Batavia.

Materiales y métodos

Muestreo de agua residual

El agua residual doméstica se obtuvo de una planta de tratamiento ubicada a 35 Km de Bogotá; región que cuenta con una temperatura promedio de 13°C , una precipitación anual de 890 mm y se encuentra a una altura que oscila entre los 2600 m sobre el nivel del mar (7).

Respecto a la caracterización inicial se realizaron determinaciones para demanda biológica de oxígeno al quinto día (DBO_5), demanda química de oxígeno (DQO), (Método 5210B) (8), sólidos suspendidos totales (SST)

(Método 2540 D), (7) sólidos disueltos totales (SDT) (Método 2540 C) (8), sólidos sedimentables (SS) y sólidos totales (ST), unidades de color (UC), materia orgánica (MO), fósforo total (F_T) (Método 4500-P B y E), (8) y nitrógeno total (N_T), (8). Adicionalmente, se realizó recuento de coliformes totales y *Escherichia coli* en agar Chromocult (Método 9223), (8).

Tratamiento de lagunaje facultativo (TLF)

El tratamiento de lagunaje facultativo o TLF consistió en una planta de tratamiento de aguas residuales (PTAR) la cual estaba compuesta por un pre tratamiento (rejillas de cribado), tratamiento primario (desarenadores y trampa de grasa) y lagunas biológicas (aeróbica, facultativa primaria y facultativa secundaria). Con un tiempo de retención de 24 horas. Para evaluar la eficiencia del TLF se realizaron muestreos iniciales y finales en los puntos en los que ingresa y sale el agua de la PTAR, realizando análisis físicos, químicos y microbiológicos.

Pos tratamiento fotocatalítico con TiO_2 (PTFTiO₂/UV)

Elaboración de películas de dióxido de titanio

Se utilizaron láminas de vidrio de (20 mm x 26 mm) como sustrato, se lavaron y desengrasaron con agua-etanol-acetona-agua (9). La superficie del SiO_2 se modificó con H_2O_2/H_2SO_4 3:1 por 20 minutos (9). Las películas se crecieron por inmersión simple en solución de TiO_2 USP al 1% (m/v) y 500 μ l de HNO_3 (pH 1,3). Se sedimentaron por 8 horas a 50 °C y se calcinaron a 450° C por 1 hora (2). La superficie de las películas se observó por microscopía electrónica de barrido y se realizó difracción de rayos X (9). Adicionalmente, para valorar la adhesión del TiO_2 al sustrato se le realizó una prueba de desprendimiento que consistió en sonicar la películas crecidas a 50 y 450 °C por 15 minutos; se dejaron secar a 20 °C y nuevamente se determinó el peso de TiO_2 descontando el peso de la lámina de vidrio (9).

El sistema fotocatalítico o pos tratamiento (PTFTiO₂/UV) estaba compuesto por tres reactores cilíndricos de cuarzo con un volumen total de 200 ml, los cuales fueron operados al 60% de su capacidad. Cada uno de ellos estaba colocado sobre un agitador horizontal a 100 rpm, contenía 4 películas de dióxido de titanio (249 μ g TiO_2 /mg de sustrato), sensor de temperatura y puertos de muestreo para retirar el agua tratada. Externamente se instalaron 2 lámparas de 15 W. A cada reactor se le adicionaron 120 ml del agua residual pre tratada por el TLF con poblaciones iniciales de coliformes

totales y *E. coli* de 4 U log y 3 U log. Después de un periodo de estabilización por 30 minutos en oscuridad se inició la irradiación durante 30 minutos; al finalizar el proceso se cuantificaron las poblaciones de *E. coli* y coliformes totales.

Pos tratamiento químico con cloración (PTQNaClO)

El sistema químico consistió en tres reactores de vidrio de 1000 ml que contenían 548,13 ml del agua residual pre tratada con el TLF y 1,87 ml de hipoclorito de sodio (200 ppm). La solución desinfectante se dejó reaccionar con el agua por 8 horas a temperatura de 20 °C y se realizaron recuentos de coliformes y *E. coli*.

Para determinar diferencias significativas entre tratamientos se realizó una comparación de medias por medio de una prueba de Turkey con el programa estadístico SAS 6.0 para Windows.

Evaluación de la calidad microbiológica del agua residual tratada empleando como modelo de riego a *Lactuca sativa* var *Batavia* a escala de laboratorio.

Se realizaron tres nuevos montajes para cada uno de los tratamientos (TLF, PTFTiO₂/UV y PTQNaClO) los cuales fueron muestreados en los tiempos de retención hidráulica correspondientes a cada tratamiento. El experimento se realizó usando 80 plantas de *Lactuca sativa* var. *Batavia* con cuatro semanas de desarrollo y 5 hojas verdaderas. Se realizó un análisis microbiológico inicial sembrando en agar Chromocult para determinar la presencia de coliformes totales y *E. coli* en la zona aérea, radicular y en el suelo. Posteriormente, las plantas se sembraron en 30 g de suelo abonado estéril; se adicionaron diariamente 4 ml de agua desinfectada por cada tratamiento y como control se utilizó agua destilada esterilizada a 121 °C, 15 l atm., por 15 minutos. A los 30 días, se recolectaron hojas, raíces y suelo para realizar los mismos recuentos que al inicio del experimento. Se realizó una comparación de medias entre tratamientos tomando como variable dependiente las unidades formadoras de colonia expresadas como logaritmo en base 10 (U log) y se utilizó el programa estadístico SAS 9.0.

