

Universidad Rey Juan Carlos

Escuela Superior de Ciencias Experimentales y Tecnología

Departamento de Tecnología Química y Ambiental



**Desarrollo de procesos fotocatalíticos para la
desinfección de agua y aplicación a la regeneración
de aguas residuales depuradas**

Tesis Doctoral

2013

Autora: Cristina Pablos Carro

Directores: Rafael van Grieken Salvador
Javier Marugán Aguado

D. Rafael van Grieken Salvador, Catedrático de Universidad y D. Javier Marugán Aguado, Profesor Titular de Universidad, ambos del área de Ingeniería Química del Departamento de Tecnología Química y Ambiental de la Universidad Rey Juan Carlos,

CERTIFICAN:

Que el presente trabajo de investigación titulado “Desarrollo de procesos fotocatalíticos para la desinfección de agua y aplicación a la regeneración de aguas residuales depuradas” constituye la memoria que presenta Dña. Cristina Pablos Carro, licenciada en Ciencias Ambientales, para aspirar al grado de Doctor y ha sido realizada en los laboratorios del Grupo de Ingeniería Química y Ambiental del Departamento de Tecnología Química y Ambiental de la Universidad Rey Juan Carlos bajo nuestra dirección.

Y para que así conste, firmamos el presente certificado en Móstoles, a cinco de Marzo de dos mil trece.

Fdo. Rafael van Grieken Salvador

Fdo. Javier Marugán Aguado

Agradecimientos

La presente investigación se realizó en los laboratorios del Grupo de Ingeniería Química y Ambiental del Departamento de Tecnología Química y Ambiental y de los Materiales, así como en el Centro de Apoyo Tecnológico de la Escuela Superior de Ciencia Experimentales y Tecnología de la Universidad Rey Juan Carlos, bajo la dirección de D. Rafael van Grieken Salvador y D. Javier Marugán Aguado. Me gustaría agradecerles el interés que han demostrado a lo largo de estos años en el desarrollo de esta tesis. Agradecerles haberme apoyado y ayudado en todo momento tanto a nivel académico como personal, así como la confianza que depositaron en mí. Por todo ello, gracias.

También quisiera agradecer a D. Sharon L. Walker la colaboración prestada en una parte de esta investigación durante mi trabajo en Riverside. También al D. J. Anthony Byrne por la supervisión del trabajo realizado durante mi estancia en Belfast.

Quiero dar las gracias también a todos mis compañeros del Grupo de Ingeniería Química por la ayuda prestada durante estos años. Más especialmente a mis compañeros de promoción: Raquel, Rebeca, Rubén, David y Ester, así como a Rosalía, Laura, Cristina y David, por los buenos ratos compartidos, consejos y palabras de aliento.

Me gustaría también dar un agradecimiento especial a mis amigos de toda la vida: Helena, Patricia, Virginia y Marta; así como a otros muchos que tuve la oportunidad de conocer durante estos años aquí: Almu, Montaña, Gema y Mila, sobre todo en este último año.

Finalmente, agradecer a mis padres y a Rubén por su apoyo incondicional en todas las decisiones que he tomado y su enorme paciencia. Sin ellos no habría sido posible la consecución de este trabajo.

A mis padres
y a Rubén

ÍNDICE.

Summary.	1
1. Resumen.	57
2. Introducción.	65
2.1. Problemática actual del agua.	66
2.1.1. Contaminantes biológicos de las aguas residuales: Microorganismos.....	67
2.1.2. Calidad microbiológica de las aguas residuales: <i>Escherichia coli</i>	69
2.1.3. Reutilización de aguas residuales.	71
2.2. Tecnologías convencionales de desinfección de aguas.	73
2.2.1. Cloración.	74
2.2.2. Ozonización.....	74
2.2.3. Radiación UV de baja longitud de onda.....	75
2.2.4. Otros agentes de desinfección.	75
2.3. Tecnologías Avanzadas de Oxidación (TAO's).....	76
2.4. Fotocatálisis heterogénea.	78
2.4.1. Fundamentos.	79
2.4.2. Fotocatalizadores.....	86
2.4.3. Variables del proceso.	88
2.4.4. Sistemas fotocatalíticos inmovilizados.	91
2.4.5. Electrodo fotocatalítico: Procesos fotoelectrocatalíticos.	93
2.5. Desinfección de aguas con procesos fotocatalíticos: Estado del arte.....	102
2.6. Objeto y alcance de la presente investigación.....	112
3. Métodos experimentales.	115
3.1. Sistemas de reacción fotocatalíticos.....	116
3.1.1. Instalación experimental a escala de laboratorio.....	116
3.1.2. Instalación experimental a mayor escala.....	119
3.2. Sistema de reacción fotoelectrocatalíticos.	120
3.2.1. Celda fotoelectrocatalítica.....	120
3.2.2. Reactor fotoelectrocatalítico.	123

3.3. Caracterización de los catalizadores.	125
3.3.1. Difracción de rayos X.	125
3.3.2. Microscopía electrónica de barrido.	126
3.3.3. Espectrofotometría UV-Vis.	126
3.3.4. Dispersión dinámica de luz.	126
3.3.5. Movilidad electroforética y potencial zeta.	127
3.3.6. Voltametría cíclica.	128
3.3.7. Amperometría.	129
3.4. Técnicas microbiológicas y de caracterización bacteriana.	129
3.4.1. Esterilización del material.	129
3.4.2. Cepas bacterianas utilizadas.	129
3.4.3. Preparación de los cultivos.	130
3.4.4. Microscopía óptica.	131
3.4.5. Movilidad electroforética y potencial zeta.	131
3.4.6. Valoración potenciométrica.	132
3.4.7. Hidrofobicidad.	133
3.4.8. Sustancias poliméricas extracelulares.	134
3.4.9. Ensayos de permeabilidad de la membrana por epifluorescencia.	135
3.5. Ensayos actinométricos.	136
3.6. Ensayos fotocatalíticos de inactivación bacteriana.	137
3.7. Ensayos fotocatalíticos de oxidación de contaminantes químicos.	139
3.7.1. Azul de metileno.	139
3.7.2. Metanol / formaldehído.	139
3.7.3. Fármacos.	140
3.8. Ensayos de adhesión.	140
4. Resultados y discusión.	143
4.1. Inactivación fotocatalítica bacteriana: Aspectos generales.	144
4.1.1. Mecanismo de inactivación fotocatalítica bacteriana.	144
4.1.2. Modelado cinético de la inactivación fotocatalítica de bacterias.	148
4.2. Sistemas fotocatalíticos en suspensión.	153
4.2.1. Experimentos no fotocatalíticos de referencia.	153
4.2.2. Optimización de la concentración de catalizador.	156

4.2.3. Efecto de la potencia de irradiación.	158
4.2.4. Influencia de la composición química del agua.	162
4.2.5. Concentración inicial de bacteria.	169
4.2.6. Tipo de microorganismo.	172
4.3. Sistemas fotocatalíticos inmovilizados.	184
4.3.1. Caracterización físicoquímica.	184
4.3.2. Reactor de pared catalítica.	189
4.3.3. Reactor de lecho fijo.	194
4.3.4. Comparación entre los reactores fotocatalíticos.....	205
4.4. Electrodo fotocatalítico.	211
4.4.1. Celda fotoelectrocatalítica.....	211
4.4.1.1. Estudio del tipo de electrodo.	211
4.4.1.2. Efecto del espesor del recubrimiento de TiO ₂	237
4.4.1.3. Influencia del tipo de contaminante.	248
4.4.2. Reactor fotoelectrocatalítico.	251
4.4.2.1. Efecto del espesor del recubrimiento de TiO ₂	251
4.4.2.2. Efecto del potencial eléctrico.	258
4.4.2.3. Comparación de la inactivación bacteriana con la oxidación de contaminantes.....	260
4.4.2.4. Influencia de la composición química del agua.	262
4.4.3. Cambio de escala de los electrodos fotocatalíticos.	266
4.5. Aplicaciones.....	273
4.5.1. Inactivación bacteriana y eliminación simultánea de contaminantes emergentes. 273	
4.5.2. Cambio de escala del proceso con TiO ₂ en suspensión.	278
5. Conclusiones.....	291
Bibliografía.....	295
Anexo: Publicaciones relacionadas.....	321

SUMMARY

I. Introduction.

Provision of large amounts of safe drinking water is known to be one of the most important problems which is affecting people in both, industrialised and developing countries. The lack of adequate disinfection processes is responsible for a lot of diseases transmitted by microorganisms. According to the World Health Organization¹, there are 1.8 millions of deaths every year due to diarrhoeas caused by consumption of drinking water scarcely disinfected. In addition to that, conventional water disinfection technologies such as chlorination and ozonation have raised concerns about the formation of carcinogenic disinfection by-products (DBPs) such as chloro-organic compounds in chlorination processes (coming from the reaction of chlorine-based reactants with naturally occurring organic matter) or bromates in ozonation processes (by reaction of ozone with dissolved bromides). Moreover, it is necessary to pay close attention on emerging micropollutants such as pharmaceuticals identified at trace concentration levels (ng L^{-1}) not only in secondary wastewater plant effluents but also in drinking water, indicating that wastewater treatment plants do not completely remove these compounds².

Advanced Oxidation Technologies (AOT), based on highly reactive hydroxyl radical production for oxidation of pollutants, have been long studied³. Among them, heterogeneous photocatalysis is considered relevant among them, especially considering the soft operation conditions (ambient temperature and pressure), natural pH and the null requirement of chemical oxidants apart from air. Moreover, the possibility of using solar light as radiation source may be crucial for developing countries where many infectious diseases are attributed to unsafe water supplies. Photocatalytic processes are based on the excitation of a semiconductor (commonly titanium dioxide) by absorption of radiant energy. When TiO_2 crystals are illuminated with radiation whose energy is equal or higher than the bandgap of the material, electrons (e^-) are promoted to the conduction band, generating oxidant electron vacancies, so-called holes (h^+) in the valence band. These charge carriers can diffuse through the particle and reach the surface of the semiconductor particle. However, the lifetime of these

¹ "Water, sanitation and hygiene links to health. Facts and figures". World Health Organization, 2004.

² Ikehata, K., Naghashkar, N.J. and Gamal El-Din, M. "Degradation of aqueous pharmaceuticals by ozonation and advanced oxidation process: A review". *Ozone-Sci. Eng.*, 28 (2006) 353-414.

³ McCullagh, C., Robertson, J.M.C., Bahnemann, D.W. and Robertson, P.K.J. "The application of TiO_2 photocatalysis for disinfection of water contaminated with pathogenic micro-organisms: a review. *Res. Chem. Intermediat.*, 33 (2007) 359-375.

species is really low since most of them usually recombine either in the bulk or at the particle surface releasing heat as useless energy. The photocatalytic reaction takes place when the charge carriers are transferred to chemical species adsorbed on the semiconductor, usually H₂O and O₂, generating hydroxyl radicals ($\cdot\text{OH}$) and other reactive oxygen species (ROS)⁴.

TiO₂ heterogeneous photocatalysis has been used to a large extent for the oxidation of several chemicals³. Since the first work of Matsunaga et al.⁵, this process has been investigated with the aim of developing new disinfection methods to supply drinking water and for the reuse of wastewater treatment plant effluents, leading to a lot of successful results have been reported for bacteria inactivation⁶.

However, the commercial application of photocatalytic processes is still under development. The use of TiO₂ slurries as photocatalyst involves an additional step to separate TiO₂ particles from the suspension, making difficult a profitable scaling-up of the process. It is known that catalyst immobilisation leads to restrictions for mass transfer and decreases the active surface available for pollutant-catalyst interaction. In addition, it is necessary to guarantee the long-term stability and lack of deactivation of the catalyst⁶. This fact must be considered specially when real waters are used, as inorganic ions and organic matter present in the aqueous matrix can considerably affect the loss of activity by the catalyst. In spite of these drawbacks, the real challenge of this technology is related with the reactor design since this point is crucial for the application at field scale.

Another disadvantage of slurry systems is the low quantum yield for hydroxyl radical generation due to the recombination of excited electrons and positive holes. Photoelectrocatalytic processes using TiO₂ immobilised onto a conductive support can be considered as a potential solution for both drawbacks. These processes are based on the application of a small potential on the TiO₂ anode, leading to the formation of a potential gradient in the semiconductor. Under illumination, the formed holes migrate to the surface where the water oxidation occurs, producing $\cdot\text{OH}$ radicals, whereas the electrons are led to the back of the conductive support by the positive potential towards the cathode where the oxygen reduction takes place. This decrease in the charge-carrier recombination in the

⁴ Herrmann, J.M. "Heterogeneous photocatalysis: fundamentals and applications to the removal of various types of aqueous pollutants". Catal. Today, 53 (1999) 115-129.

⁵ Matsunaga, T., Tomoda, R., Nakajima, T. and Wake, H. "Photoelectrochemical sterilization of microbial cells by semiconductor powders". Fems Microbiol. Lett., 29 (1985) 211-214.

⁶ Malato, S., Fernández-Ibáñez, P., Maldonado, M.I., Blanco, J. and Gernjak, W. "Decontamination and disinfection of water by solar photocatalysis: recent overview and trends". Catal. Today, 147 (1) (2009) 1-59.

photoelectrocatalytic oxidation of chemicals in comparison with the pure TiO₂ photocatalytic processes has been reported by several research groups⁷, being more recently also applied to the photoelectrocatalytic inactivation of microorganisms for water disinfection purposes⁸. One of the main advantages of the application of photoelectrocatalysis to the microorganisms' inactivation is that mass transport and adsorption limitations that appear when using immobilised TiO₂ systems could be reduced since bacteria, negatively charged, can be attracted by the positive holes.

The commercial application of photocatalytic processes is even more complex for water disinfection applications due to the large number of aspects of the process that remain unclear together with the additional inconvenients of working with alive pollutants. The present investigation constitutes a deep study of the main aspects and variables governing photocatalytic disinfection processes: inactivation mechanism, the differences existing between the reactions of microorganisms inactivation and the oxidation of chemical pollutants, the sensitivity to the process of different types of microorganisms, the influence of the chemical composition of water, the effect of process parameters such as catalyst concentration and irradiation power, the development of stable immobilised catalytic systems and scaled-up of the photocatalytic system for the application of this technology as a tertiary treatment of wastewaters for their reuse, and even as a simultaneous treatment for bacteria inactivation and pharmaceuticals oxidation, among others.

II. Experimental methods.

Photocatalytic systems.

The experimental setup for the photocatalytic reactions, represented in Figure 1, consists of an annular photoreactor of 188.5 cm³ of irradiated volume (15 cm long, 3 cm inner-tube diameter and 5 cm external-tube diameter, made of borosilicate glass) operating in a closed recirculating circuit driven by a centrifugal pump, with a stirred reservoir tank of 2 L of volume capacity. Experiments have been carried out using a total working volume of 1 L and

⁷ Vinodgopal, K., Hotchandani, S. and Kamat, P.V. "Electrochemically assisted photocatalysis. TiO₂ particulate film electrodes for photocatalytic degradation of 4-chlorophenol". J. Phys. Chem., 97 (1993) 9040-9044.

⁸ Dunlop, P.S.M., Byrne, J.A., Mange, N. and Eiggins, B.R. "The photocatalytic removal of bacterial pollutants from drinking water". Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry, 148 (2002) 355-363..

a recirculation flow rate of 2.5 L min^{-1} . Illumination was provided by using a Philips TL 6-W black light lamp placed in the axis of the reactor. The lamp provides a UV-A radiation with a maximum emission peak centred at 365 nm. The UV-A incident photon flow, determined by ferrioxalate actinometry⁹, was $2.8 \times 10^{-6} \text{ Einstein s}^{-1}$. This experimental setup was scaled up by setting up an annular photoreactor of $1,250 \text{ cm}^3$ of irradiated volume. (100 cm long, 3 cm inner-tube diameter and 5 cm external-tube diameter, made of borosilicate glass) operating in a closed recirculating circuit driven by a centrifugal pump, with a stirred reservoir tank of 7 L of volume capacity. Experiments have been carried out using a total working volume of 4 L and a recirculation flow rate of 3.9 L min^{-1} . Illumination was carried out using a Osram L de 36 W black light lamp placed in the axis of the reactor. The lamp provides a UV-A radiation with a maximum emission peak centred at 370 nm. The UV-A incident photon flow, determined by ferrioxalate actinometry, was $1.8 \times 10^{-5} \text{ Einstein s}^{-1}$.

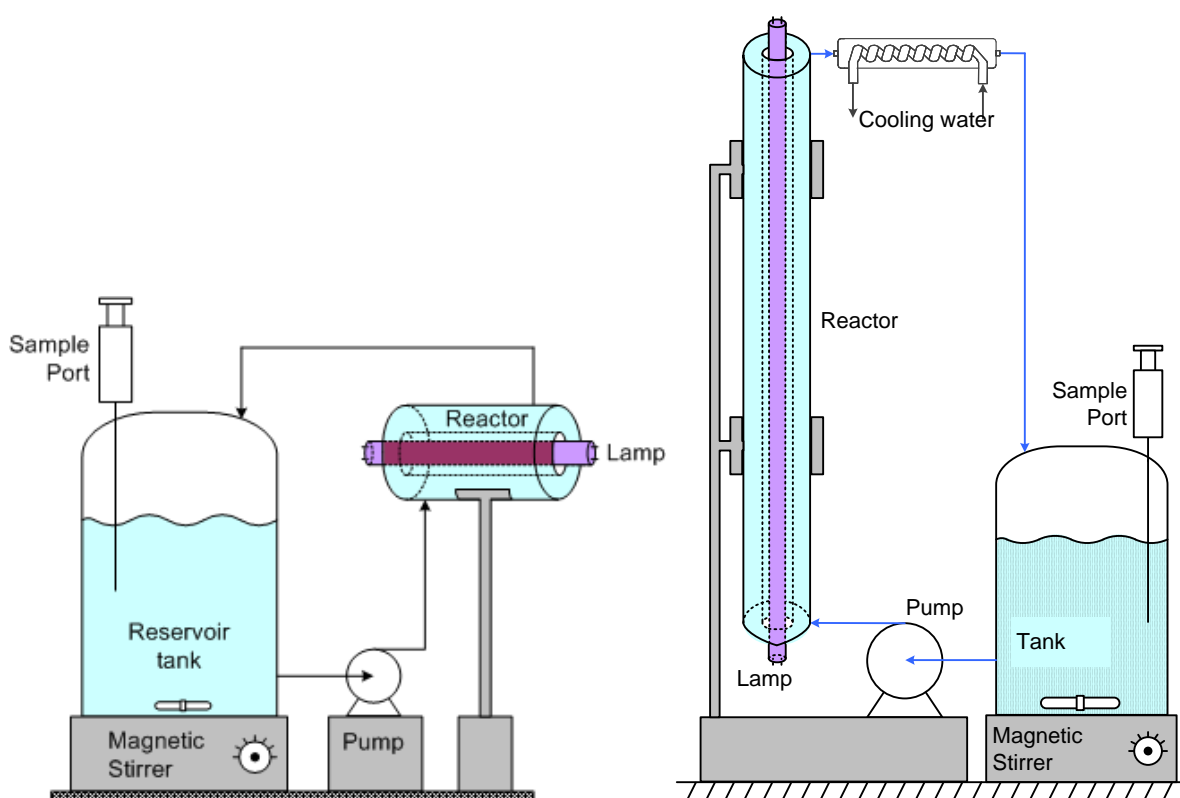


Figure 1. Schematic representation of the lab scale (left) and bench scale (right) experimental setups.