Resultados

Tratamiento de lagunaje facultativo (TLF)

El TLF removió eficientemente algunos de los parámetros físico-químicos como sólidos sedimentables SS (100%),

demanda bioquímica de oxígeno DBO_5 (>30% de remoción en carga para residuales domésticos generados por usuarios existentes) y demanda química de oxígeno DQO (>30% de remoción en carga). Cumpliendo así con los límites básicos de vertimiento a un cuerpo de agua para residuales domésticos según el artículo 72 del decreto 1594/1984 del Ministerio de Salud. No obstante, algunas de las determinaciones realizadas en este estudio no están contempladas en el decreto y se observó que los porcentajes de remoción son bajos, generando un incremento en la concentración de nutrientes responsables de los problemas de eutroficación, aspecto coloreado y presencia de coliformes totales y *E. coli*. Es el caso de la MO (48%), F_T (25%), N_T (0%), SST (32%), UC (6%) y poblaciones de coliformes totales y *E. coli* de 4 y 3 U log. De acuerdo con los resultados obtenidos el TLF que asoció sistema primario y biológico, no fue suficiente para eliminar los microorganismos responsables de la contaminación de aguas para uso agrícola y para ciertos parámetros los valores de vertimiento fueron elevados (Tabla 1).

Pos tratamiento fotocatalítico con TiO_2 (PTFTiO₂/UV)

Elaboración de las películas y caracterización

Con relación a las características superficiales de las películas de TiO_2 se observó en las fotografías de microscopía electrónica de barrido que presentan una superficie rugosa, irregular, porosa y no tienen un tamaño

de grano homogéneo. El cual varió entre 7,5 y 12,5 $\mu m \pm 1,87$. Sin embargo, al calcinarlas por 1 hora a 450 °C se mejoró sustancialmente la homogeneidad, adhesión al sustrato y se presentó menor desprendimiento del óxido semiconductor. En las películas secadas a 50 °C la cantidad de TiO_2 depositado fue de 94 $\mu g/mg$ y al finalizar la prueba de sonicación la cantidad de TiO_2 residual fue de 4,5 $\mu g/mg$. Por el contrario en las películas calcinadas la concentración inicial del TiO_2 fue de 30,6 $\mu g/mg$ y al finalizar la sonicación el valor fue de 30,5 $\mu g/mg$ lo que equivale a un porcentaje de desprendimiento del 0,32% valor más bajo que el obtenido a 50 °C que fue del 95% (Figura 1).

La figura 2 presenta el patrón de difracción de rayos X para una película calcinada a 450 °C, en la cual se observan los picos 27,4° y 36,08° que corresponden a los planos (101), (110) para rutilo. Para anatasa se presentaron los picos 25,28°, 37,80° equivalentes a los planos (101) y (004).

Pruebas de inactivación fotocatalítica a escala de laboratorio

Al evaluar el potencial desinfectante de la fotocatalisis heterogénea con TiO_2 (PTFTiO₂/UV) como pos tratamiento al TLF se observó que a los 30 minutos de irradiación los porcentajes de inactivación para *E. coli* y coliformes totales fueron del 100% con un pH final de 8,2. Partiendo de unas concentraciones iniciales de 3 y 4 unidades logarítmicas (U log₁₀) para cada población (Figura 3).

Tabla 1. Caracterización física, química y microbiológica del agua residual entrada y salida de PTAR.

Parámetro	Entrada PTAR	Salida PTAR	Remoción %	Decreto 1594/84 Límite de vertimientos
Materia orgánica mg/L	221	114	48	ND
Fósforo Total mg/L P	4,08	3,06	25	ND
Nitrógeno Total mg/L N	30	43	0	ND
SST mg/L	162	111	32	100
SS Cm/L/h	1,2	0	100	2 ml/L
DBO_5 mg/L O ₂	263	162	38	60
DQO mg/L O ₂	589	304	48	120
Unidades de color	283,7	267,8	6	50
pH	7,6	7,4		5 – 9,0
<i>E. coli</i> UFC/mL	6x10 ³	1x10 ³	83	—
Coliformes UFC/mL	1x10 ⁵	1x10 ⁴	90	5000 NMP/100mL

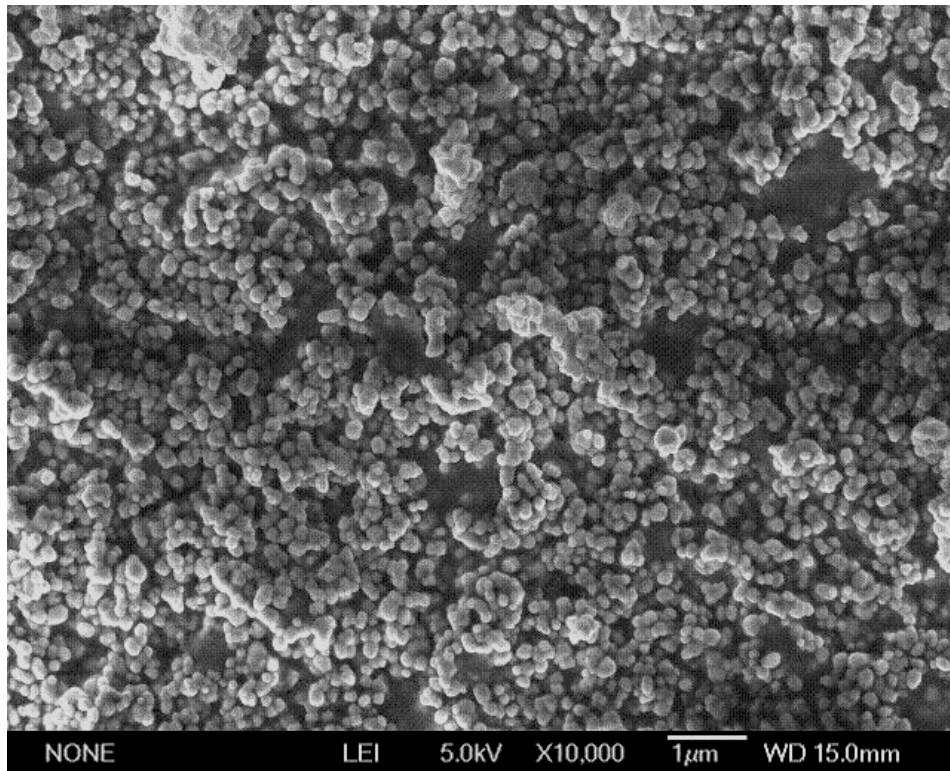
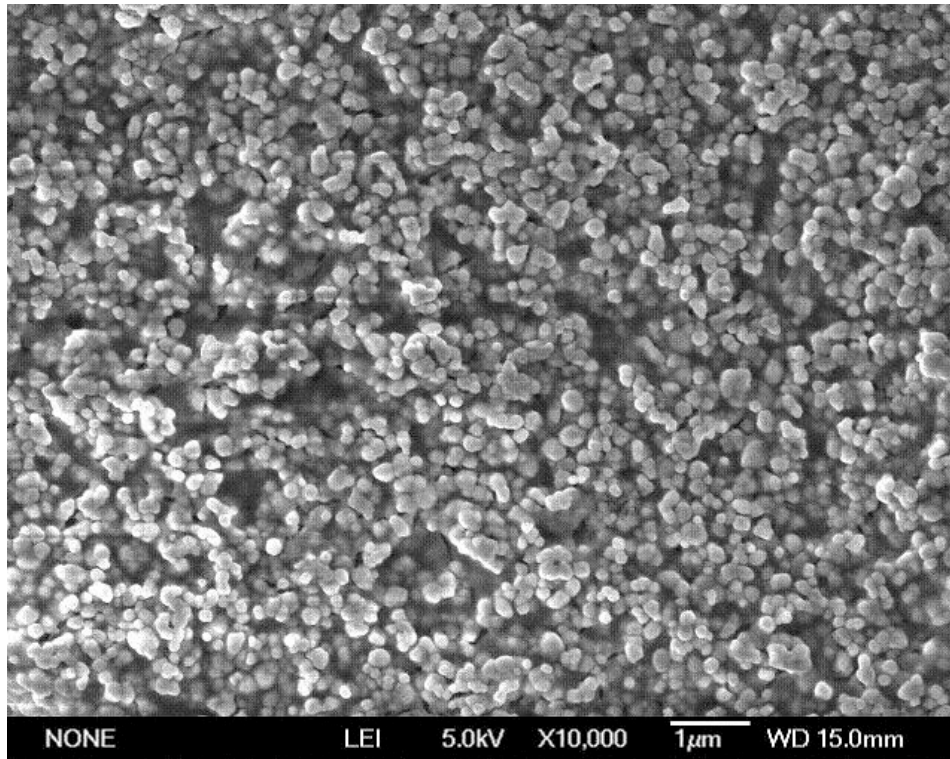


Figura 1. Microscopía electrónica de barrido para películas de TiO₂ crecidas por sedimentación simple. (a) calcinación a 450 °C. (b) secado a 50 ° C