⁹ Hatchard, C.G. and Parker, C.A. "A new sensitive chemical actinometer II. Potassium ferrioxalate as a standard chemical actinometer". Proc. R. Soc. A, 235 (1956) 518-536.

Immobilisation of TiO_2 has been carried out by the dip-coating procedure schematised in Figure 2. The coating suspension consists of 150 g L^{-1} of Degussa P25 TiO_2 in deionised water at a pH value of 1.5 (adjusted with HNO_3). The process was assisted by a Bungard Elektronik RDC- 15 equipment working at a controlled withdrawal speed of 0.65 mm s^{-1} . After every coating cycle, the glass pieces were dried at $110 \text{ }^\circ\text{C}$ for 12 h and calcined at $500 \text{ }^\circ\text{C}$ for 2 h with a heating rate of $5 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$. This coating sequence can be repeated several times to increase the width of the TiO_2 film. Prior to the reaction, the coated systems were tested by flowing water for 30 min to remove all the semiconductor particles poorly adhered to the glass.

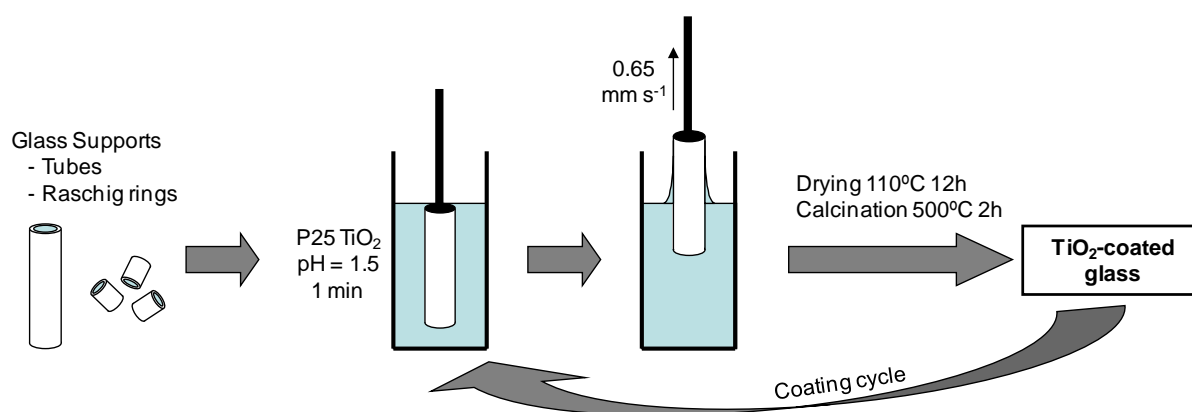


Figure 2. Schematic representation of the procedure for immobilisation of the photocatalyst on glass supports.

Three different TiO_2 catalytic systems have been used in the experimental setup described in Figure 1, according to the configuration shown in Figure 3: (i) a slurry reactor, using suspensions of Degussa P25 TiO_2 ; (ii) a wall reactor with Degussa P25 TiO_2 immobilised onto the outer surface of the inner tube and (iii) a fixed-bed reactor with Degussa P25 TiO_2 immobilised onto 6x6 mm glass Raschig rings.

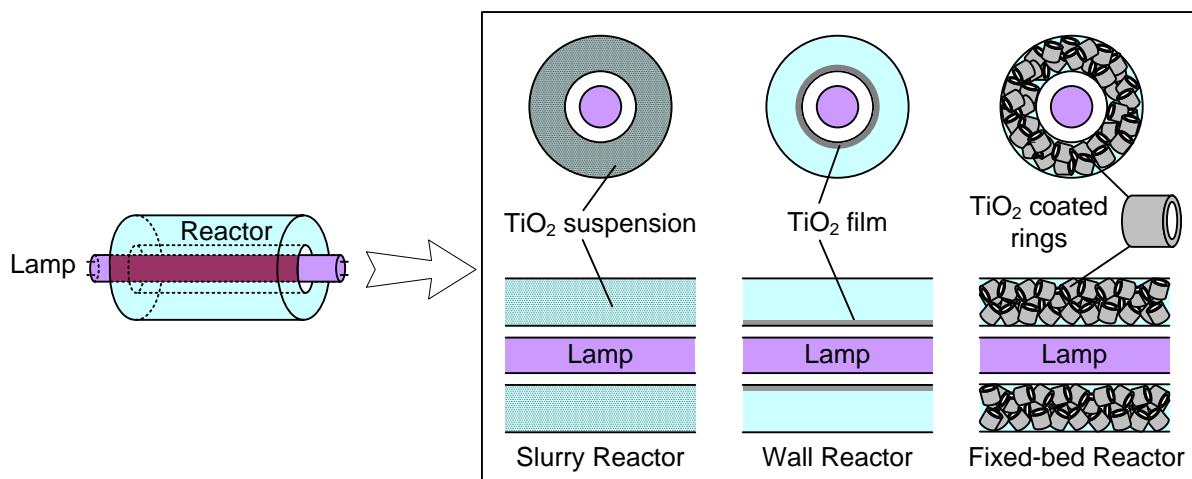


Figure 3. Schematic representation of the immobilised TiO₂ photocatalytic reactors.

Photoelectrocatalytic systems.

Photoelectrocatalytic experiments were initially carried out in the stirred three-electrode electrochemical cell schematised in Figure 4. Three different 5x5 cm TiO₂ working electrodes (WE) were prepared: (i) a thermal TiO₂/Ti electrode prepared by annealing a Ti foil at 700 °C for 30 min following a heating rate of 50 °C min⁻¹ (Ti), and two particulate TiO₂ electrodes prepared by dip-coating of different conductive supports in the Degussa P25 TiO₂ suspension described above. The supports used were a Ti foil (TiO₂/Ti) and conductive glass (coated with Indium Tin Oxide, ITO) with a resistance of 10 Ω sq⁻¹ (TiO₂/ITO). Both of them were annealed at 450 °C for 120 min following a heating rate of 5 °C min⁻¹. This process was repeated up to three times. Electrical contact to the conductive support was made by the attachment of an insulated Ti wire using silver conductive epoxy resin and insulated with epoxy resin glue. A nickel mesh (55 % open area), placed 1 cm away from the working electrode, was used as the counter electrode (CE), being both electrodes placed on a specially designed PTFE cassette. Experiments were carried out using a total working volume of 0.4 L under stirring. The WE received front illumination by four Philips TL 6W black light lamps. Each lamp provided a maximum emission peak centred at 365 nm. The UV-A incident photon flow, determined by ferrioxalate actinometry, was 2.9×10⁻⁷ Einstein s⁻¹. Electrochemical characterization was carried out by cyclic voltammetry (CV) at a sweep rate of 0.1 V s⁻¹ and amperometric measurements were recorded during the photoelectrocatalytic reactions at 1 V of potential bias, if not otherwise specified, using an Eco-Chemie μAutolab Type III potentiostat and a Ag/AgCl reference electrode. A two-electrode configuration of the cell (without reference electrode) was also used for scaling-up calculations.

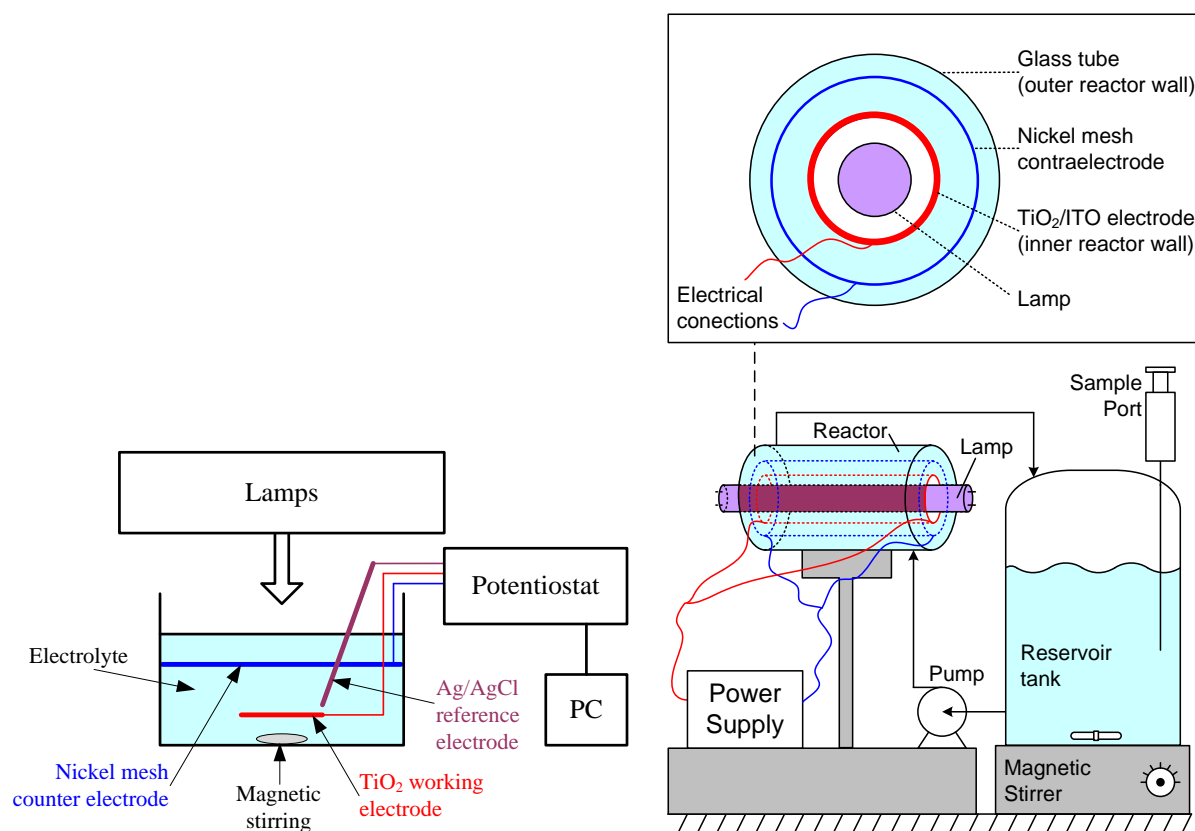


Figure 4. Schematic representation of the experimental photoelectrocatalytic cell (left) and photoelectrocatalytic reactor (right).

TiO₂/ITO electrodes were scaled up to a cylindrical two-electrode photocatalytic reactor (Figure 4), which consists of an annular reactor 15 cm long, 3 cm inner-tube diameter and 5 cm external-tube diameter operating in a closed recirculating circuit driven by a centrifugal pump, with a stirred reservoir tank, similar to the photocatalytic setup represented in Figure 1. Experiments were carried out using a total working volume of 1 L. TiO₂/ITO electrodes whose area corresponds to 141.4 cm² were placed as the inner-tube. Insulated Cu wire was glued onto the both extremes of the photoelectrode as detailed above. The counter electrode was a nickel mesh placed surrounding the working electrode. Both electrodes were kept separated a distance of 0.5 cm by Teflon spacers attached to the external-tube by epoxy resin glue. The illumination, provided by a Philips TL 6W black light lamp placed in the axis of the reactor, came from the backside of the WE. The UV-A incident photon flow, determined by ferrioxalate actinometry, was 1.0×10^{-6} Einstein s⁻¹. A potential bias was applied using as power supply the same potentiostat describe above in a two-electrode configuration.

Photocatalytic experiments.

Bacterial inactivation.

Bacterial suspensions were prepared from lyophilized *Escherichia coli* K12 and *Enterococcus faecalis* strains provided by the Colección Española de Cultivos Tipo (CECT), corresponding to ATCC 23631 and ATCC 11700 respectively. Fresh liquid cultures with a stationary concentration around 10^9 - 10^{10} CFU mL⁻¹ were prepared by inoculation in a Luria-Bertani nutrient medium (Miller's LB Broth) and incubation at 37 °C for 24 h under constant stirring on a rotary shaker. The reacting suspensions were prepared by centrifuging 5 mL of the liquid culture at 3,500 rpm for 25 min, rinsing twice the bacteria with 5 mL of the matrix of the suspension to be tested.

The bacterial inactivation was followed by analyzing the concentration of viable bacteria in the samples taken along the reaction. The quantification was carried out following a standard serial dilution procedure, spotting 10 µL of each decimal dilution eight times on LB nutrient agar plates (Miller's LB Agar) and incubating them at 37 °C for 24 h before counting. For longer irradiation times (low bacterial concentrations), higher volumes (100 µL and 1 mL) of the undiluted suspension were also plated to reduce the limit of detection to 1 CFU mL⁻¹. Experiments were also carried out with mixtures of *E. coli* and *E. faecalis*. To follow *E. coli* and *E. faecalis* inactivation individually two selective media were used, Colinstant Chromogenic Agar and Slanetz & Bartley Agar respectively. LB nutrient medium agar plates were used to follow the total inactivation.

Chemical oxidation.

Experiments of photocatalytic oxidation of organic pollutants were carried out using methylene blue. The evolution of the concentration of methylene blue was followed colorimetrically through the decrease in the absorption of the solution at 664 nm.

Methanol was chosen as model chemical pollutant to carry out photoelectrocatalytic experiments. The evolution of the reaction was followed through the colorimetric determination of the formaldehyde produced along the reaction, as a consequence of the oxidation of methanol, according to Nash's method¹⁰.

¹⁰Nash, T. "Colorimetric estimation of formaldehyde by means of the Hantzsch reaction". Biochem. J., 55 (1953) 416-421.

Some pharmaceuticals corresponding to different families of drugs commonly present in natural and wastewaters have been selected as model micropollutants for the experiments: (i) 4-acetamidoantipyrine (4-AAA) antipyretic and non-steroidal anti-inflammatory drug, NSAID); (ii) hydrochlorothiazide (HCTZ) (cardiovascular drug); (iii) sulfamethoxazole (SMX) (antibiotic); (iv) diclofenac sodium salt (DCF). Experiments have been carried out using an initial concentration of $20 \mu\text{g L}^{-1}$, being analyzed through the reaction by using a Varian 325 LC-MS/MS triple quadrupole mass spectrometer, equipped with a vortex electrospray ionisation interface (vESI).

Adhesion experiments.

Bacterial preparation was carried out in the same way as described for the photocatalytic bacterial inactivation experiments. Adhesion experiments were carried out in the same fixed-bed and wall reactor used for carrying out the photocatalytic inactivation experiments, but at a flow rate of 0.025 L min^{-1} . The total void volume of each reactor, which is the volume not occupied by the catalyst or the glass and therefore available for being occupied by the liquid, is 0.121 and 0.189 L for the fixed-bed and wall reactors, respectively. The resulting residence time of each reactor corresponds to 5 and 7.5 min, respectively. Firstly, a bacteria-free suspension whose chemical composition corresponded to that chosen for the test was injected in the reactor for the equilibration of the system. Then, the bacterial suspension was pumped through the reactor for an equivalent of 6-fold the residence time. This time was considered enough to guarantee the saturation of the adhesion sites in the reactor. Afterwards the influent was switched to a bacteria-free suspension of identical chemical composition, leading to a drop-off in the effluent concentration of bacteria until it eventually approached zero. During the whole experiment, the outlet of the reactor was connected to a spectrophotometer where bacterial breakthrough curves are obtained by measuring the absorbance at a wavelength of 546 nm, a signal correlated with the concentration of bacteria in the suspension¹¹. The concentration of bacteria leaving the reactor (normalized by the injected concentration) was plotted against the number of void-reactor volumes eluted through the system to obtain bacterial breakthrough curve (C/C_0)¹¹. These experiments allow the calculation of the amount of bacteria retained on the solid surface available in the fixed-bed reactor corresponding to the solid-liquid interface showed by the titania-coated Raschig rings that filled the entire annular

¹¹ Walker, S. L., Redman, J.A. and Elimelech, M. "Role of cell surface lipopolysaccharides in *Escherichia coli* K12 adhesion transport". *Langmuir*, 20 (2004) 7736-7746.

space. The concentration of cells breaking through the column can be considered as a measure of the relative adhesion. Potassium nitrate was used as inert tracer (0.01 M KNO₃). It was fed into the photoreactor and the absorbance values of the outlet were measured at 248 nm.

Solution chemistry.

Deionised water (DW) (18.2 MΩ cm) and synthetic municipal wastewater¹² diluted to a total organic carbon (TOC) value of 15 mg L⁻¹ to simulate a secondary wastewater treatment plant effluent (SWTPE) were used as model waters for the experiments. 1 M Na₂SO₄ was used as electrolyte for the photocatalytic experiments assisted by an electric potential bias.

III. Results and discussion.

Bacterial inactivation: General aspects.

Mechanism of bacterial inactivation.

Figure 5 shows the typical profile obtained in photocatalytic experiments of bacteria inactivation. Three different regions can be clearly distinguished in the inactivation plot, in agreement with the results reported in the literature⁶. The most accepted inactivation mechanism is based on the disruption of the cell wall due to cumulative [•]OH radical and other reactive oxygen species (ROS) attacks, leading to the bacterial lysis and consequently to the leakage of the intracellular compounds⁶. Therefore, the three regions of the bacterial inactivation profile may be explained as follows:

First, an initial delay or smooth decay at the beginning of the reaction, usually called “*shoulder*” is observed leading to the apparent conclusion that short irradiation times do not lead to a decrease in the number of viable bacteria. The reason of this apparent delay is related to the resistance of the bacteria to a reasonably high amount of oxidative attacks to the membrane before being irreversibly inactivated. In the second region of the curve a log-linear decrease of the concentration of viable bacteria is observed, indicative of the achievement of the sufficient cumulative [•]OH radical attacks required to produce irreversible damages on the cells. The third region of the plot consists of a deceleration of the process at the end of the

¹²Kositzki, M., Poulios, I., Malato, S., Cáceres, J. and Campos, A. “Solar photocatalytic treatment of synthetic municipal wastewater”. *Water Res.*, 38 (5) (2004) 1147-1154.

reaction, usually called “*tail*” and derived of the competition of the organic compounds and biological structures released after the cell lysis due to the hydroxyl radical attacks responsible for the inactivation.