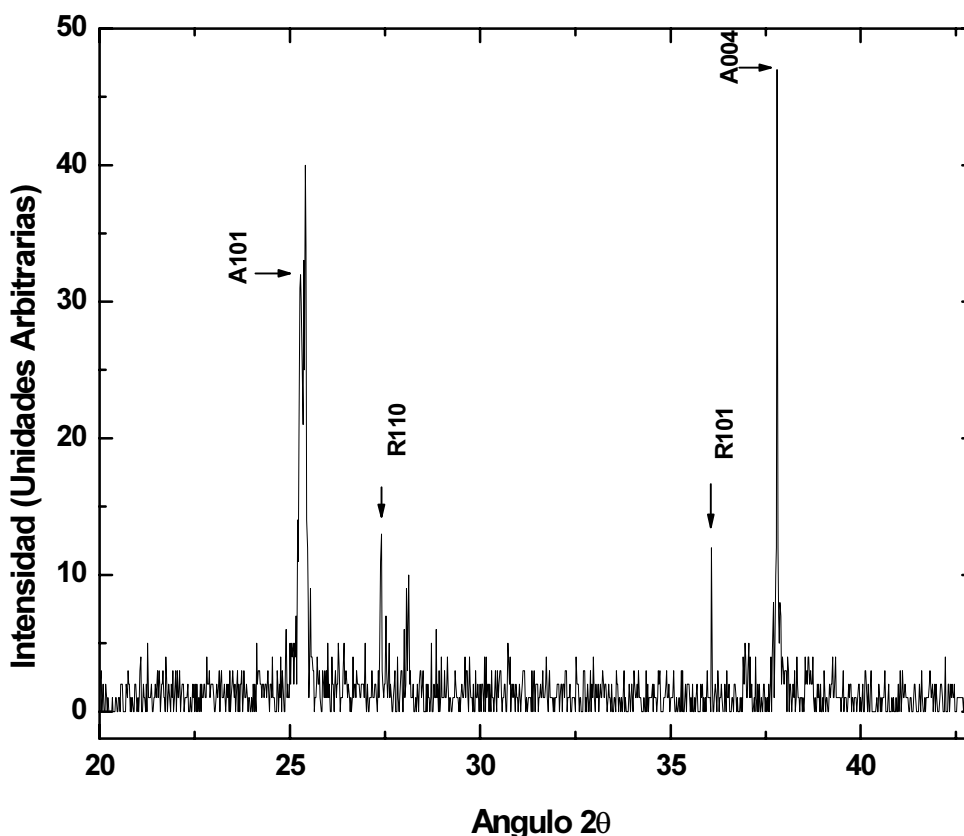


Figura 2. Patrón de difracción de la película de TiO_2 . (A) anatasa, (R) rutilo.

Pos tratamiento químico por cloración (PTQNaClO)

El sistema de desinfección química a las 8 horas de tratamiento redujo en $0,17 \text{ U log}_{10}$ los coliformes totales y en $0,69 \text{ U log}_{10}$ a *E. coli* pH 8,0. Valores que no superan a los obtenidos con PTFTiO₂/UV ya que con este sistema se presentó una efectividad del 100% 16 veces más rápido que por cloración (Figura 3).

Evaluación de la calidad microbiológica del agua residual tratada empleando como modelo de riego a *Latuca sativa* var *Batavia* a escala de laboratorio

Los recuentos finales de los tres nuevos lotes para coliformes totales fueron de $4,4 \text{ U log}_{10}$ en el TLF, $3,1 \text{ U log}_{10}$ para PTQ NaClO, y 0 U log_{10} para PTQ, en el caso de *E. coli* fueron de $2,8 \text{ U log}_{10}$, $2,2 \text{ U log}_{10}$ y 0 U log_{10} para cada uno de los tratamientos analizados.

En las plantas de *L. sativa* var *Batavia* inicialmente se encontró una concentración de coliformes totales de 4,1, 5,18 y 6 U log_{10} en la zona aérea, en el suelo y en la zona radicular respectivamente. *E. coli* no se detectó en el material vegetal.

Al finalizar los 30 días de riego con agua residual tratada por los tres sistemas, se presentaron diferencias altamente significativas entre tratamientos ($p < 0,0001$) demostrando que el pos tratamiento fotocatalítico (PTFTiO₂/UV) fue superior que el TLF y el PTQNaClO en cuanto a la inactivación de *E. coli* debido a que no se recuperó el microorganismo en ninguna de las muestras analizadas (Figura 4). En el PTQNaClO, se encontró una concentración de 0,33 en zona aérea, 0,27 en zona radicular y $0,40 \text{ U log}_{10}$ en suelo para *E. coli*. Finalmente con el TLF se recuperaron 1,1, 0,63 y $1,4 \text{ U log}_{10}$ en las mismas zonas de muestreo. En el control con agua destilada no se recuperaron colonias de *E. coli* en ninguna de las muestras analizadas.

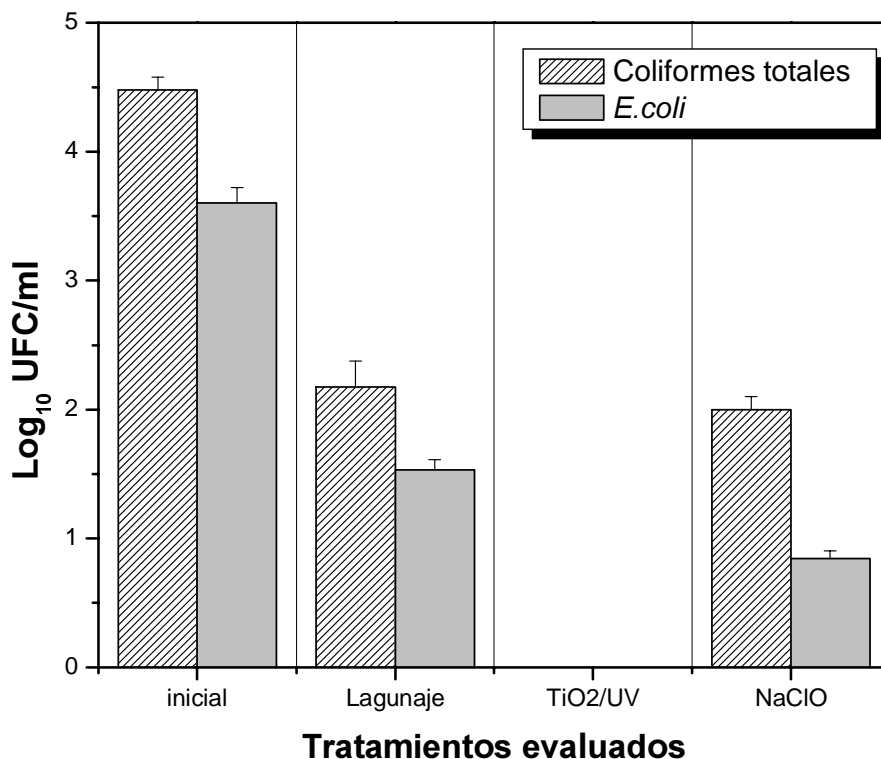


Figura 3. Reducción de coliformes y *E. coli* en los tres tratamientos en estudio

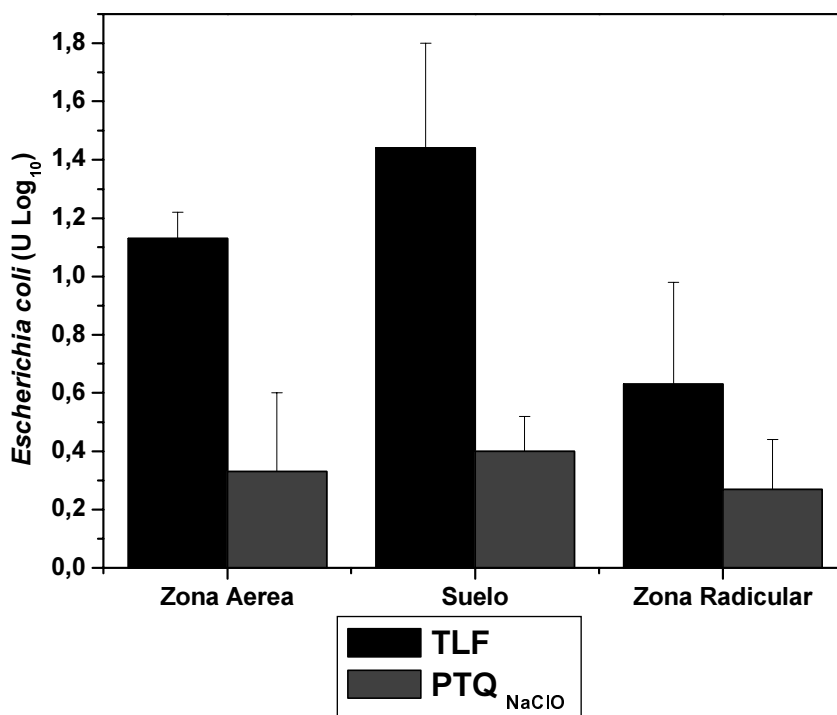


Figura 4. Reducción *E. coli* de acuerdo con la distribución espacial en las plantas de *Lactuca sativa* a los 30 días de riego con agua tratada por los tres sistemas (TLF, PTQ NaClO). En el PTF TiO₂UV y el control con agua destilada no se recuperó *E. coli*.

En cuanto al comportamiento de los coliformes totales se observó que la fotocatalisis heterogénea fue significativamente mejor que los demás métodos ($p < 0,0001$) ya que al tratar el agua con este sistema no se recuperó ningún coliforme y a los 30 días de regadío los microorganismos que se aislaron (0,21, 1,1 y 0,32 en zona aérea, radicular y suelo) correspondían posiblemente a las poblaciones iniciales de la matriz suelo, hoja y raíz. Estos datos se confirmaron al analizar los resultados del control con agua destilada en los cuales también se obtuvieron recuentos de 1,7, 4 y 2,1 $U \log_{10}$ en hojas, raíz y suelo. El TLF fue ineficiente para remoción de este grupo indicador ya que presentaron recuentos de 5,8 $U \log_{10}$ en suelo, 5,5 $U \log_{10}$ en la zona radicular y 4,3 $U \log_{10}$ en la zona aérea. Con el

PTQNaClO los recuentos finales fueron de 1,63, 1,8 y 1,8 en hoja, raíz y suelo (**Figura 5**).

Discusión

El uso de aguas recicladas para la agricultura ha ido en aumento en los últimos años, especialmente en países donde este recurso hídrico escasea (1, 3, 10). La calidad microbiológica de este tipo de agua está relacionada fundamentalmente con la calidad del tratamiento, el tiempo de retención hidráulica, la concentración de materia orgánica entre otros (11). Se ha señalado que aguas de