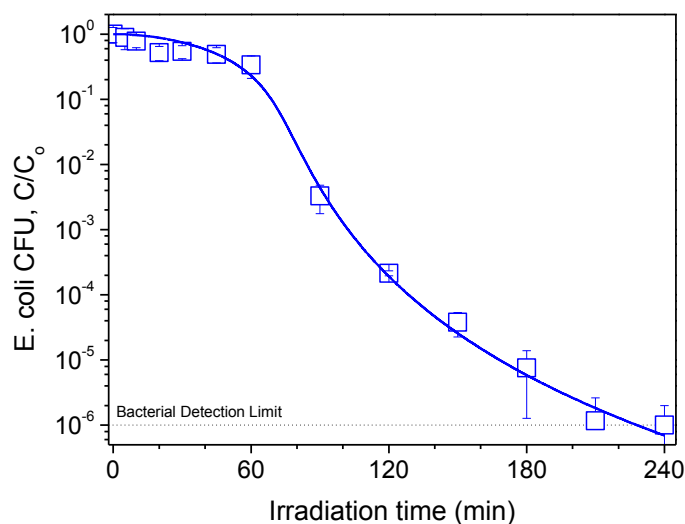


Figure 5. Evolution of the colony forming units (CFU) during a photocatalytic experiment of *E. coli* inactivation in simulated wastewater treatment plant effluent (SWTPE). TiO_2 concentration: 0.1 g L^{-1} Degussa P25; irradiation power: $2.8 \times 10^{-6} \text{ Einstein s}^{-1}$. Error bars calculated from eight independent bacteria analysis. Curve calculated using the kinetic model represented by Eq. (3) and (4).

A direct way to confirm the damages in the cell membrane is the use of permeability assays, commonly used to assess the physiological state of bacteria. For that goal, epifluorescence microscopy using two nucleic acid stains, 4,6-diamidino-2-phenylindole dihydrochloride (DAPI) and propidium iodide (PI), was used. DAPI is a specific DNA fluorochrome that stains all bacteria cells since it is able to cross undamaged cell membranes. In contrast, PI staining indicates that the membrane integrity has been compromised since it cannot cross the cell membrane unless it has been damaged. Consequently, only if the cell membrane is damaged, PI enters the cell and binds to the nucleic acids¹³. A Leica DMI 4000B microscope fitted with a fluorescence attachment coupled with a digital camera was used for the analysis of the samples.

¹³ Carneiro, S., Amaral, A.L., Veloso, A.C.A., Dias, T., Peres, A.M., Ferreira, E.C. and Rocha, I. “Assesment of physiological conditions in *E. coli* fermentations by epifluorescent microscopy and image analysis”. *Biotechnol. Prog.*, 25 (2009) 882-891.

Figure 6 shows the evolution of an experiment of *E. coli* photocatalytic inactivation followed by epifluorescence microscopy after dual DAPI/PI staining. Under UV excitation cells stained with DAPI appear blue fluorescent whereas the cells stained with DAPI/PI appear red fluorescent. Since DAPI is able to cross undamaged membranes but PI is only able to cross damaged membranes, the evolution of the bacterial membrane integrity along the reaction can be easily followed by the ratio between red and blue cells quantified with the help of image processing software. As observed in Figure 7, the number of red cells increases along the reaction, confirming the increase in the membrane permeability produced by the cumulative damages generated by the attack of $\cdot\text{OH}$ radicals.

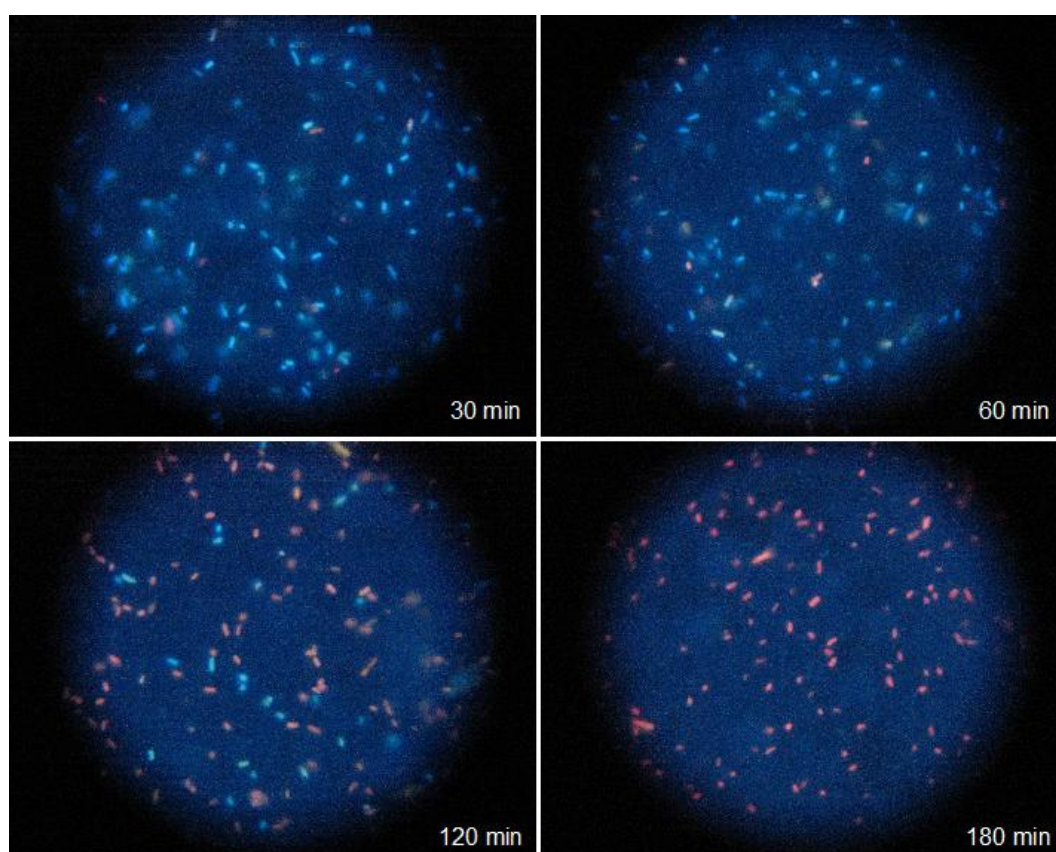


Figure 6. Epifluorescence microscopy images under UV excitation after dual DAPI/PI staining of samples taken from a photocatalytic experiment of *E. coli* inactivation (TiO_2 concentration: 0.1 g L^{-1} Degussa P25; irradiation power: $2.8 \times 10^{-6} \text{ Einstein s}^{-1}$; water matrix: simulated secondary wastewater treatment plant effluent (SWTPE)).

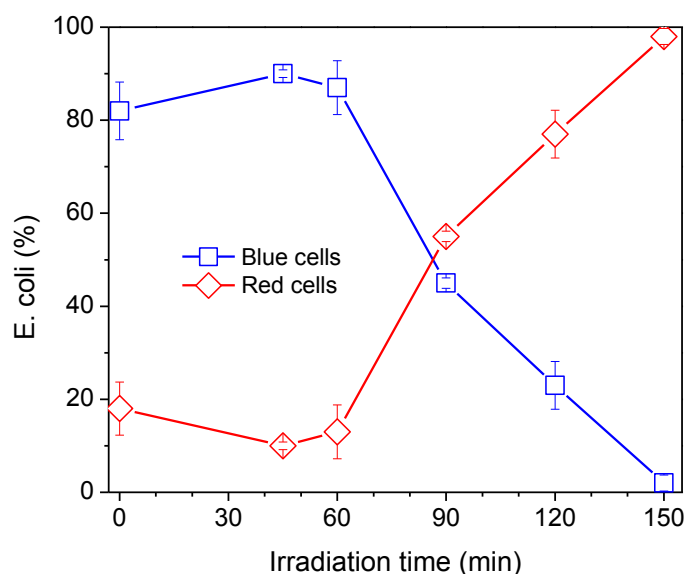


Figure 7. Quantitative results of DAPI/PI permeability assay of a photocatalytic experiment of *E. coli* inactivation in simulated secondary wastewater treatment plant effluent (SWTPE). TiO_2 concentration: 0.1 g L^{-1} Degussa P25; irradiation power: $2.8 \times 10^{-6} \text{ Einstein s}^{-1}$. Counting of the cells computed with the help of *ImageJ 1.42* image processing software. Error bars calculated from three independent images.

These results can be considered complementary to the quantification of colony forming units (CFU) grown on agar plates commonly used to follow disinfection experiments (Figure 5). It must be noted that the curve seems to be in good agreement with that corresponding to undamaged or non-irreversible damaged bacteria (blue curve) in Figure 7, which indicates that cells with damaged membranes are not capable of growing. Although both methods apparently provided equivalent results, epifluorescence microscopy after DAPI/PI staining has the advantage of providing faster information about the mechanism of the initial steps of the reaction, without requiring incubation for 24 h, although the sensibility of the method is not very high. On the other hand, agar plating is a more powerful analytical tool in terms of bacterial detection limit (up to four orders of magnitude lower), being more useful to follow quantitatively disinfection experiments for long irradiation times.

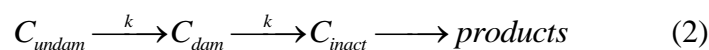
Kinetic Modelling.

As mentioned above, Figure 5 shows the typical profile obtained in photocatalytic experiments of bacteria inactivation. That inactivation profile cannot be successfully reproduced by very simple disinfection kinetic models such as the Chick-Watson equation

(including the modified and delayed versions) or the Hom equation. Only equations with at least three independent parameters are able to fit this type of curves with both a shoulder and a non-symmetrical tail¹⁴. An example is the modified Hom equation:

$$\text{Log} \frac{C}{C_0} = -k_1 [1 - \text{Exp}(-k_2 t)]^{k_3} \quad (1)$$

However, the use of this type of empiric equations is only useful to fit the inactivation data in the plot, because the null physical meaning of the parameters makes very difficult the comparison among different experimental conditions and it is useless for predicting beyond the experimental conditions tested. For that reason, a kinetic model with a mechanistic base that gives physical meaning to the parameters was developed. Assuming a series-event mechanism the following scheme for the photocatalytic bacterial inactivation was proposed:



where C_{undam} represents the undamaged population of bacteria, C_{dam} is a lump of the bacteria in all the intermediate levels of damage (not irreversible), and C_{inact} is the population of inactivated bacteria. The kinetic equations that describe the evolution of the viable bacterial species are:

$$\frac{dC_{undam}}{dt} = -k \frac{KC_{undam}^n}{1 + KC_{undam}^n + KC_{dam}^n} \quad (3)$$

$$\frac{dC_{dam}}{dt} = k \frac{KC_{undam}^n - KC_{dam}^n}{1 + KC_{undam}^n + KC_{dam}^n} \quad (4)$$

being the three kinetic parameters:

1) k , the kinetic constant which represents the rate of the reaction of ROS with bacteria. This constant is the parameter considered by the log-linear Chick-Watson equation.

2) K , the pseudo-adsorption (or interaction) constant which represents the interaction bacteria-catalyst. This constant is equivalent to the adsorption equilibrium constant that appears in the Langmuir-Hinshelwood heterogeneous kinetic model. However, as the size of the microorganisms is larger than that of the titania agglomerates, this constant does not represent strictly an adsorption phenomenon but a more general interaction.

3) n , the inhibition coefficient, which accounts for the inhibition produced by the competition for the ROS of the increasing concentrations of the products released to the

¹⁴Marugán, J., van Grieken, R., Sordo, C. and Cruz, C. "Kinetics of the photocatalytic disinfection of *Escherichia coli* suspensions". Appl. Catal. B: Environ., 82 (2008) 27-36. "Corrigendum". Appl. Catal. B: Environ., 88 (2009) 582-583.

medium upon the bacterial lysis. This effect is especially important at the end of the reaction, being the introduction of this coefficient absolutely required to reproduce experimental data showing a tail.

Solving Eqs. (3) and (4) allows the calculation of the predicted values for the concentration of viable bacteria ($C_{undam}+C_{dam}$). As shown by the continuous line representing viable bacteria prediction in Figure 7, the model is able to reproduce with a good accuracy the experimental results obtained in photocatalytic disinfection experiments. Moreover, the physical meaning of the parameters allows an easy comparison of the results performed under different experimental conditions.

Slurry TiO_2 photocatalytic systems: Main variables of the process and comparison with photocatalytic oxidation of chemicals.

Non-photocatalytic reference experiments.

Prior to the analysis of the photocatalytic results, preliminary reference experiments were carried out in order to determine the contribution of the catalyst and radiation separately to the global efficiency of the inactivation process. The results are shown in Figure 8.

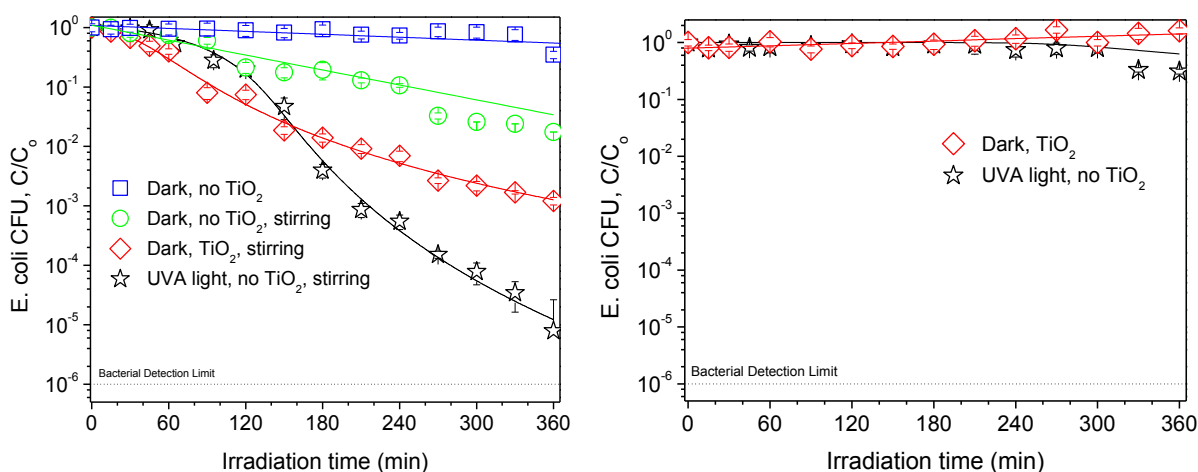


Figure 8. Non-photocatalytic inactivation of *E. coli* under different stressful conditions in deionised water (left) and in simulated wastewater treatment plant effluents (SWTPE) (right). TiO_2 concentration: 0.1 g L^{-1} Degussa P25; irradiation power: $2.8 \times 10^{-6} \text{ Einstein s}^{-1}$. Error bars calculated from eight independent bacteria analysis. Curves calculated using the kinetic model represented by Eq. (3) and (4).

No inactivation of *E. coli* was observed after a week in deionised water in the dark. However, when stirring was switched on, the concentration of viable bacteria in deionised water was slightly reduced, whereas no inactivation is observed in SWTPE. These results seem to agree with Sichel et al.¹⁵, who reported a synergetic effect between stirring and deionised water which lead to a mechanosmotical inactivation of *E. coli*, when bacteria are exposed simultaneously to both stressful conditions.

The presence of TiO₂ particles leads to a considerable decrease in concentration of viable *E. coli*, but only in deionised water, whereas in SWTPE inactivation is neither observed. Although TiO₂ particles have been reported to produce a toxic effect for the bacteria survival¹⁶, the differences observed for the *E. coli* inactivation in both kinds of water suggest that the osmotic stress due to deionised water must be also taken into account. In fact, several authors have reported⁶ that the lack of ions in deionised water lead to changes in the cell wall permeability due to a leakage of Ca²⁺ and Mg²⁺ ions from the cell towards the suspension to strike the balance between the suspension and the inner cell. This weakens the cell wall of the bacteria and might favor the entrance of the smallest TiO₂ particles inside the cell, affecting the bacterial viability.

Finally, UV-A irradiation led to a 5-log decrease in the viable *E. coli* concentration in deionised water. Although the inactivation mechanism of only UV-A light is not very clear, it seems to be related to the absorption of UV-A light by the intracellular components of the bacteria, leading to the internal production of reactive oxygen species (ROS), responsible for the cellular damages⁶. However, as inactivation is neither observed in SWTPE, it seems that *E. coli* posses repairing mechanism for this kind of damage that become inefficient when bacteria is simultaneously affected by osmotic stress.

These preliminary experiments lead to the conclusion that bacteria are very resistant to individual osmotic, mechanical or illumination stressful conditions, but they are very sensitive when both of them are combined, especially in hypotonic solutions. These effects are not observed in the equivalent experiments for chemicals (data not shown) in which the removal is negligible for both types of water.

¹⁵ Sichel, C., Blanco, J., Malato, S. and Fernández-Ibáñez, P. "Effects of experimental conditions on *E. coli* survival during solar photocatalytic water disinfection". *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.*, 189 (2007) 239-246.

¹⁶ Gomes, A.I., Santos, J., Vilar, V.J.P. and Boaventura, R.A.R. "Inactivation of bacteria *E. coli* and photodegradation of humic acids using natural light". *Appl. Catal. B: Environ.*, 88 (2009) 283-291.

Effect of TiO_2 concentration.

Figure 9 compares the effect of TiO_2 concentration on the efficiency of photocatalytic *E. coli* inactivation and methylene blue oxidation.

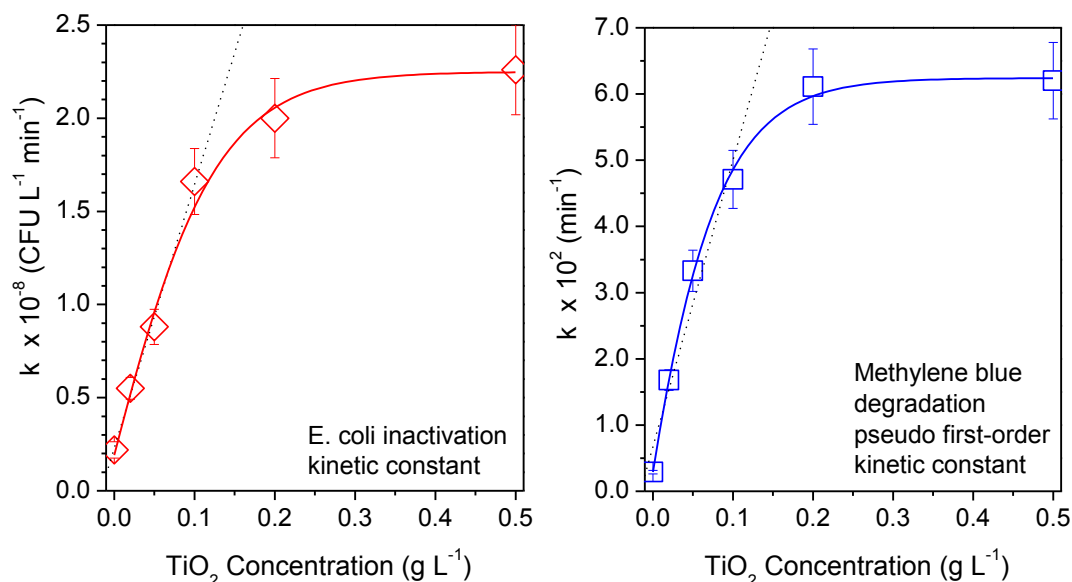


Figure 9. Comparison of the dependence on the TiO_2 concentration of the kinetic constants for *E. coli* inactivation and methylene blue degradation in deionised water. *E. coli* initial concentration: 10^6 CFU mL^{-1} . Methylene blue initial concentration: 0.02 mM. Irradiation power: $2.8 \times 10^{-6} \text{ Einstein s}^{-1}$. Error bars estimated from duplicated experiments.

A linear dependence (corresponding to optimal catalyst utilisation) of the inactivation kinetic constant on the catalyst concentration is observed for titania concentrations below 0.1 g L^{-1} . It is due to the fact that a higher amount of TiO_2 involves a higher absorption of photons, leading to a higher $\cdot\text{OH}$ radical generation rate and therefore, a faster inactivation of bacteria. Above this value, the increase in the catalyst concentration does not lead to considerably higher activities, in agreement with previous reports¹⁷. For high catalyst concentration an asymptotic value is observed, corresponding to the maximum absorption of photons in the system. It is observed that both disinfection and oxidation photocatalytic processes are equally affected by the catalyst concentration. Both curves show a similar trend with an optimal TiO_2 concentration around 0.1 g L^{-1} , since a higher amount of catalyst does not remarkably improve the activity. Therefore, the optimal catalyst concentration does not seem

¹⁷Chen, F., Yang, X., Xu, F., Wu, Q. and Zhang, Y. "Correlation of photocatalytic bactericidal effect and organic matter degradation of TiO_2 . Part I: Observation of phenomena". *Environ. Sci. Technol.*, 43 (2009) 1180-1184.

to be influenced by microbiological considerations and only seems to depend on the irradiation power and the geometry of the photoreactor since both parameters have influence in the amount of catalyst required for the optimal absorption of photons and consequently, the $\cdot\text{OH}$ radical generation rate.

Effect of the irradiation power.

Figure 10 compares the effect of the irradiation power on the efficiency of both photocatalytic processes, *E. coli* inactivation and methylene blue oxidation. In both cases, a linear increase in the kinetic constant is observed as the irradiation power increases. This linear dependence corresponds to the optimal light utilisation, as for higher irradiation power the second-order electro-hole recombination processes are favoured, decreasing the efficiency of the process⁴. Consequently, since both inactivation and oxidation processes have shown a similar behaviour for the influence of the TiO_2 concentration and irradiation power, a correlation between the activities of both processes might be also expected for other variables, as it was suggested by Chen et al.¹⁷. However, it should be considered that these operational parameters, TiO_2 concentration and irradiation power, seem to be only involved in the $\cdot\text{OH}$ radical generation upon illumination of the catalyst, being this process independent on the kind of the target.

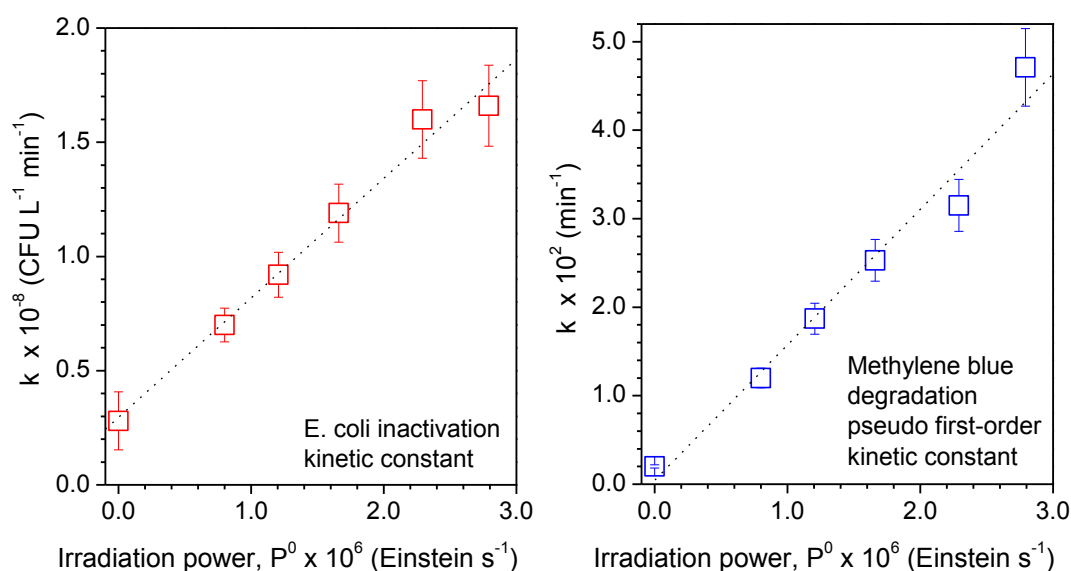


Figure 10. Comparison of the dependence on the irradiation power of the kinetic constants for *E. coli* inactivation and methylene blue degradation in deionised water. TiO_2 concentration: 0.1 g L^{-1} . *E. coli* initial concentration: 10^6 CFU mL^{-1} . Methylene blue initial concentration: 0.02 mM . Error bars estimated from duplicated experiments.

Effect of water composition.

Figure 11 shows the effect of the presence of different inorganic and organic species commonly found in water to understand the effect of each substance separately. Additionally, a mixture of all substances has been tested to study their synergistic and antagonistic effects, and the results have been compared with those obtained when SWTPE is used. The results are compared in terms of relative activity taking the experiments in DW as reference.

In general, with the exception of chlorides, the disinfection process is more sensitive to the presence of ions and organic matter in water since the photocatalytic inactivation efficiency was much more negatively affected. In addition, it must be noticed the considerably decrease in the activity for *E. coli* inactivation when phosphates are present whereas methylene blue oxidation seems to be almost unaffected. Bicarbonates, phosphates and humic acids lead to a clear decrease in the efficiency of the inactivation process. As has been already reported⁶, these substances remove partly the osmotic stress provided by the deionised water and also can act as scavengers, reducing the generation of $\cdot\text{OH}$ radicals. In addition, phosphates and humic acids might be used for the bacteria as nutrients and even both of them can absorb photons¹⁸, reducing the number of available photons to activate the catalyst. It is important to note that phosphates have shown the highest effect on the inhibition of the *E. coli* inactivation (at a much lower concentration), suggesting that bacteria-catalyst interaction might become more negatively affected in the presence of phosphates: Li and Logan¹⁹ observed that some anions such as bicarbonates and phosphates can lead to the formation of a layer negatively charged onto the TiO_2 surface, reducing the bacteria-catalyst interaction (bacterial cell wall is also negatively charged) and consequently, the inactivation rate. This is in agreement with other authors²⁰, who have also suggested that the presence of phosphates leads to reduce the bacteria- TiO_2 interaction. Cohen-Yaniv et al.²⁰ also explained this effect as a consequence of the increase in pH due to the presence of bicarbonates and phosphates since a basic pH might reduce the bacteria-catalyst interaction. In contrast, basic pH favours the methylene blue- TiO_2 interaction, which improves the photocatalytic oxidation process,

¹⁸Rincón, A.G. and Pulgarín, C. "Effect of pH, inorganic ions, organic matter and H_2O_2 on *E. coli* K-12 photocatalytic inactivation by TiO_2 : Implications in solar water disinfection". Appl. Catal, B: Environ., 51 (2004) 283-302.

¹⁹Li, B. and Logan, B. "Bacterial adhesion to glass and metal-oxide surfaces". Colloid. Surface. B, 36 (2004) 81-90.

²⁰Cohen-Yaniv, V., Narkis, N. and Armon, R. "Photocatalytic inactivation of *Flavobacterium* and *E. coli* in water by a continuous stirred tank reactor (CSTR) *fec* with suspended/immobilize TiO_2 medium". Water Sci. & Technol., 58 (2008) 247-252.

reducing the scavenging effect of the phosphates on the photocatalytic oxidation efficiency²¹. Therefore, these observations point out the importance of the bacteria-catalyst interaction to successfully carry out the inactivation, since the $\cdot\text{OH}$ radical attack needs the close contact between bacteria and catalyst. Moreover, they also suggest that water composition can lead to different effects on the interaction of bacteria or organic compounds with the catalyst, which can involve differences in the photocatalytic activity.

Concerning the effect of the chloride ions, a remarkably opposite behaviour is observed in both photocatalytic processes. Whereas a clear enhancement of the disinfection efficiency is achieved, a considerable reduction of the methylene blue degradation is observed, suggesting a significant $\cdot\text{OH}$ radical scavenging effect to form chlorinated species with a high disinfection potential but low oxidation activity.

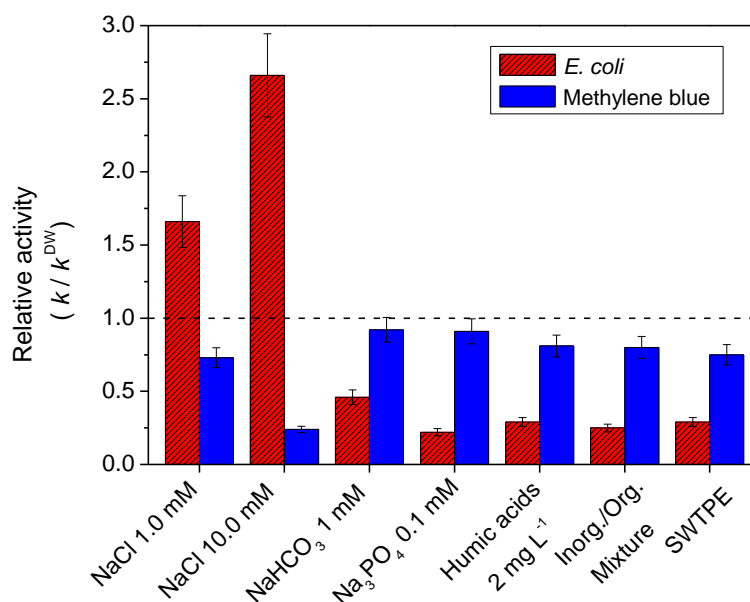


Figure 11. Comparison of the dependence on the water composition of the kinetic constants for *E. coli* inactivation and methylene blue degradation in relative terms to deionised water. TiO₂ concentration: 0.1 g L⁻¹; irradiation power: 2.8×10^{-6} Einstein s⁻¹. *E. coli* initial concentration: 10⁶ CFU mL⁻¹. Methylene blue initial concentration: 0.02 mM Inorganic/organic mixture: 1 mM NaHCO₃, 0.2 mM Na₃PO₄, 10 mM NaCl and 2 mg L⁻¹ humic acids. Error bars estimated from duplicated experiments.

Effect of the initial concentration of microorganism.

²¹Guillard, C., Puzenat, E., Lachheb, H., Houas, A. and Herrmann, J.M. "Why inorganic salts decrease the TiO₂ photocatalytic efficiency". Int. J. Photoenergy, 7 (2005) 1-9.

Experiments of bacterial inactivation in water with different initial concentration in the range from 10^3 to 10^6 CFU mL⁻¹ have been carried out both in DW and SWTPE (data not shown). The results confirm the expected longer irradiation time required to achieve the bacterial inactivation below the detection limit as the initial concentration of bacteria increases, due to the competition of a higher amount of cells for the same amount of $\cdot\text{OH}$ radicals. These results are represented in relative terms of C/C_0 in Figure 12, leading to very similar values of k (the slope of the inactivation curves). It means that the time required for a complete inactivation is not as significant as the increase in initial bacterial concentration. Therefore, these results are in agreement with the independence of k for initial concentrations between 10^3 and 10^{10} CFU mL⁻¹, as reported by Fernández-Ibáñez²².

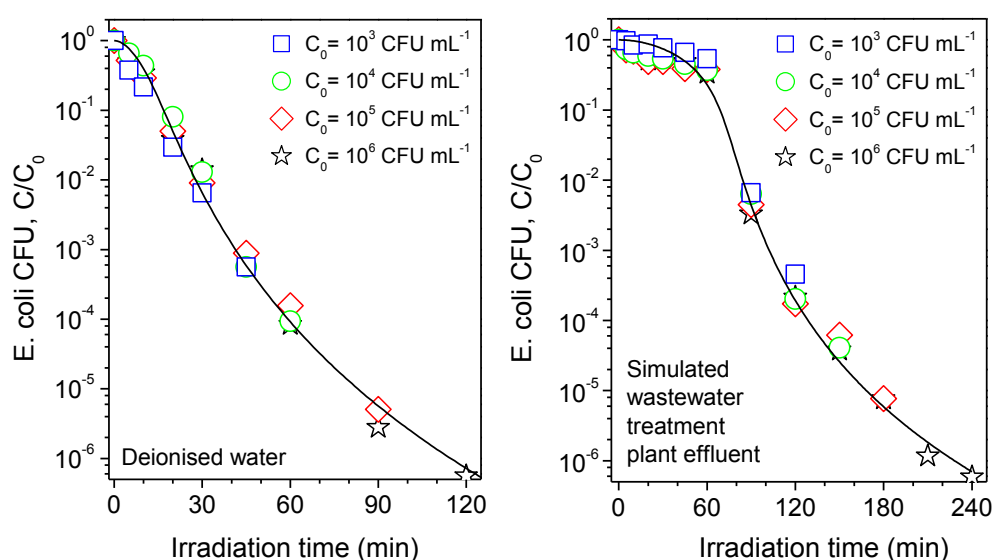


Figure 12. Influence of the initial concentration of bacteria on the relative photocatalytic inactivation of *E. coli* in deionised water (left) and simulated wastewater treatment plant effluent (SWTPE) (right). TiO_2 concentration: 0.1 g L^{-1} ; irradiation power: $2.8 \times 10^{-6} \text{ Einstein s}^{-1}$. Curves calculated using the kinetic model represented by Eq. (3) and (4).

Type of microorganisms.

Despite the limiting factor to effective photocatalytic inactivation being the proximity between microorganisms and the transient hydroxyl radicals produced by the catalyst, only a few studies have been focused on bacteria- TiO_2 interaction, mainly on the influence of the pH and the isoelectric point of the catalyst⁶. However, according to Li and Logan¹⁹, other bacteria

²²Fernández Ibáñez, P. In: Blesa, M.A. and Sánchez B. (Eds.) “Eliminación de contaminantes por fotocatalisis heterogénea”. CIEMAT, Madrid, 2004, 259-276.

properties such as hydrophobicity and surface charge must also be considered. Other groups²³ also reported that these differences among bacteria have influence in bacterial adhesion to the catalyst, leading to differences in the inactivation rate. Rincón and Pulgarín have suggested that bacteria can develop resistance forms under stressful conditions which not only might make them more resistant to a photocatalytic bacterial inactivation process²⁴ but also improve bacterial adhesion to the catalyst²⁵. Since the photocatalytic attack has been proved to be produced on the bacteria outer wall, more attention must be paid to the differences of wall structure which may also lead to different photocatalytic inactivation efficiency. In this case, the differences between Gram-negative and Gram-positive bacteria have been considered as example since results reported in literature have shown the controversy regarding the effect of the differences in bacterial cell wall structure on photocatalytic efficiency for bacterial inactivation. Gram-positive bacteria such as *E. faecalis* have been widely reported²⁶ to be more resistant than Gram-negative bacteria to the $\cdot\text{OH}$ radical attacks due to its cell wall made of a thicker layer of peptidoglycan that would require a higher number of cumulative attacks to damage the bacteria irreversibly. In contrast, other authors²⁷ have also pointed out a higher resistance towards $\cdot\text{OH}$ radical attacks for Gram-negative versus Gram-positive, since the former possess a more complex cell wall structure due to an additional outer membrane which might also hinder the $\cdot\text{OH}$ radical attack.

Firstly, as mentioned above, since bacterial properties (hydrophobicity, surface charge, chemical composition of their cell wall, and resistant forms) may affect the photocatalytic response, a bacterial characterization for *E. coli* and *E. faecalis* was carried out in DW and SWTPE. The results are shown in Table 1. No noticeable differences are observed between both bacteria. Neither important difference is observed for both analysed suspensions (DW and SWTPE). Although the SWTPE does not present a high ionic content, bacterial surface charge does not seem to be affected by the adsorption of the ions present in this suspension²³.

²³ Konhauser, K. "Introduction to Geomicrobiology", 1st ed., Wiley-Blackwell, UK, 1992.

²⁴ Rincón, A.G. and Pulgarín, C. "Use of coaxial photocatalytic reactor (CAPHORE) in the TiO_2 photoassisted treatment of mixed *E. coli* and *Bacillus sp.* and bacterial community present in wastewater". Catal. Today, 101 (2005) 331-344.

²⁵ Portinga, A.T., Bos, R., Norde, W. and Busscher, H.J. "Electric double layer interactions in bacterial adhesion to surfaces". Surf. Sci. Rep., 47 (2002) 1-32.

²⁶ Rincón, A.G. and Pulgarín, C. "Bactericidal action of illuminated TiO_2 on pure *Escherichia coli* and natural bacteria consortia: Post-irradiation events in the dark and assessment of the effective disinfection time". Appl. Catal. B: Environ., 49 (2004) 99-112.

²⁷ Dalrymple, O.K., Stefanakos, E., Trotz, M.A. and Goswami, D.Y. "A review of the mechanisms and modeling of photocatalytic disinfection". Appl. Catal. B: Environ., 98 (2010) 27-38.

Table 1. Bacterial characterization as function of the solution chemistry: hydrophobicity, surface and cell wall charge.

Bacteria	^a Relative hydrophobicity (%)	^b Zeta potential (ZP) (mV)	^c Surface charge density ($\mu\text{C cm}^{-2}$)	^d Acidity ($\text{meq}/10^8 \text{ cell}$) $\times 10^{-5}$
<i>E. coli</i> (DW)	37.7 \pm 8.65	-56.93 \pm 0.89	216 \pm 29.5	1.06 \pm 0.07
<i>E. faecalis</i> (DW)	48.1 \pm 15.1	-49.43 \pm 3.19	249 \pm 34.7	1.21 \pm 0.09
<i>E. coli</i> (SWTPE)	38.1 \pm 9.91	-53.50 \pm 0.82	211 \pm 43.8	1.06 \pm 0.03
<i>E. faecalis</i> (SWTPE)	42.4 \pm 8.43	-49.64 \pm 0.96	162 \pm 11.8	0.95 \pm 0.05

^aThe microbial adhesion to hydrocarbons (MATH) test is a measurement of cell hydrophobicity determined from the fraction of cell partitioned into n-dodecane versus an electrolyte. ^bZP, Zeta potential indicates the surface charge and magnitude of the bacteria. It was recorded recorded with a ZetaPALS analyzer (Brookhaven Instruments Corporation). ^cSurface charge densities and ^dacidities of bacteria involve not only surface charges but the charges present on the whole cell wall structure and were determined from the amount of NaOH consumed during a potentiometric titration from pH 4 to 10, recorded with a titrator (794 Basic Titrino, Metrohm). Data were processed by using *FITEQLA* software. More details about these protocols can be found elsewhere²⁸. Error bars estimated from triplicated experiments.