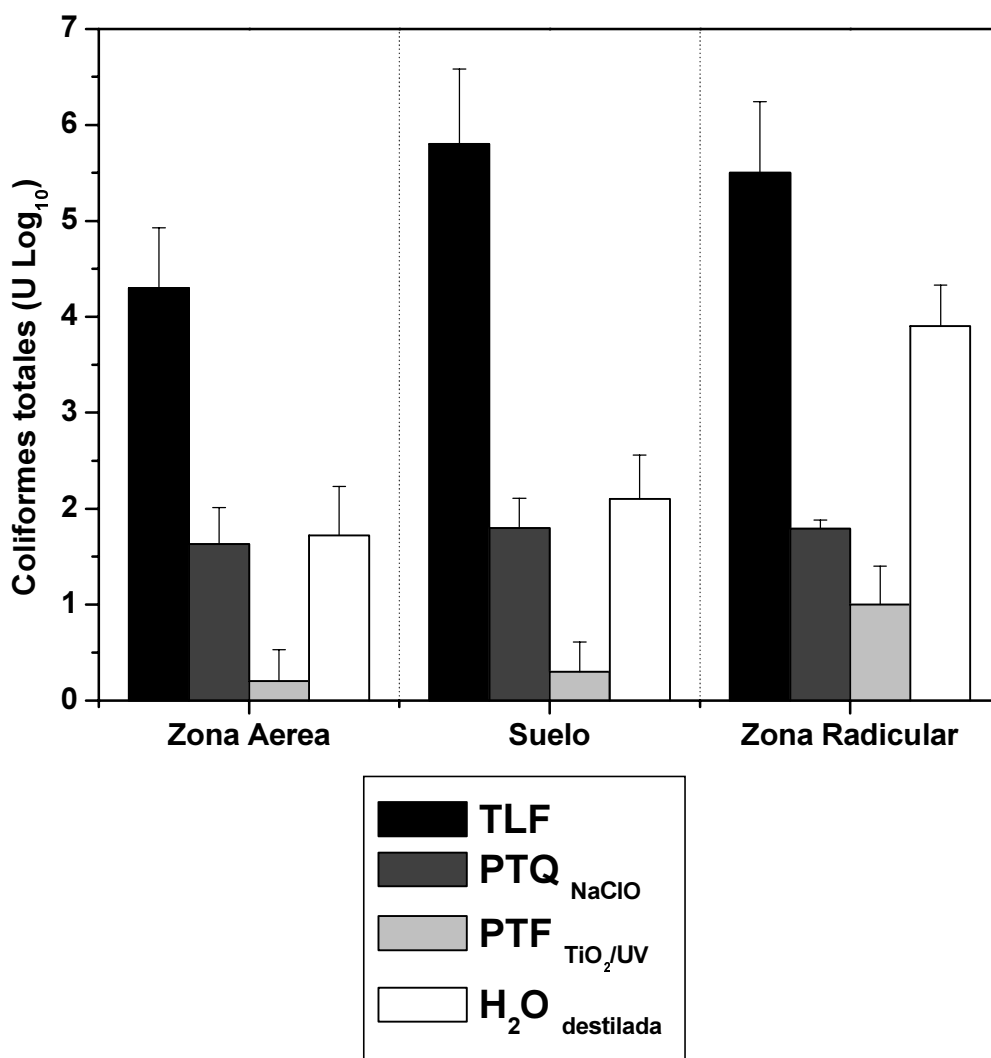


Figura 5. Reducción coliformes totales de acuerdo con la distribución espacial en las plantas de *Lactuca sativa* a los 30 días de riego con agua tratada por los tres sistemas (TLF, PTFTiO₂ UV, PTQ NaClO y el control con agua destilada).

baja calidad pueden ser vehículos de transmisión de microorganismos como *Shigella*, virus de la hepatitis A, *Entamoeba histolytica* entre otros (12). Generalmente las aguas recicladas utilizadas frecuentemente se someten a un solo tratamiento, donde no se incluye un paso específico de desinfección, en el caso de los coliformes donde inicialmente pueden existir poblaciones de 10^8 ufc/ml, los tratamientos primarios logran reducir 1-3 orden de magnitud (13), de tal manera que la presencia de coliformes suele ser superior a los estándares internacionales y nacionales resultados que se confirmaron en este estudio, además pueden encontrarse patógenos como *Salmonella* (11, 14). Koivunen (15) señala que la contaminación microbiana que reciben las aguas naturales está relacionada con la eficacia del tratamiento previo para remover materia orgánica, sólidos suspendidos y fósforo. El papel de los sólidos suspendidos se relaciona con la concentración de microorganismos entéricos, de ahí la importancia de realizar procesos de floculación. Los procesos de lagunaje son particularmente eficientes para eliminar coliformes fecales comparados con otros tratamientos, siempre que se presenten tiempos de retención largos (60 días), pH altos resultado de la fotosíntesis, inactivación por luz solar y predación por protozoarios; en este caso el tiempo de retención fue de 24 horas lo que impide su efecto microbicida (1). Por otro lado se sabe que los procesos de lagunaje no son eficientes en la remoción de la DBO_5 (3), lo cual incide directamente en la presencia de microorganismos (15).

Esto indica la importancia de realizar un tratamiento complementario al sistema de lagunaje para mejorar la calidad bacteriológica, física y química del efluente (13). El proceso químico más utilizado es la aplicación de cloro por su bajo costo. Sin embargo, este puede verse afectado por factores como: Concentración de materia orgánica, concentración de cloro y tipo de microorganismos presentes; reduciendo su efectividad (4). En esta investigación se pudo establecer el impacto que tiene la presencia de carga orgánica en el agua ya que fueron necesarias 8 horas de contacto para poder reducir por encima del 90% la población de coliformes y *E. coli*. De otro lado su principal problema radica en la posible formación de compuestos como trihalometanos (compuesto cancerígenos), resultantes de la reacción del cloro con materia orgánica (16), constituyéndose en un riesgo químico. Esto ha generado que nuevas tecnologías como la fotocatalisis heterogénea con TiO_2 surjan como alternativa para reducir los niveles de microorganismos patógenos e indicadores en aguas de uso agrícola (2, 5).