Negative values of ZP are obtained for *E. coli* and *E. faecalis* in both suspensions which indicate that bacteria are negatively charged under the conditions present in the solutions. Additionally, similar absolute values of ZP are observed for both bacteria in DW and SWTPE, indicating a similar bacterial surface charge. As expected, higher pH values than 4 in the test suspensions lead to a negative charge surrounding bacteria since the isoelectric point of bacterial cell walls is between 2 and 4²³. Bacterial surface charge, determined by ZP measurements, also indicates the hydrophobic behavior of bacteria when no charge is observed²³. Since both bacterial surfaces are charged (as the negative values of ZP indicate), *E. coli* and *E. faecalis* show a hydrophilic behaviour in DW and SWTPE. These data agree with the information provided by hydrophobicity measurements. Finally, differences in charge density and acid-base sites on the cell wall structure of both bacteria are neither observed.

²⁸Chen, G. and Walker, S.L. "Role of solution chemistry and ion valence on the adhesion kinetics of groundwater and marine bacteria". *Langmuir*, 23 (2007) 7162-7169.

Table 2 shows the composition of functional groups together with their concentration on the cell membrane. Those groups are ionizable depending on the pH values of the solution and their ionization leads to the electrostatic charge outside and on the bacterial cell surface²³. Carboxylic groups and phosphates, which correspond to the sites 1 and 2, are predominant. Thus, these anionic groups are present in a higher number compared to cationic groups such as amine groups for a range of pH values from 5-7, which corresponds to that of the suspensions. This fact would lead to a negative surface charge for both bacteria under these pH values, in agreement with ZP values. These results are also in agreement with those reported by Hong and Brown²⁹. The amine/hydroxyl groups have only been identified for *E. faecalis*, although at a lower concentration compared to that of carboxylic groups and phosphates. Amine groups are present at a higher number for Gram-positive bacteria, although they are also at a lower proportion in the proteins of Gram-negative bacteria. Moreover, it was reported that for the Gram-negative bacteria, the outer membrane is dominated by lipopolysaccharides and phospholipids²⁹. In addition to this, amine/hydroxyl groups can be detected for a range of pK_3 values from 9.1 to 10.89²⁹. However, the range of pH analysed in this case was from 4 to 10, being those values the detection limit of the titrator. Therefore, these differences identified in amine/hydroxyl groups should not be taken into consideration.

Table 2 also shows the sugar and protein content present in the resistant forms (extracellular polymeric substances, EPS) developed for both bacteria under stressful conditions such as sonication. In this case, no remarkable differences are observed in the composition of EPS between both bacteria. Chen and Walker²⁸ reported that differences in the composition of these forms may affect the surface charge density and hydrophobicity of the bacteria. This fact may also have consequences in bacteria-TiO₂ interaction together with the bacterial cell wall resistance to $\cdot\text{OH}$ radical attacks during a photocatalytic treatment.

²⁹Hong, Y. and Brown, D.G. "Cell surface acid-base properties of *Escherichia coli* and *Bacillus brevis* and variation as a function of growth phase, nitrogen source and C:N ratio". Colloid. Surface. B, 50 (2006) 112-119.

Table 2. Concentration of carboxylic/phosphoric/phosphodiester (1), phosphoric (2) and amine/hydroxyl (3) groups in units of 10^{-15} mol cell⁻¹. Polysaccharide and protein content in extracellular polymeric substances (EPS), developed by the bacteria under stressful conditions (sonication for 3 min). Suspension: Deionised water (DW).

Bacteria	^a pk₁ (C₁)	^a pk₂ (C₂)	^a pk₃ (C₃)	^c Polysaccharides mg/10¹⁰ cell	^d Proteins mg/10¹⁰ cell
<i>E. coli</i>	4.15 (0.036)	6.99 (0.098)	^b –	0.43 ± 0.18	42.0 ± 8.1
<i>E. faecalis</i>	4.50 (0.023)	6.46 (0.049)	9.57 (0.033)	0.61 ± 0.07	47.1 ± 10.9

^aDissociation constants (pK_i) and their corresponding site concentration (C_i) of ionizable functional groups outside and on the bacterial cell surface, determined potentiometric titration from pH 4 to 10. Data were processed by the chemical speciation software FITEQL 4.0. ^bNo detected. ^cSugar content determined by Xanthan gum test. ^dProtein content determined by bovine serum albumin (BSA) test. More details about these protocols can be found elsewhere²⁸. Error bars estimated from triplicated experiments.

The results of photocatalytic bacterial inactivation are shown in Figure 13. They suggest that differences between the inactivation of Gram-positive *E. faecalis* and Gram-negative *E. coli* bacteria are not very significant either in deionised water or in SWTPE. Both types of bacteria are successfully inactivated after similar irradiation times. Moreover, additional experiments with mixtures of both types of bacteria (not shown) confirmed the absence of preferential inactivation. These results are in agreement with the information provided by bacterial characterization. No differences in hydrophobicity, outside charge and on bacterial cell surface, bacterial cell composition, and resistant forms under stressful conditions have been observed. It seems to agree with photocatalytic bacterial inactivation results since no notable differences in the irradiation time required to reach a complete photocatalytic bacterial inactivation have been detected. These results support the choice of *E. coli* as a suitable indicator microorganism to follow the evolution of photocatalytic disinfection processes.

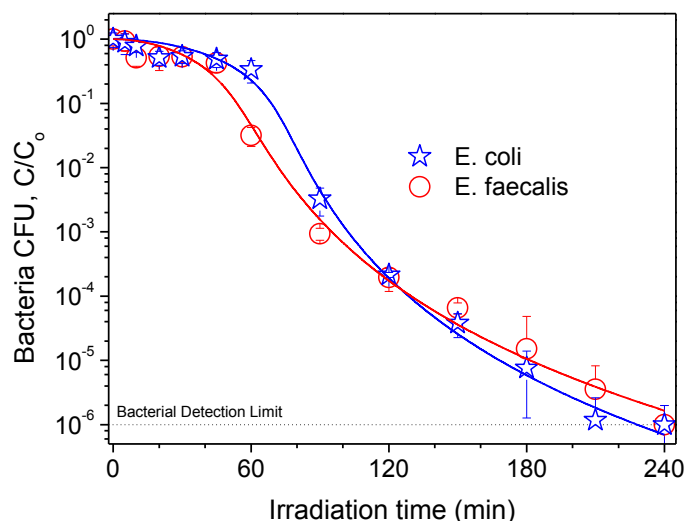


Figure 13. Photocatalytic inactivation of *E. coli* (Gram-negative) and *E. faecalis* (Gram-positive) bacteria in simulated wastewater treatment plant effluents (SWTPE). TiO_2 concentration: 0.1 g L^{-1} ; irradiation power: $2.8 \times 10^{-6} \text{ Einstein s}^{-1}$. Error bars calculated from eight independent bacteria analysis. Curves calculated using the kinetic model represented by Eq. (3) and (4).

Comparison between slurry and immobilised TiO_2 photocatalytic reactors.

Firstly, an optimization of the most adequate amount of TiO_2 incorporated onto the inner glass tube of the wall reactor was carried out by analysis of their physical-chemical properties and photocatalytic activity. Regarding the physical-chemical characterization of the TiO_2 coatings, scanning electron microscopy (SEM) micrographs of the coated glass wall of the reactor were taken on a JEOL JSM-6400 working at an acceleration voltage of 15-30 kV. Figure 14 displays the SEM micrograph of the inner-tube glass wall after three TiO_2 coating cycles. From these analysis, it has been determined that the average thickness of the TiO_2 layer increases from $0.44 \pm 0.15 \mu\text{m}$ for 1 coating to $0.69 \pm 0.13 \mu\text{m}$ for 2 coatings and $1.28 \pm 0.12 \mu\text{m}$ for 3 coatings. Concerning the optical properties of the materials, the UV-vis absorption spectra of the glass wall of the reactor after 1, 2 and 3 TiO_2 coatings was recorded in the 300–500 nm range with a Varian Cary 500 Scan UV–VIS–NIR spectrophotometer. As the number of coatings increases, and consequently the thickness of the TiO_2 layer, the absorbance of the wall increases, with only a 1 % of transmission below 390 nm for the material with 3 coatings (absorbance around 2). Thus, 3 TiO_2 coating cycles are enough to maximise the absorption of the catalysts.

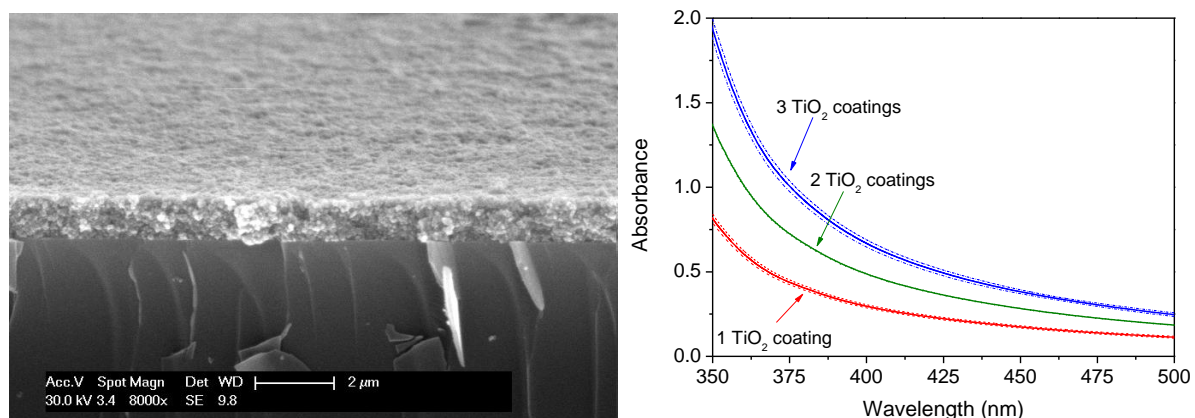


Figure 14. Characterization of the wall TiO₂ coatings: SEM micrograph of the glass wall after 3 TiO₂ coating cycles (left) and UV-vis absorption spectra of the wall with increasing number of coatings (right).

The photocatalytic activity for bacterial inactivation and methanol degradation was also analysed for a different number of TiO₂ coatings from 1 to 5. Figure 15 shows the comparison of this activity in terms of kinetic constant. For bacterial photocatalytic inactivation, a similar activity is observed from 1 to 4 TiO₂ coatings. Therefore, an increase in the number of TiO₂ coatings above 1 does not lead to a noticeable increase in the efficiency of the process. It might be due to the size of bacteria, bigger compared to a chemical compound. Bacteria may only be able to use the surface of the coating whereas a chemical compound would be able to diffuse through the porous layer. In contrast, a remarkable decrease in activity is observed when increasing the number of TiO₂ coatings from 4 to 5. It might be due to the increase in the density of the film, reducing the pore volume as a consequence of the thermal treatment carried out after each coating cycle. It might negatively affect bacteria-TiO₂ contact. If these bacterial inactivation results are compared to those of the organic compound, important differences are observed. There is a lineal increase in activity when increasing the number of TiO₂ coatings up to 2. No notably enhancement of activity is observed above this value. It is in agreement with the results provided by the physical-chemical characterization. Therefore, 2 TiO₂ coatings seem to optimize the amount of absorption of UV-A radiation. It was chosen for the following experiments, even for bacterial photocatalytic inactivation to avoid UV-A absorption limitations. Deactivation of the catalyst immobilized onto the glass wall of the reactor was also tested (data not shown) for SWTPE. After 3 cycles of reaction, bacterial inactivation activity keeps constant.

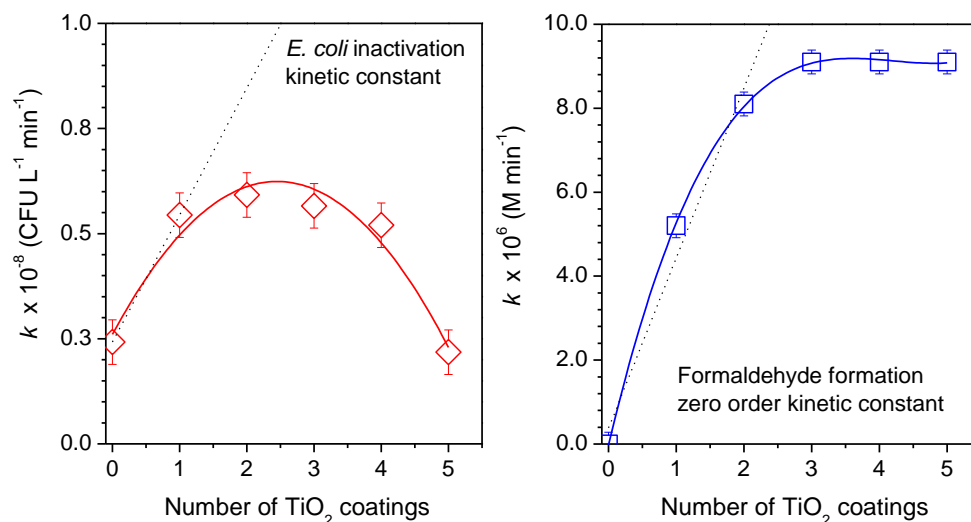


Figure 15. Comparison of the dependence on the TiO₂ number of coatings of the kinetic constants for *E. coli* inactivation and methanol degradation for a wall reactor in deionised water. *E. coli* initial concentration: 10⁶ CFU mL⁻¹. Methanol initial concentration: 0.1 M. Irradiation power: 2.8 × 10⁻⁶ Einstein s⁻¹. Error bars estimated from duplicated experiments.

Similar results regarding optimization of TiO₂ coatings for bacterial photocatalytic inactivation have been observed for the fixed-bed reactor in DW. Even, no deactivation is observed in SWTPE after 10 cycles of reaction.

Figure 16 shows a comparison of the bacterial inactivation photocatalytic efficiency achieved by the slurry and the two immobilised reactors in deionised water and simulated wastewater treatment plant effluent.

Firstly, as expected, a longer irradiation time was required to reach a complete inactivation for the slurry system (as it is the case for the wall reactor) in SWTPE compared with the irradiation time required in deionised water. It is due to the competence between ions and organic matter and bacteria for [•]OH radicals, to the lack of osmotic stress observed in deionised water and also to the influence of the substances present in water in the adhesion of the bacteria with the catalyst. It must be noted that the bacterial detection limit is reached for the three photocatalytic reactors for both, deionised water and SWTPE. In addition, the fixed-bed reactor allows reaching a 6-log decay in *E. coli* concentration after an irradiation time comparable to that of the TiO₂ slurry in deionised water and even the fixed-bed reactor shows an enhancement in the irradiation time required to reach the bacterial detection limit in SWTPE compared to that of the slurry reactor.

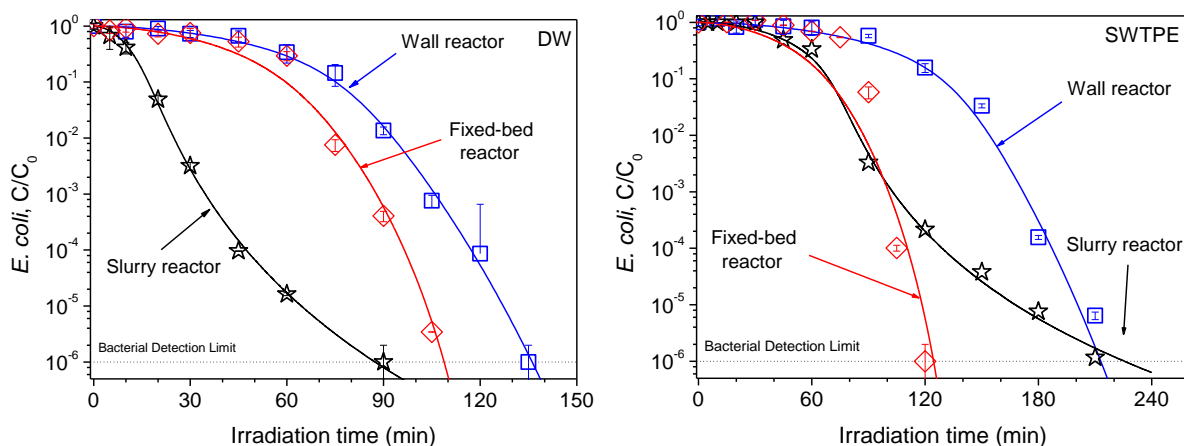


Figure 16. Comparison of the photocatalytic efficiency of immobilised and slurry TiO_2 for *E. coli* inactivation in deionised water (DW) and simulated wastewater treatment plant effluent (SWTPE). Irradiation power: 2.8×10^{-6} Einstein s^{-1} . TiO_2 concentration: 0.1 g L^{-1} . Number of TiO_2 coatings: 2. Error bars calculated from eight independent bacteria analysis. Curves calculated using the kinetic model represented by Eq. (3) and (4).

Secondly, there are important differences in inactivation profiles between the slurry and the immobilised systems. TiO_2 in suspension in DW leads to higher inactivation activities for short reaction time, decreasing the rates for longer irradiation time. In contrast, the inactivation curves obtained with the immobilised reactors show a longer initial delay, but for longer irradiation time, the bacterial inactivation is accelerated. The differences between slurry and immobilised systems inactivation profiles have also been observed by other groups³⁰ and they might be due to a different bacteria- TiO_2 interaction. Moreover, the ending tail observed in experiments carried out in the slurry reactor is not present in reactions with immobilised TiO_2 , suggesting that the inhibition of the process by the organic and inorganic compounds released to the medium after the bacterial lysis is much more significant when TiO_2 is suspended. In DW, it might be due to the competence between bacteria and compounds released after the bacterial lysis. This hypothesis seems to be confirmed by the results obtained in the photocatalytic inactivation of *E. coli* in SWTPE, where a significant deactivation of the process is observed for the slurry TiO_2 compared to that of the immobilised systems. In addition, the initial delay or shoulder observed for the slurry reactor is notably increased in

³⁰Gumy, D., Rincón, A.G., Hadju, R. and Pulgarín, C. "Solar photocatalysis for detoxification and disinfection of water: Different types of suspended and fixed TiO_2 catalysts study". Sol. Energy, 80 (2006) 1376-1381.

SWTPE in comparison with that observed in DW unlike it is observed for the fixed-bed reactor. In fact, the irradiation time required for reaching the bacterial detection limit in SWTPE for the fixed-bed reactor is similar to that required in DW. Therefore, the differences observed between the slurry and immobilised reactors might be due to a different bacteria-TiO₂ interaction, which is the main difference between both reactor configurations, since the competition of the chemical substances present in the water for the $\cdot\text{OH}$ radicals and their influence in the bacteria adhesion onto the surface of the catalyst should be the same in both systems. Moreover, these differences in bacteria-TiO₂ interaction might also be responsible of the differences in inactivation profiles. To clarify the mechanistic differences in bacteria-catalyst interaction between the slurry and immobilised reactors, additional experiments by means of quantitative analysis of epifluorescence microscopy pictures along a reaction with the fixed-bed photocatalytic reactor. Figure 17 shows the results obtained in the counting of blue and red cells as the irradiation time increases. As can be noticed, the amount PI-stained cells (those with a permeable damaged membrane) increase from the very beginning of the reaction, in comparison with the delay observed when using TiO₂ in suspension (Figure 7).

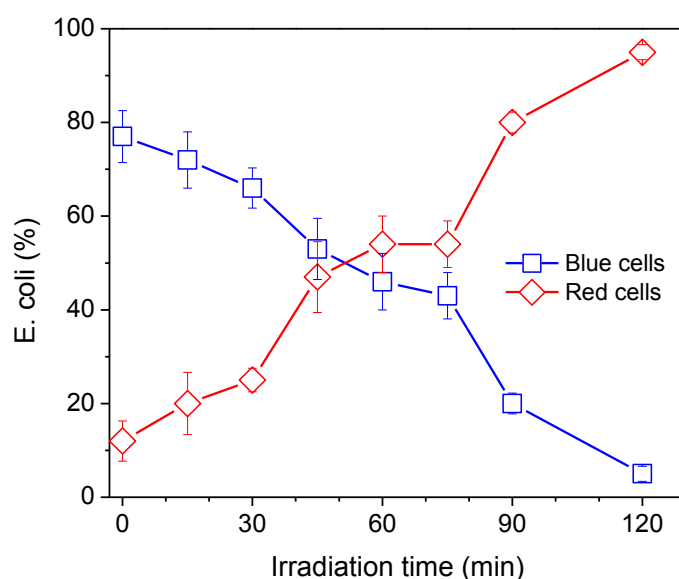


Figure 17. Quantitative results of DAPI/PI permeability assay of a photocatalytic experiment of *E. coli* inactivation in simulated wastewater treatment plant effluent (SWTPE) with an immobilised TiO₂ fixed-bed reactor. Irradiation power: 2.8×10^{-6} Einstein s⁻¹. Values computed with the help of *ImageJ 1.42* image processing software. Error bars calculated from three independent images.

According to the membrane permeability assays, the damaged bacteria increased from the beginning of the reaction for the fixed-bed reactor, whereas damages in membrane did not appear before 60 min of irradiation time for the slurry system. Therefore, damaged bacteria appeared earlier for the immobilised system, although that not means that bacteria are inactivated, because they remain viable for growing, as shown by the results of the reactions followed by cultures on agar plates. These results could be explained considering the differences in the bacteria-TiO₂ interaction represented in Figure 18. For the slurry system, the TiO₂ particles cover a large surface of the bacteria and the smallest can even enter the cytoplasm, leading to [•]OH radical attacks distributed all over the cell wall (or even inside the bacteria). In contrast, for the immobilised reactor, the bacteria interaction with the catalyst occurs in a reduced part of the surface of the microorganism, without any possibility of inactivation due to the entry of TiO₂ particles into the bacteria, leading to [•]OH radical attacks concentrated on a specific area of the bacteria cell wall.

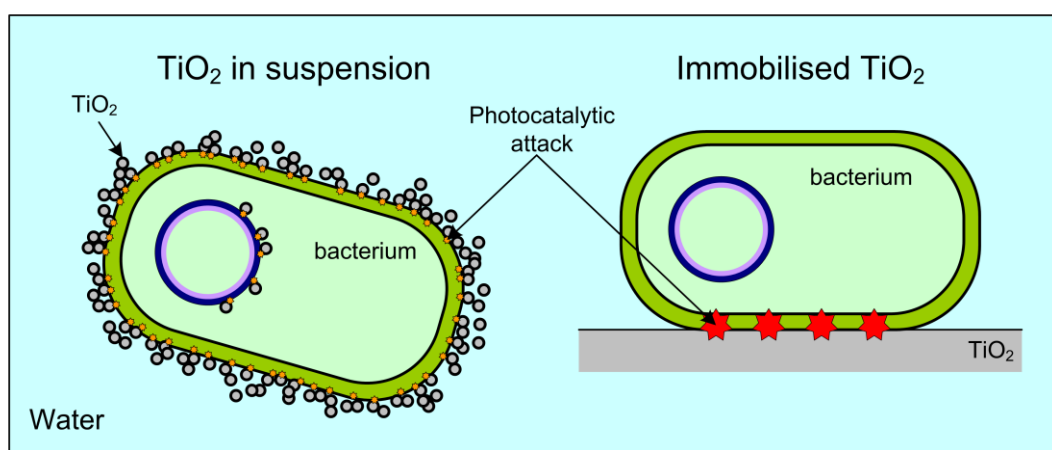


Figure 18. Schematic representation of the differences in the bacteria-TiO₂ interaction for slurry (left) and immobilised (right) systems.

Since the bacteria-TiO₂ interaction for the immobilised reactor can take place on a specific part of the cell wall, the [•]OH radical attacks might be more efficient than those for the slurry system, requiring a lower number of cumulative damage to inactivate the bacteria because they are more concentrated. In contrast, for the slurry system, longer irradiation time is required to increase the membrane permeability in comparison to the immobilised system, suggesting that since damages are distributed over all the membrane, the [•]OH radical attacks are not so effective, requiring a higher number of cumulative damages to achieve an

irreversible inactivation. In addition, these small damages on the cell structure which take place for the slurry system, might be easier to overcome by the repairing mechanisms when the bacteria are in the dark in the deposit and pipes of the experimental setup than for the larger damages on an specific area of the cell wall as they take place in the immobilised system.

Finally, differences in bacterial photocatalytic activity between both immobilised systems are also observed in Figure 16, requiring the fixed-bed reactor a shorter irradiation time for reaching the bacterial detection limit compared to that of the wall reactor. Since the trends for the inactivation curves of both immobilised systems are quite similar, the most probable explanation for the lower performance of the wall reactor in comparison with the fixed fed could be its lower TiO₂ surface and the less turbulent flow through the reactor.

Additional experiments have been carried out to study the effect of bacteria-TiO₂ adhesion for both immobilised systems. Initially, the surface charge of the slurry TiO₂ was tested for DW and SWTPE and compared to those of the bacteria. Zeta potential values are shown in Table 3. As expected, according to ZP values of TiO₂, the catalyst surface is positively charged for deionised water, due to the isoelectric point of 5.6²⁰. In contrast, the ionic content and organic matter presence in SWTPE leads to a higher pH (above the isoelectric point) responsible for a shift in TiO₂ surface charge from positive to negative. Therefore, since bacteria are negatively charged, it is expected a higher adhesion in DW compared to SWTPE.

Adhesion experiments for both immobilised systems in DW and SWTPE were carried out. Figure 19 left shows the breakthrough curves obtained for *E. coli* in DW and SWTPE in a fixed-bed reactor. To quantitatively compare the adhesion kinetics obtained, the deposition rate coefficient ($k_d \times 10^{-4}$, s⁻¹) was determined between 1.8 and 2 reactor (or pore) volumes assuming clean-bed conditions according to the Eq. (5)¹¹:

$$k_d = -\frac{U}{f \cdot L} \ln \frac{C}{C_o} \quad (5)$$

where C/C_o is the normalized breakthrough concentration, U is the (superficial) fluid velocity, f is the reactor porosity, and L is the length of the reactor. According to the values of k_d , notably, less bacterial attachment to the catalyst is observed in the wall reactor as compared to the fixed-bed reactor, which is probably a consequence of the lower TiO₂ surface area in the former. In addition, in the fixed-bed reactor, bacteria might suffer from mechanical stress due to the impact with the Raschig rings present in this reactor. In these conditions,

extracellular polymeric substances (EPS) could appear for protecting the bacteria under stressful conditions. It must be noticed that these secreted substances might also contribute to the bacterial adhesion onto the catalyst, in agreement with results reported by others³¹. Therefore, the lower adhesion obtained for the wall reactor in comparison to the fixed-bed reactor may be one of the reasons, apart from lower TiO₂ surface and the less turbulent flow through the reactor, for the lower photocatalytic activity registered for the wall reactor.

Table 3. Bacterial and catalyst characterization as function of solution chemistry. Deposition rate coefficients (k_d) obtained after bacterial adhesion experiments for the fixed-bed and wall reactor in deionised water (DW) and simulated wastewater treatment plant effluent (SWTPE).

Bacteria/ Catalyst	Suspension	Reactor	^a Ionic strength (M)	^b $k_d \times 10^{-4}$ (s ⁻¹)	^c Zeta potential (ZP) (mV)
<i>E. coli</i>	^d DW	Fixed-bed	0	4.23 ± 2.66	-56.93 ± 0.89
<i>E. coli</i>	^e SWTPE	Fixed-bed	5.7 × 10 ⁻⁵	7.65 ± 1.61	-53.50 ± 0.82
<i>E. coli</i>	DW	Wall	0	3.39 ± 2.66	-56.93 ± 0.89
<i>E. coli</i>	SWTPE	Wall	5.7 × 10 ⁻⁵	2.43 ± 2.66	-53.50 ± 0.82
TiO ₂	DW	Slurry	0	^f –	30.91 ± 4.23
TiO ₂	SWTPE	Slurry	5.7 × 10 ⁻⁵	–	-30.26 ± 3.43

^aIS, ionic strength given by the concentration and valence of the ions present in the solution. ^b k_d , deposition rate coefficient, quantification of bacterial adhesion to the catalyst. ^cZP, Zeta Potential indicates the surface charge and magnitude of the bacteria or the catalyst. ^dDW: deionised water. ^eSWTPE, simulated wastewater treatment plant effluent. ^f–, not available.

Although the highest bacterial deposition rate coefficient was expected for DW due to the electrokinetic characterization of the surfaces (which suggested attractive forces existing between bacteria and catalyst), other interactions must also be considered according to the highest k_d observed in SWTPE for the fixed-bed reactor. Although the ionic strength of SWTPE is low (5.72 × 10⁻⁵ M), there are divalent cations such as Ca²⁺ and Mg²⁺, which might have a greater effect on compressing electric double layer³². Moreover, divalent cations also

³¹ Coronado, J.M., Soria, J., Conesa, J.C., Bellod, R., Adán, C., Yamaoka, H., Loddo, V. and Augugliaro, V. "Photocatalytic inactivation of *Legionella pneumophila* and aerobic bacteria consortium in water over TiO₂/SiO₂ fibres in a continuous reactor". Top. Catal., 35 (2005) 279-286.

³² Shim, Y., Lee, H.J., Lee, S., Moon, S.H. and Cho, J. "Effects of natural organic matter and ionic species on membrane surface charge". Environ. Sci. Technol., 36 (2002) 3864-3871.

lead to the formation of cationic bridges between specific negatively charged bacterial functional groups and surfaces²⁸. Therefore, those cations might neutralize the repulsion between bacteria and TiO₂ by reducing electric double layer. In addition to the increase of pH above the isoelectric point of TiO₂, the negative values of ZP observed for the catalyst in SWTPE (Table 3) might also be consequence of the adsorption of organic matter onto the catalyst as stated by Shim et al.³² Other studies³³ have also pointed out that adsorption of organic matter on TiO₂ in the presence of Ca²⁺, is favoured due to cation bridging, as carboxyl groups of organic matter can bind with TiO₂ via this cation. In such scenario, bacteria may be more disposed to attach to the catalyst for survival purposes³⁴. Moreover, if the surface of the catalyst becomes more negatively charged due to organic matter adsorption, cations could easily be attracted and further act as bridges between the catalyst and bacteria. Figure 19 right shows schematically how this bacteria-TiO₂ interaction seems to occur in the presence of organic matter.

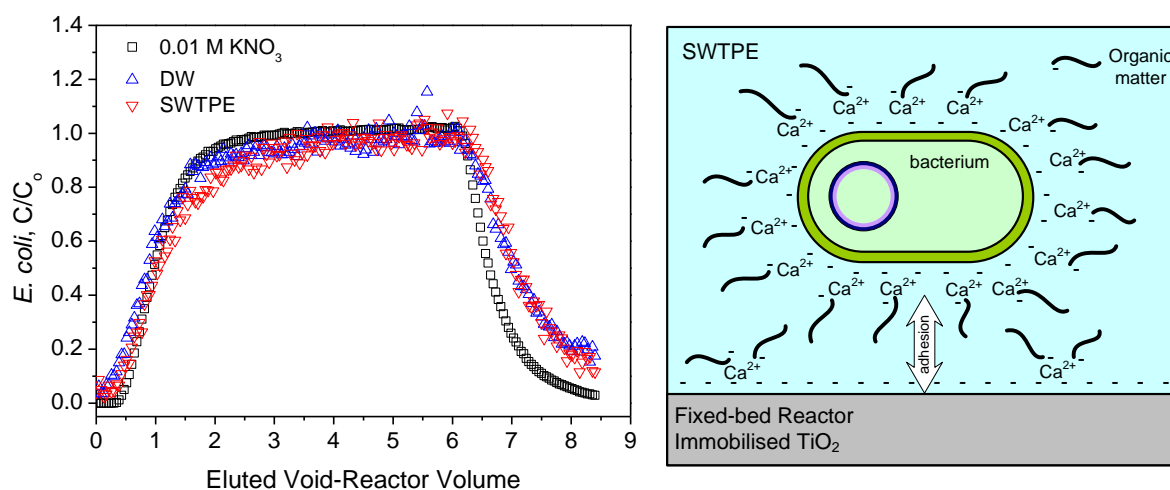


Figure 19. Left: Breakthrough curve for *E. coli* in DW and SWTPE in a fixed-bed reactor. Bacterial initial concentration: 10⁸ CFU mL⁻¹. Flow rate: 0.025 L min⁻¹. C/C₀ values obtained from absorbance values measured at 546 nm. Experiments have been repeated in triplicate for each suspension. Error bars are not shown for clarity purposes. KNO₃: used as inert tracer, not presenting adhesion. Right: Schematic representation of the suggested mechanism of bacteria-TiO₂ interaction in SWTPE for a fixed-bed reactor.

³³ Chowdhury, I., Cwiertny, D.M. and Walker, S. L. J. "Combined factors influencing the aggregation and deposition of nano-TiO₂ in the presence of humic acid and bacteria". *Colloid Interf. Sci.*, 369 (1) (2012) 16-22.

³⁴ Parent, M.E. and Velegol, D. "E. coli adhesion to silica in the presence of humic acid". *Colloid. Surface B*, 39 (2004) 45-51.

This result suggests that the enhancement of adhesion observed for wastewater effluents (SWTPE) in comparison with the observed for DW for the fixed-bed reactor might favour the interaction between bacteria and catalyst counterbalancing the presence of other species capable to react with hydroxyl radicals. This result might even explain the faster bacterial photocatalytic inactivation observed in the fixed-bed reactor compared to that of the slurry reactor in SWTPE, together with the differences suggested in bacteria-TiO₂ interaction, involving a most effective photocatalytic attack for immobilised systems. Moreover, no enhancement of k_d values in SWTPE compared to DW have been observed for the wall reactor. It might also explain the notable increase in the irradiation time required for reaching the bacterial detection limit in SWTPE for the wall reactor compared to that of the fixed-bed reactor, whereas no remarkable differences have been observed between both immobilised systems for DW.

Electrochemically assisted photocatalysis.

Electrochemical cell.

A photoelectrochemical cell, based on 3 electrodes (working-, counter- and reference-electrode) allows controlling the potential bias applied and therefore, studying all the aspects of the photoanode (such as the influence of the conductive support, nature of TiO₂ film and thickness of TiO₂ layer) involved in the electrochemistry of the process.

X-ray diffractograms of the 25 cm²-area TiO₂ photoelectrodes (a thermal photoelectrode on Ti; and two particulate electrodes, TiO₂/Ti and TiO₂/ITO) were measured at room temperature using an X-ray diffractometer (Philips, X'PERT MPD, Cu K α radiation). Both particulate electrodes maintained after the thermal treatment anatase and rutile signals corresponding to Degussa P25 TiO₂. In contrast, the thermal photoelectrode prepared by annealing of metal titanium consists of rutile as unique TiO₂ phase, independently of the temperature of the treatment.

Figure 20 shows cross and surface sections of the thermal electrode (Ti) and one of the particulate electrodes (TiO₂/ITO). It must be noticed that no significant differences have been observed between both particulate electrodes. Cross sections (left) show that TiO₂ layer for Ti photoelectrode, thermally formed at 700 °C, has merged into the titanium layer, while

particulate TiO_2 layer for TiO_2/Ti and TiO_2/ITO photoelectrodes has been set down onto the conductive substrate, leading to a clear limit between both materials, which might be an additional resistance for electron transport from TiO_2 layer to the conductive support. Surface sections also show differences between thermal and particulate photoelectrodes. Particulate photoelectrodes show the typical Degussa P25 TiO_2 layer, highly porous and formed by aggregates made of nm-sized particles. In contrast, thermal TiO_2 layer is much more dense and consequently, less porous which leads to a lower active surface of TiO_2 in comparison with that of particulate photoelectrodes.

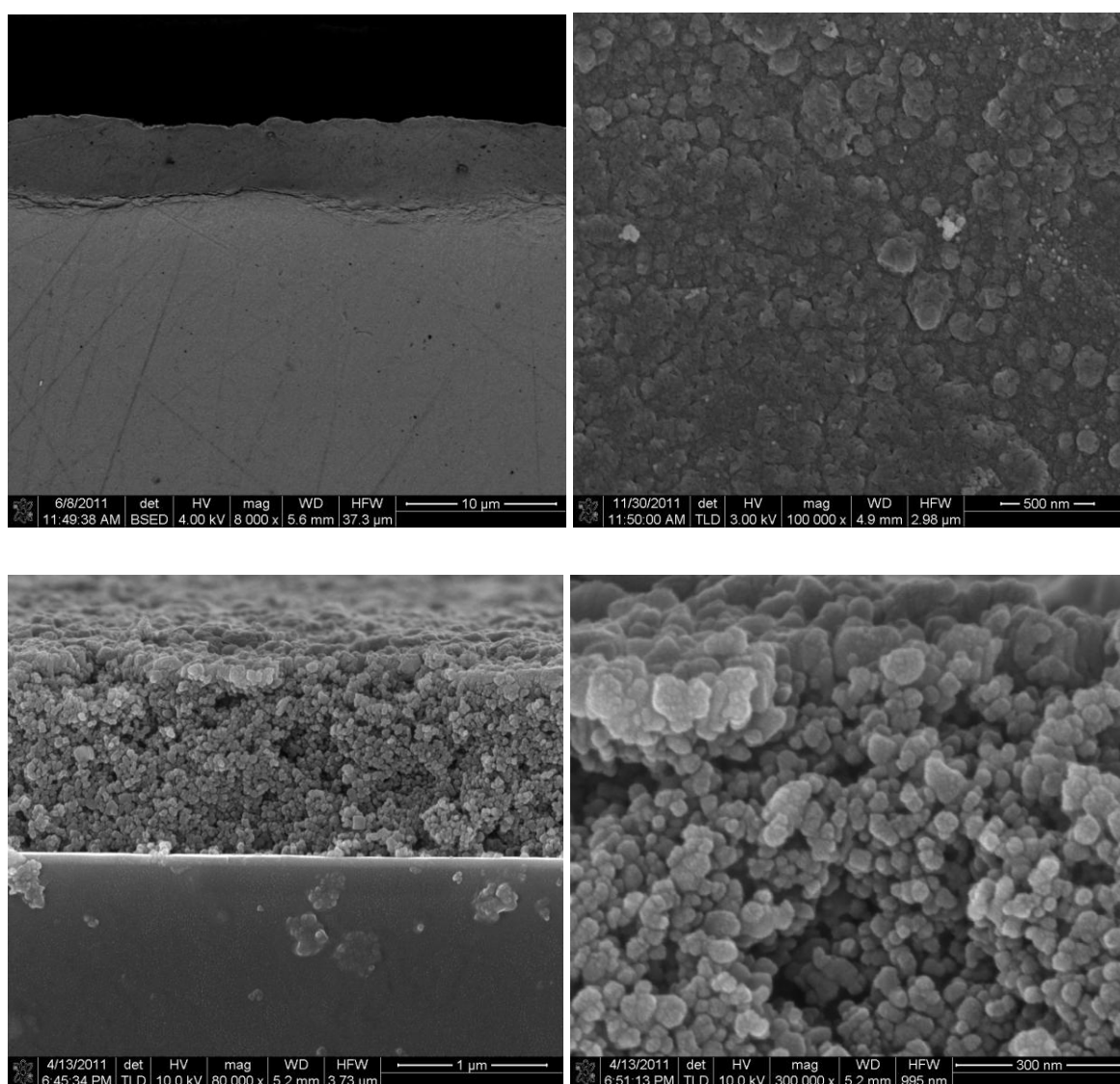


Figure 20. SEM micrographs of cross (left) and top (right) section of TiO_2 for the Ti thermal photoelectrode (top) and the TiO_2/ITO particulate photoelectrode (bottom).