La efectividad lograda durante $PTFTiO_2/UV$ se debió principalmente a la conformación estructural del TiO_2 , debido a la presencia de la fase anatasa como se evidencia en la

figura 2, siendo esta más fotoactiva que la fase rutilo por su alta cristalinidad lo cual le confiere pocos defectos en cuanto a la recombinación de electrones y huecos fotogenerados (17) los cuales producen especies reactivas del oxígeno (ROS) en contacto con el agua y aire del medio causando así un efecto de inactivación sobre *E. coli* donde los mecanismos que explican esta inactivación incluyen: Un daño parcial sobre la permeabilidad de la membrana externa, seguido por un daño a nivel de pared y en membrana citoplasmática causando la lisis celular (12). También se forman iones superóxidos (O_2^-) ó (HO_2O) los cuales son menos efectivos contra las bacterias, debido a que las cargas negativas previenen que penetren las membranas celulares de las bacterias, no obstante causan un deterioro complementario en la célula (18). Estudios realizados por Nadtochenko, 2005, (19) permiten señalar que durante el proceso de fotocatalisis se dan los siguientes pasos: 1. Cambios en la peroxidación del lipopolisacárido de la pared durante el inicio. 2. Formación de α y β aldehídos insaturados durante el rompimiento de hidroperóxidos o endoperóxidos y la aparición de puentes de C-O durante la formación de grupos carboxi 3. También se presentan cambios importantes en el perfil de las bandas PO_2 y 4. Formación de bandas de amida que varían en función de la radiación, todos estos cambios generan la destrucción de *E. coli* (19).

Muchas variables afectan la fotocatalisis con TiO_2 , por ejemplo parámetros intrínsecos como el tamaño de partícula, el área superficial del semiconductor, método de preparación y estructura cristalina. así como parámetros extrínsecos como la temperatura de reacción, la intensidad de la luz y el pH de la solución (20). Un aspecto importante a señalar es que la fotocatalisis puede ser eficaz contra la inactivación de bacterias aún en presencia de materia orgánica, caso que se dió en esta investigación donde la DBO_5 evidenció la presencia de materia orgánica, concordando con los resultados de Rizzo, 2009 (10).

Es muy importante señalar que la fotocatalisis fue efectiva al destruir toda la población de *E. coli* en 30 minutos, concordando con los datos de Caballero, 2009 (21), evitando de esta manera la posible sobrevivencia de subpoblaciones resistentes, fenómeno que se pudo presentar en el tratamiento con cloro, donde después de un tratamiento con 200 ppm durante 8 horas quedó un porcentaje de sobrevivientes que dentro de un ecosistema como el agua puede ser un problema a largo plazo.

Con relación a los datos obtenidos en el cultivo de *L. sativa*, para el agua pos tratada por fotocatalisis no se presentó contaminación con *E. coli*, al finalizar el periodo de riego de las plantas, señalando la importancia de este tratamien-

to en la inactivación de esta bacteria. Caso contrario sucedió en el tratamiento con hipoclorito de sodio en el cual las plantas resultaron contaminadas al entrar en contacto con el agua tratada ya que esta contenía *E. coli*. Para el tratamiento convencional la concentración de *E. coli* fue superior a los otros dos tratamientos indicando que el sistema lagunaje es una fuente directa de contaminación en los cultivos.

Es importante señalar que inicialmente la zona radicular, aérea y el suelo presentaron coliformes. Que a pesar de realizar el proceso de desinfección del material vegetal y la esterilización del suelo; siguieron presentes e incrementaron en algunos tratamientos como el control con agua destilada y fotocátalisis. Para los primeros el incremento se relacionó con el crecimiento normal de la población y con un fenómeno de percolación o escorrentía del agua a través del material vegetal hasta llegar al suelo que determinó la obtención de los recuentos más altos en el suelo. Un mecanismo similar se pudo presentar en el tratamiento fotocatalítico en el cual se recuperaron coliformes a los 30 días del tratamiento. Estos microorganismos nuevamente provenían del material vegetal y no fueron aportados por el agua pos tratada. Finalmente, el uso de fotocátalisis heterogénea con TiO_2 fue un método efectivo para la inactivación de coliformes y *E. coli*, siendo una alternativa para el tratamiento complementario de aguas residuales domésticas de tal manera que puedan usarse con fines agrícolas.

Conclusiones

Se encontró que la combinación de sistemas biológicos y métodos no convencionales como la fotocátalisis heterogénea con TiO_2 para tratar aguas residuales domésticas resulta altamente eficiente en la eliminación de microorganismos como *E. coli*, en comparación con métodos químicos como hipoclorito de sodio, reduciendo así el riesgo de contaminación de plantas de lechuga (*Lactuca Sativa* var Batavia) con bacterias entéricas.

Agradecimientos

Los investigadores agradecen al Dr. Ciro Falcony Guajardo y a las Maestras Ana Bertha Soto Guzmán y Marcela Guerrero Cruz del Centro de Investigaciones y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional CINVESTAV-IPN México D.F., por su colaboración en los servicios de microscopía electrónica de barrido y difracción de rayos X.