SEM micrographs of cross section of TiO₂/ITO photoelectrodes with different number of coatings from 1 to 3 (not shown) revealed an increase in the thickness of the TiO₂ layer when repeating a new TiO₂ coating cycle. The values of the mean thickness of the TiO₂ layer for each TiO₂/ITO photoelectrode correspond to 0.34 ± 0.05 , 0.88 ± 0.12 , and 1.87 ± 0.4 μm for 1, 2 and 3 coatings respectively. UV-vis absorption spectra of TiO₂/ITO photoelectrodes after being coated with a different number of TiO₂ coating cycles showed that the absorbance of the photoelectrodes increases when increasing the number of coatings and consequently the thickness of the TiO₂ layer. Thus, TiO₂/Ti and TiO₂/ITO with 3 TiO₂ coatings were chosen for the following experiments.

Figure 21 shows the photocurrent (I_{ph}) - electric potential (E) curves under illumination in 0.1 M Na₂SO₄ as supporting electrolyte for the three photoelectrodes. As expected, it was found that without UV illumination, no measurable current is observed (data not shown).

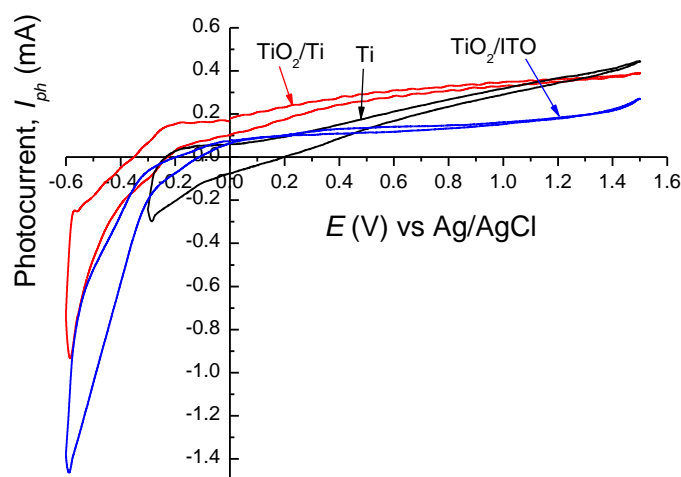


Figure 21. Comparison of photocurrent for the three photoelectrodes using 0.1 M Na₂SO₄ as electrolyte. Irradiation power: 2.9×10^{-7} Einstein s⁻¹. Cyclic photovoltammograms (CV) recorded at a sweep rate of 0.1 V s⁻¹.

Concerning the photovoltammogram shapes obtained in a plain electrolyte, on one hand, at low potential values it is observed a lineal dependency between photocurrent and electric potential for both types of photoelectrodes (thermal and particulate) which agrees with the classic theory for n-type semiconductors. However, this dependency is still a matter of controversy for particulate electrodes. Some authors have pointed out an independent relation between photocurrent and electric potential as a consequence of nm-sized particles which are

formed for particulate electrodes, hindering the development of the depletion layer across the particles. Thus, the registered photocurrent and consequently the charge carrier transport are associated to diffusion³⁵. In contrast, other groups do agree with the formation of a depletion layer for particulate electrodes³⁶. On the other hand, although a lineal relation for $I_{ph}-E$ curves is observed, some differences are observed in voltammograms between thermal and particulate photoelectrodes, showing the latter saturation in the photocurrent dependence. This behaviour has been attributed to the electron transport being the determining step of the overall process, up to reaching a plateau for higher potentials where photocurrent is saturated, becoming the diffusion of charge carriers in the semiconductor surface the limiting step of the whole process. Whereas for the thermal electrode, the charge carrier transport seems to be the controlling step since a linear $I_{ph}-E$ trend is observed for all the range of applied potentials. It might suggest that individual TiO_2 particles in particulate photoelectrodes are too small to form a depletion layer or potential gradient at the electrolyte interface, not leading to a complete band bending across the film, quickly reaching a saturated photocurrent as reported by several groups⁷. In addition, the presence of a higher number of interparticle recombination centres due to the presence of small particles as observed in Figure 20 can increase the resistance to the electron transport through the porous TiO_2 film for particulate photoelectrodes unlike happens for the thermal photoelectrode.

As far as photocurrent values are concerned, the highest I_{ph} values are observed for Ti and TiO_2/Ti electrodes, unlike is observed for TiO_2/ITO photoelectrode which shows the lowest I_{ph} value. For the thermal electrode, a better charge carrier separation as a consequence of a more developed potential gradient could be considered, but also to a lower resistance to the electron transport between TiO_2 layer and the support since TiO_2 is formed from the titanium substrate as well as a higher conductivity of TiO_2 layer³⁷. In addition, since TiO_2 layer is not porous, no oxygen would be present inside the layer, not being able to act as an electron scavenger³⁵. Despite TiO_2/Ti seems not to have a developed depletion layer since it has shown a typical $I_{ph}-E$ curve for a particulate electrode, similar photocurrent values are observed for TiO_2/Ti compared to that of the thermal Ti electrode while these values would be really high compared to that of TiO_2/ITO , the other particulate electrode. Thus, the reason

³⁵ Byrne, J.A. and Eggins, B.R. "Photoelectrochemistry of oxalate on particulate TiO_2 electrodes". J. Electroanal. Chem., 457 (1998) 61-72.

³⁶ He, C., Li, X.Z., Graham, N. and Wang, Y. "Preparation of TiO_2/ITO and TiO_2/Ti photoelectrodes by magnetron sputtering for photocatalytic application". Appl. Catal. A-Gen., 305 (2006) 54-63.

³⁷ Waldner, G. and Krýsa, J. "Photocurrents and degradation rates on particulate TiO_2 layers. Effect of layer thickness, concentration of oxidizable substance and illumination direction". Electrochim. Acta, 50 (2005) 4498-4504.

might be due to the conductive support. Since a titanium support present more conductivity than that of ITO, it might favour the electron transport from TiO_2 to the conductive support. These features are in agreement with other authors who have also reported better results for titanium supports than those of ITO³⁶.

Figure 22 shows the effect on photocurrent of the addition of organic compounds such as methanol in the electrolyte.

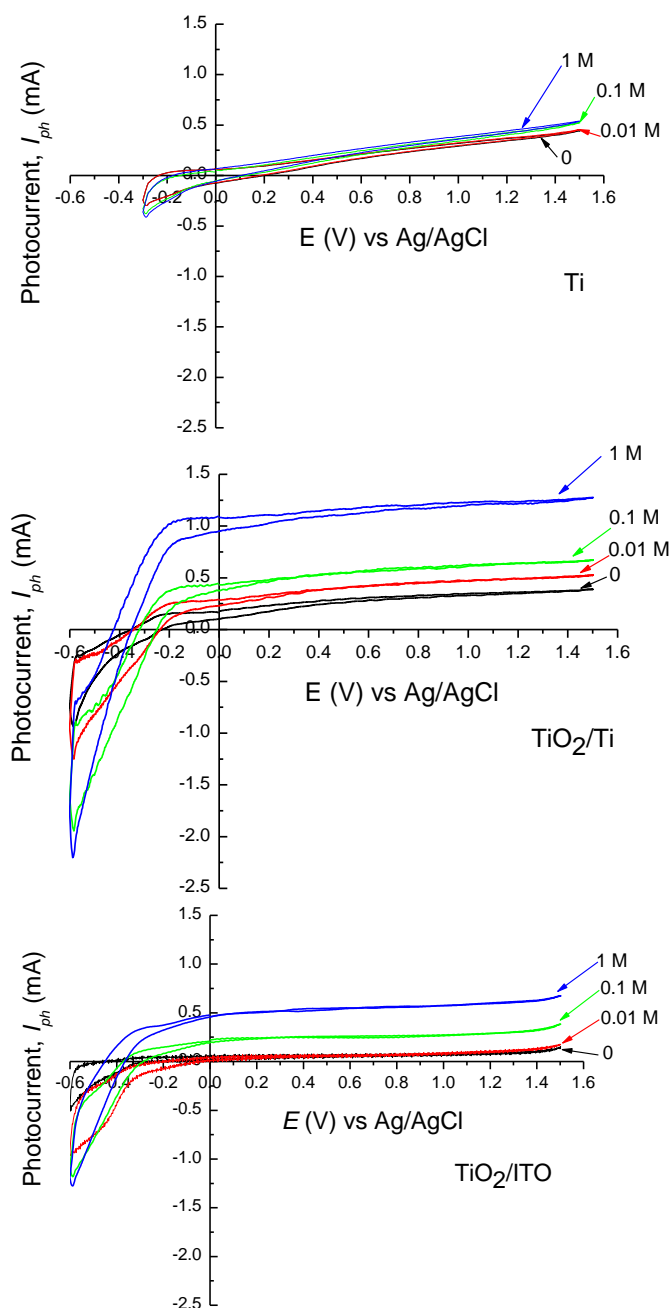


Figure 22. Cyclic photovoltammograms (CV) in 0.1 M Na_2SO_4 and at different methanol concentrations (0.01, 0.1, and 1 M) in 0.1 M Na_2SO_4 for Ti, TiO_2/Ti and TiO_2/ITO photoelectrodes. Irradiation power: 2.9×10^{-7} Einstein s^{-1} . Sweep rate of 0.1 V s^{-1} .

When increasing methanol concentration, only photocurrent values for both particulate photoelectrodes increase. It supports that charge transfer at the interface is more important for particulate photoelectrodes due to their highly porous surface compared to that of the thermal photoelectrode, whose photocurrent values are not affected. These results are in agreement with other authors³⁸.

Therefore, particulate photoelectrodes seem to present better properties for charge carrier transfer while the thermal photoelectrode shows better properties for charge carrier separation. Both phenomena lead to a reduction in the charge carrier recombination, being the next step the evaluation of their impact on the photocatalytic and photoelectrocatalytic activity of the photoelectrodes.

Figure 23 shows the influence of increasing the electric potential bias applied on the values of photocurrent and their correlation with values of the surface zero-order kinetic constant (k) for formaldehyde production due to methanol oxidation. When applying different potential bias, an increase in photocurrent is observed for the thermal electrode, whereas no effect appears for particulate electrodes. It supports again the importance of charge carrier transfer for the particulate photoelectrodes.

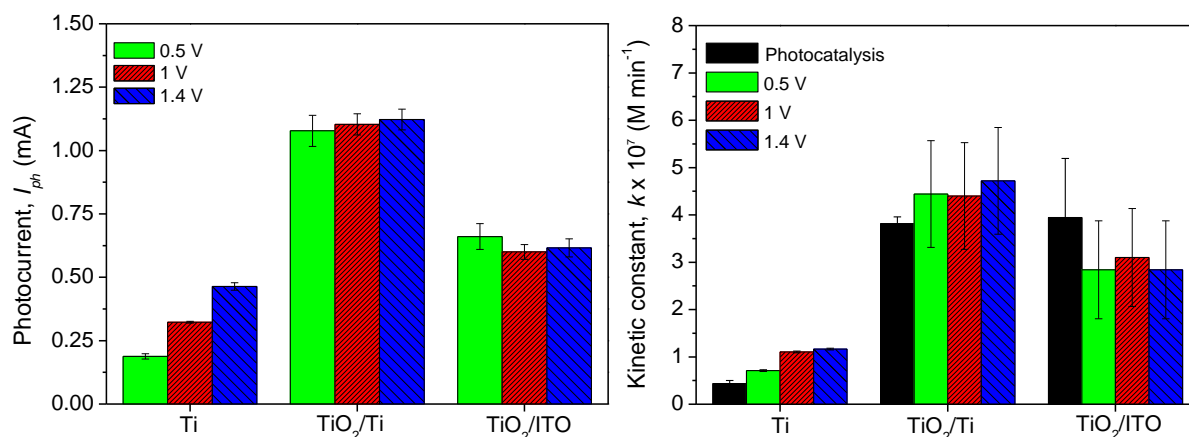


Figure 23. Effect of the electric potential bias applied on the photocurrent and methanol oxidation efficiency (by measuring the formaldehyde production rate) through the photoelectrocatalytic experiments for different electrodes. Initial concentration of methanol: 0.1 M in 0.1 M Na₂SO₄. Irradiation power: 2.9×10^{-7} Einstein s⁻¹.

³⁸Mintsouli, I., Philippidis, N., Poulivos, I. and Sotiropoulos, S. "Photoelectrochemical characterisation of thermal and particulate titanium dioxide electrodes". J. Appl. Electrochem., 36 (2005) 463-474.

As shown in cyclic voltammograms depicted in Figure 22, for the particulate electrodes, the saturated photocurrent is reached when applying an electric potential value of about 0 V, which means that electron transport does not control the photoelectrocatalytic process for higher values of electric potential and consequently, no increase in formaldehyde formation rate is expected since charge carrier separation takes place for lower electric potential bias. In contrast, values of kinetic constant for formaldehyde production for the thermal electrode increases as the electric potential bias rises up to values of about +1 V as expected according to its photovoltammograms shown in Figure 22. Electron transport is still the controlling step of the overall process for high electric potential bias, which means that charge carrier separation takes place for the whole range of applied electric potential bias. Since no effect of electric potential bias seems to occur in k for values of potential bias higher than +1 V, the electric potential bias applied for the following experiments has been +1 V.

The application of an electric potential bias improves the efficiency in photocatalytic oxidation of methanol when using a thermal electrode as photoelectrode due to its suitable properties for allowing charge carrier separation, reducing charge carrier recombination. In contrast, particulate electrodes do not show such an increase in photocatalytic oxidation of methanol when applying an electric potential bias as expected, since they do not completely develop a depletion layer. However, the TiO₂ nature of the thermal photoelectrode, such as the only presence of rutile or its lower active surface, leads to lower values of kinetic constant compared to those of the particulate electrode.

As explained above, particulate photoelectrodes show suitable properties for favouring charge carrier transfer on TiO₂ surface since they present a high surface in contact with the electrolyte. This fact also reduces charge carrier recombination and might even improve the potential gradient across TiO₂ particles. Since both particulate photoelectrodes show similar values of kinetic constant for photocatalytic oxidation of methanol, the TiO₂-support interaction might be the reason for reaching a higher photocurrent response for TiO₂/Ti photoelectrode in comparison with that of TiO₂/ITO. The higher conductivity of titanium support compared to that of ITO would make the electron transport easier from TiO₂ layer to the back of the support, preventing charge carriers from recombination.

Figure 24 shows the effect of initial concentration of methanol on photoelectrocatalytic oxidation of methanol in terms of values of kinetic constant for formaldehyde production (k) for TiO₂/ITO electrodes with different number of coatings and photocurrent measured by amperometry through the experiments. Photocatalytic results (data not shown) showed that an

increase in catalyst thickness leads to an increase in UV-A absorption and as a consequence, to an increase in kinetic constant values. However, when increasing the number of coatings from 2 to 3, there is no a clear increase either in k or photocurrent values. Thus, in a photoelectrocatalytic process, an increase in TiO_2 layer thickness might lead to a higher ohmic resistance for the electron transport across TiO_2 layer. Figure 25 schematically shows how the increase in TiO_2 thickness might hinder the electron transport through the film up to the conductive support.

When increasing TiO_2 thickness, a decrease in I_{ph} values is observed for low methanol concentrations (0.01 M), which is not in agreement with the variation of k values. For low methanol concentrations or none of it, electron transport might become more crucial. For high concentrations of methanol, charge carrier recombination decreases and the gradient potential formation might be improved. Thus, electron transport resistance due to the increase in the thickness of the TiO_2 layer does not seem to become so crucial for the whole process in presence of a high methanol concentration.