Financiación

Este trabajo fue financiado con recursos de la oficina de Fomento a la Investigación de la Vicerrectoría Académica de la Pontificia Universidad Javeriana. Proyecto número 3404.

Conflicto de intereses

Los autores afirman no tener conflicto de intereses.

Referencias

1. Pedrero F, Kalavrouziotis I, Alarcón JJ, Koukoulakis P, Asano T. Use of treated municipal wastewater in irrigated agriculture - Review of some practices in Spain and Greece. *Agriculture Water Management* 2010; **97** (9): 1233-1241.
2. Gelover LA, Gelover S, Gomez LA, Reyes K, Leal MT. A practical demonstration of water disinfection using TiO_2 films and sunlight. *Water Research* 2006; **40** (17): 3274-3280.
3. Maynard H, Ouki S, Williams C. Tertiary lagoons: A review of removal mechanisms and performance. *Water Research* 1999; **33** (18): 3782-3788.
4. Lubello C, Gori R, Nicese F, y Ferrini F. Municipal-treated wastewater reuse for plant nurseries irrigation. *Water Research* 2004; **38**, 2939-2947
5. Lydakis N, Riga D, Katsivel E, Mantzavinos D, Xekoukoulotakis N. Disinfection of spring water and secondary treated municipal wastewater by TiO_2 photocatalysis. *Desalination* 2010; **250**, 351-355.
6. Rincon A, Pulgarin C. Photocatalytical inactivation of *E. coli*: effect of (continuous-intermittent) light intensity and of (suspended-fixed) TiO_2 concentration. *Applied Catalysis B: Environmental* 2003; **44**, 263-284.
7. Alcaldía Municipal de Subachoque (2008:Subachoque, Cundinamarca). Sistema Integral de información municipio de Subachoque [en línea]: Noviembre,2008.Subachoque,Cundinamarca:<<http://www.subachoque.gov.co/index.php?sec=2&sub=1>> [Consultada: 16 ago. 2009].
8. American Public Health Association (APHA). *Standard methods for examination of water and wastewater*. 21th edition. American Public Health Association/American Water Works Association/Water Environment Federation. Washington, D.C., United States. 2005, 1500 p.

9. Arango A, Rivera D, Martínez MM, Carrascal AK, Pedroza AM. Elaboración de películas de TiO₂ por sedimentación para el pos-tratamiento de un efluente anaeróbico generado en un relleno sanitario. *Superficie y vacío* 2009; **22** (1): 10-16.
10. Rizzo L. Inactivation and injury of total coliform bacteria after primary disinfection of drinking water by TiO₂ photocatalysis. *Journal of Hazardous Materials* 2009; **165**, 48–51.
11. Palese AM, Pasquale V, Celano G, Figliuolo G, Masi S, Xiloyannis C. Irrigation of olive groves in Southern Italy with treated municipal wastewater: Effects on microbiological quality of soil and fruits. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 2009; **129**, 43–45.
12. Dheaya MA, Alrousan P, Dunlop SM, McMurray T, Byrne, J. Photocatalytic inactivation of *E. coli* in surface water using immobilized nanoparticle TiO₂ films. *Water Research* 2009; **43**, 47–54.
13. Rose JB, Dickson LJ, Farrah SR, Carnahan RP. Removal of pathogenic and indicator microorganisms by full-scale water reclamation facility. *Water Research* 1996; **30** (11): 2785–97.
14. Kayser R, Boll R, Muller HE. Quantitative determinations Finnish standard for total coliforms with of the elimination of Salmonellae by biological treatment of wastewater. *Zentralblatt Bakteriologie Mikrobiologie Hygiene* 1987; **184**,195–205.
15. Koivunen J, Siitonen A, Heinonen-Tanski H. Elimination of enteric bacteria in biological–chemical wastewater treatment and tertiary filtration units. *Water Research* 2003; **37**, 690–698
16. Xie YF. Disinfection Byproducts in Drinking Water: Formation, Analysis, and Control. CRC Press. Florida, United States. 2004, 161 p.
17. Takashi S, Masahito T. Enhancement of phage inactivation using photocatalytic titanium dioxide particles with different crystalline structures. *Biochemical Engineering Journal* 2006; **28**, 303–308.
18. Baram N, Starosvetsky D, Starosvetsky J, Epshtein M, Armon R, Ein-Eli J. Enhanced inactivation of *E. coli* bacteria using immobilized porous TiO₂ photoelectrocatalysis. *Electrochemical Acta* 2009; **54**, 3381-3386
19. Nadtochenkoa VA, Nadtochenkoa AG, Rincon B, Stancaa SE, Kiwi J. Dynamics of *E. coli* membrane cell peroxidation during TiO₂ photocatalysis studied by ATR-FTIR spectroscopy and AFM microscopy. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* 2005; **169**,131–137.
20. Christensen PA, Dilks A, Egerton TA, Temperley J. Infrared spectroscopic evaluation of the photodegradation of paint Part II: The effect of UV intensity & wavelength on the degradation of acrylic films pigmented with titanium dioxide. *Journal of Materials Science* 2000; **35**, 5353–5358.
21. Caballero KA, Whitehead NS, Allen J, Verran I. Inactivation of *Escherichia coli* on immobilized TiO₂ using fluorescent Light. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* 2009; **202**, 92–98.