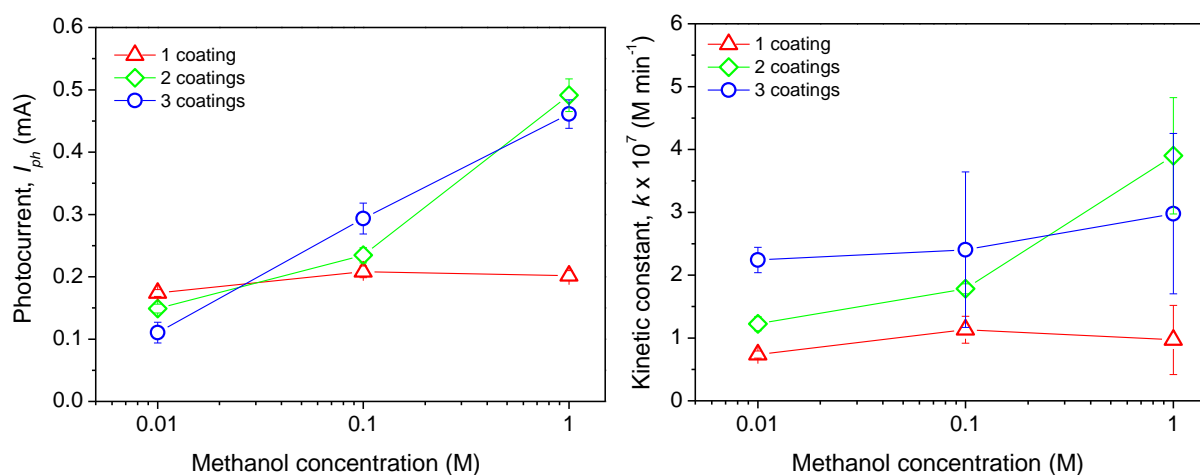


Figure 24. Effect of methanol concentration on photocurrent and formaldehyde production kinetic constant through photoelectrocatalytic experiments for TiO_2/ITO photoelectrodes with different number of coatings. Electrolyte: 0.1 M Na_2SO_4 . Irradiation power: 2.9×10^{-7} Einstein s^{-1} . Electric potential bias: +1 V

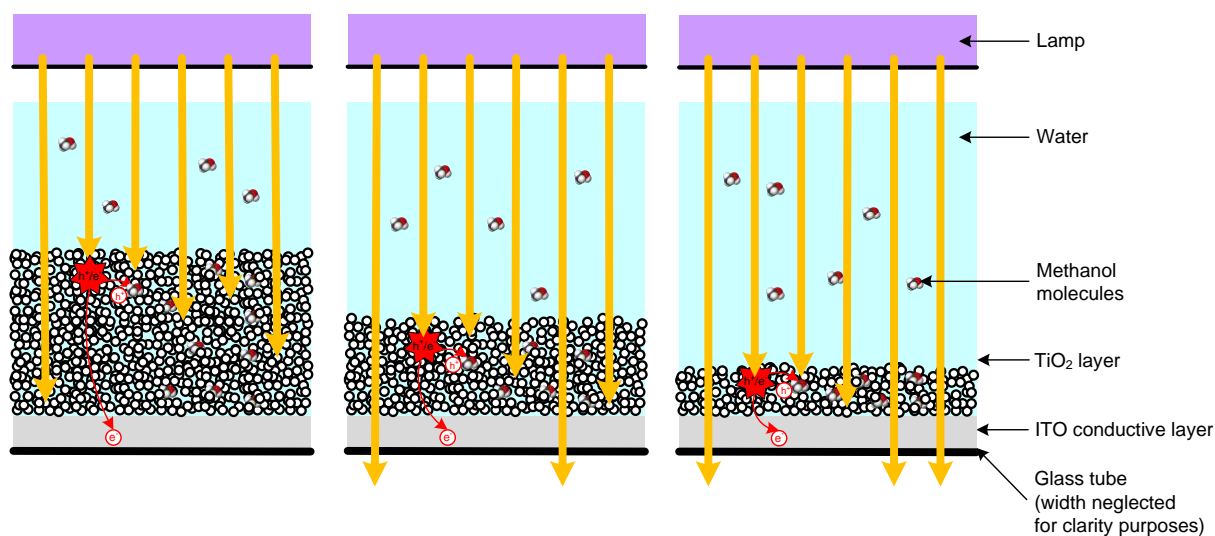


Figure 25. Schematic representation of the suggested effect of the increase in TiO₂ thickness on electron transport through the particulate TiO₂ film up to the conductive support.

Photoelectrocatalytic reactor.

TiO₂/ITO electrodes were scaled-up from 25 to 141.4 cm² for being used in a photoelectrocatalytic reactor. The reactor is based on two electrodes (working and counter electrode) and presents a wall reactor configuration similar to that used for photocatalytic experiments described above. Some variables have been studied in the photoelectrocatalytic activity for the oxidation of methanol and bacterial inactivation, such as the effect of number of coatings or the effect of the electric potential applied and its effect on the enhancement on photocatalytic activity.

Figure 26 shows the effect of the increase in TiO₂ thickness on formaldehyde formation and *E. coli* inactivation in a photoelectrocatalytic process. An increase in photocurrent values is observed as increasing TiO₂ layer thickness for both, methanol oxidation and *E. coli* inactivation. Kinetic constant values correlate with photocurrent measurements. A TiO₂/ITO photoelectrode with 2 TiO₂ coatings was chosen for the following experiments.

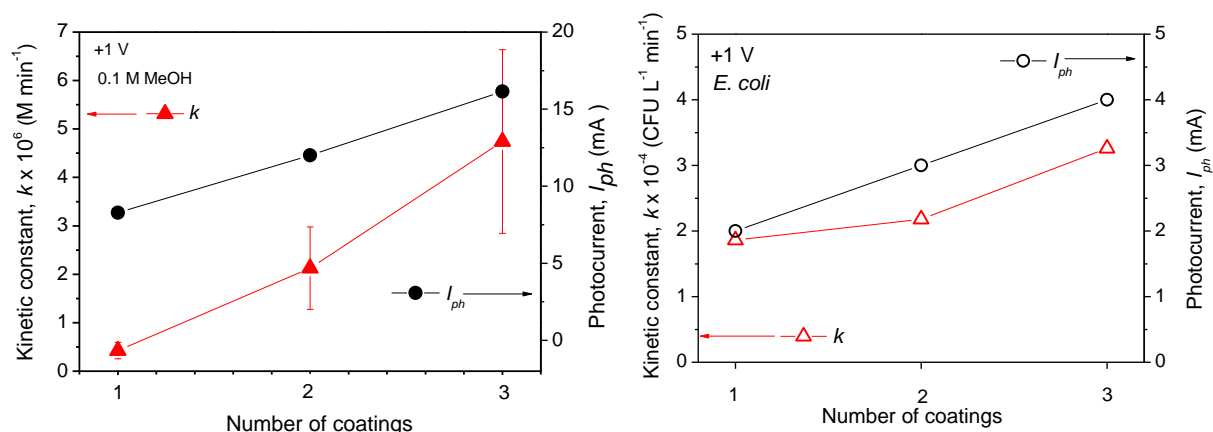


Figure 26. Effect of the TiO₂ thickness on the photocurrent and formaldehyde production and *E. coli* inactivation kinetic constants for a TiO₂/ITO photoelectrodes with different number of coatings. Irradiation power: 1.0×10^{-6} Einstein s⁻¹. Electric potential: +1 V. Electrolyte: 0.1 M Na₂SO₄. *E. coli* initial concentration: 10^3 CFU mL⁻¹. MeOH initial concentration: 0.1 M.

Figure 27 shows the effect of the applied electric potential on formaldehyde formation and *E. coli* inactivation. When increasing electric potential, photocurrent values increase for methanol oxidation and *E. coli* inactivation. However, no increase in activity is observed for methanol oxidation whereas bacteria inactivation is significantly improved.

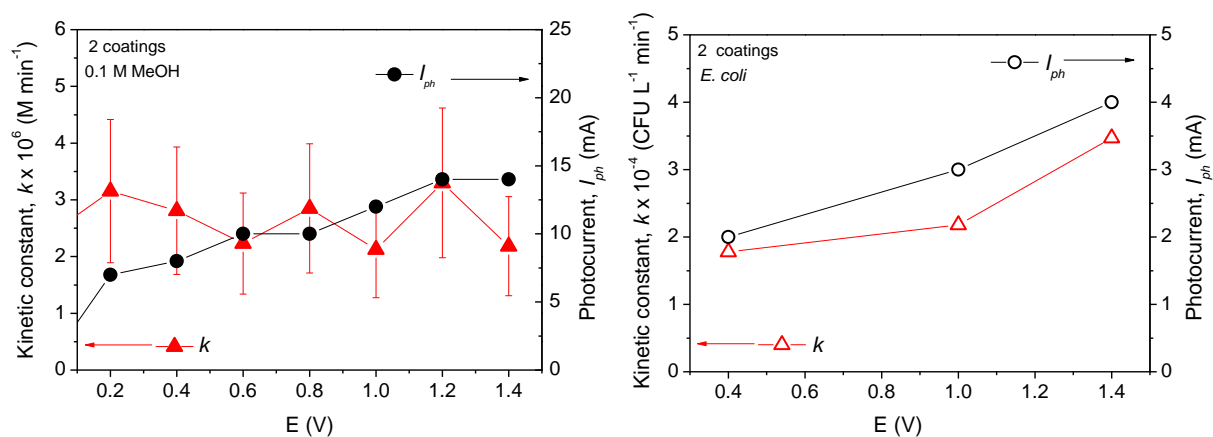


Figure 27. Effect of the electric potential on the photocurrent and formaldehyde production and *E. coli* inactivation kinetic constants for a TiO₂/ITO photoelectrode. Irradiation power: 1.0×10^{-6} Einstein s⁻¹. Electrolyte: 0.1 M Na₂SO₄. *E. coli* initial concentration: 10^3 CFU mL⁻¹. MeOH initial concentration: 0.1 M.

Figure 28 shows the effect of the application of electric potential on the photocatalytic enhancement for methanol oxidation and *E. coli* inactivation in terms of relative activity

taking the photocatalytic experiments (PC) as reference. When increasing electric potential, a notably increase in photocatalytic efficiency does take place for bacteria inactivation unlike happens for methanol oxidation. It suggests that bacteria, negatively charged, can easily be attracted towards the TiO_2 surface, more positively charged when applying an electric potential.

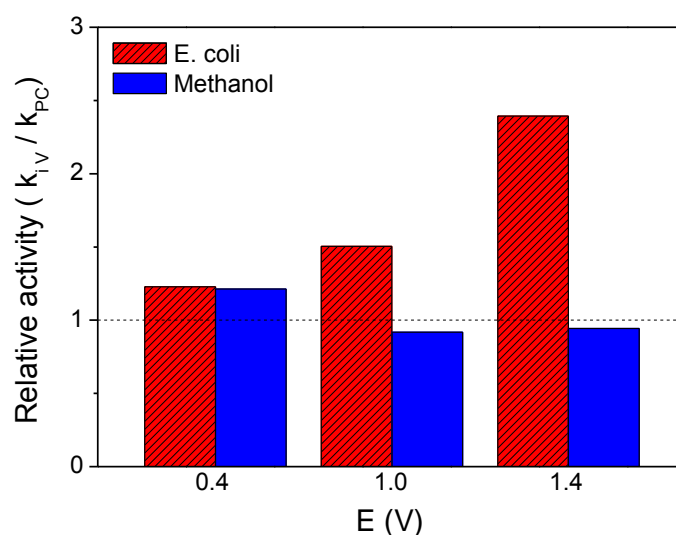


Figure 28. Effect of the potential bias on the efficiency of the photocatalytic production of formaldehyde and *E. coli* inactivation for a TiO_2/ITO photoelectrode. Irradiation power: 1.0×10^{-6} Einstein s^{-1} . Electrolyte: 0.1 M Na_2SO_4 . *E. coli* initial concentration: 10^3 CFU mL^{-1} . MeOH initial concentration: 0.1 M.

Figure 29 shows the effect of the application of an electric potential of +1 V on the photocatalytic enhancement for methanol oxidation and *E. coli* inactivation in terms of relative activity taking the photocatalytic experiments (PC) as reference in a simulated wastewater treatment plant effluent, presenting a lower value of conductivity ($32 \mu\text{S cm}^{-2}$) compared to that of 0.1 M Na_2SO_4 (16 mS cm^{-2}). It is observed an increase in photocatalytic activity for both, methanol oxidation and *E. coli* inactivation despite the decrease in the conductivity of the electrolyte.

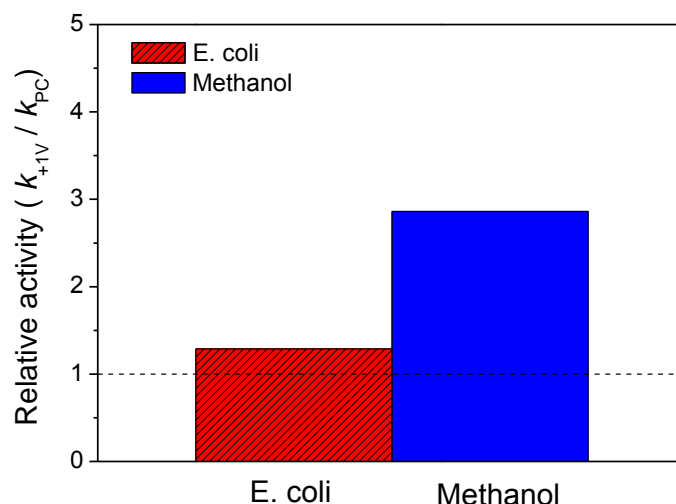


Figure 29. Effect of the application of a potential bias on the photocatalytic production of formaldehyde and *E. coli* inactivation for a TiO₂/ITO photoelectrode. Irradiation power: 1.0×10^{-6} Einstein s⁻¹. Electric potential: +1 V. Electrolyte: SWTPE. *E. coli* initial concentration: 10^3 CFU mL⁻¹. MeOH initial concentration: 0.1 M.

Scaling-up of the photoelectrodes.

Figure 30 shows a comparison of the photocatalytic and photoelectrocatalytic activities observed for TiO₂/ITO electrodes between cell and reactor as a function of TiO₂ thickness. When electron transport is involved in the whole process by applying a potential bias of +1 V, an increase in the number of coatings from 2 to 3 does not lead to a high increase in k values in the cell, as expected. On the contrary, an increase in photoelectrocatalytic activity does appear when increasing the number of coatings from 2 to 3 in the reactor. The reason for explaining these results might be due to differences in the side the photoelectrode is directly illuminated, either front (TiO₂ layer) side for the cell or back side (conductive support, ITO) for the reactor. If the illumination comes from the back side, electron losses might decrease since electrons do not have to cross the whole TiO₂ layer to reach the conductive support, not being TiO₂ thickness so crucial in photoelectrocatalytic results for the reactor. Waldner and Krýsa³⁷ and Heikkilä et al.³⁹ have also reported a lower photocurrent dependency on TiO₂ thickness when illuminating the back side instead of the front side of the electrode. In contrast, if the illumination comes from the front side as happens for the cell, electron losses

³⁹Heikkilä, M., Puukilainen, E., Ritala, M. and Leskelä, M. "Effect of thickness of ALD grown TiO₂ films on photoelectrocatalysis". J. Photoch. Photobio. A, 204 (2009) 200-208.

are supposed to be higher, affecting negatively the photoelectrocatalytic activity, as is schematized by Figure 25.

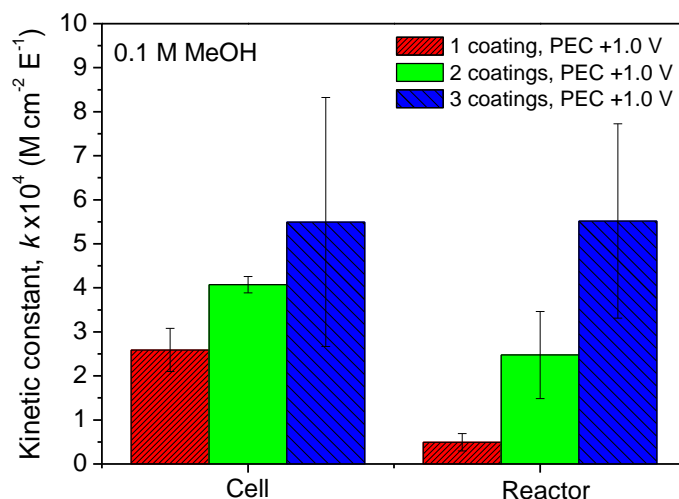


Figure 30. Comparison of formaldehyde production surface kinetic constant for photoelectrocatalytic (PEC) experiments using TiO_2/ITO photoelectrodes in the cell (25 cm^2 , UV-A irradiation power: $2.9 \times 10^{-7} \text{ Einstein s}^{-1}$) and the reactor (141.4 cm^2 , UV-A power irradiation: $1.0 \times 10^{-6} \text{ Einstein s}^{-1}$) with different number of coatings. Initial concentration of methanol: 0.1 M in $0.1 \text{ M Na}_2\text{SO}_4$. Potential bias: $+1 \text{ V}$, using a three-electrode and a two-electrode configuration for the cell and the reactor respectively.

Figure 31 shows a comparison of the photoelectrocatalytic oxidation of methanol and *E. coli* inactivation using comparable two-electrode configurations in the cell and the photoelectrocatalytic reactor. As photoelectrocatalysis is a surface process and depends on power irradiation as well, the kinetic constant that describes the process and photocurrent values can be divided by the electrode area and power irradiation, allowing the comparison of the activity of electrodes of different sizes. Comparable values of photocurrent density are obtained for both, the cell and the reactor. As expected, the surface kinetic constants are similar for methanol oxidation for both photoelectrodes, what means that the surface catalytic response of the electrodes can be scalable under similar values of the irradiation power. The existence of ohmic losses in the potential applied that are supposed to appear when

photoelectrodes are scaled up⁴⁰ do not seem to negatively affect the efficiency of the charge transfer, as confirm the similar values of the kinetic constant for methanol photooxidation and photocurrent density values. The different way of illuminating the TiO₂/ITO photoelectrodes in both systems does not seem to lead to differences in photocurrent density and photoelectrocatalytic methanol oxidation either.

Unexpectedly, *E. coli* inactivation seems to be more favored in the cell. It might be not only as a consequence of differences in the way of illuminate the photoelectrode for both systems but also, mainly to the differences in the kind of pollutant. Since the photoelectrode is illuminated from its back-side in the reactor, the holes are supposed to be formed through the TiO₂ layer. However, bacteria can only reach the holes formed on TiO₂ surface, unlike happens for methanol due to the bigger size of bacteria. Figure 32 schematises this process.

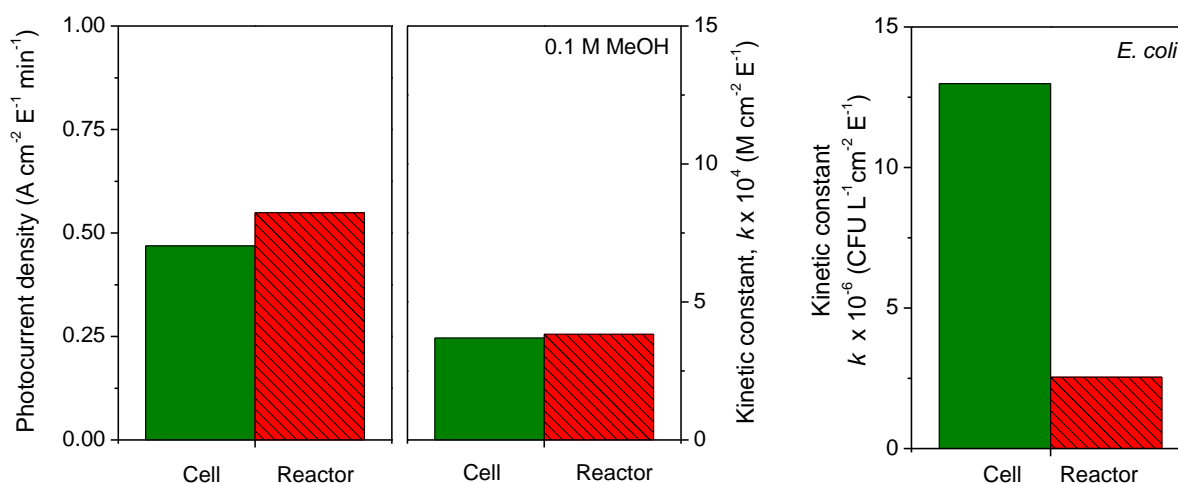


Figure 31. Comparison of photocurrent density and formaldehyde production and *E. coli* inactivation kinetic constants using a TiO₂/ITO photoelectrode in the cell (25 cm², UV-A power irradiation: 2.9 x 10⁻⁷ Einstein s⁻¹) and the reactor (141.4 cm², UV-A irradiation power: 1.0 x 10⁻⁶ Einstein s⁻¹). Initial concentration of methanol: 0.1 M. Initial concentration of *E. coli*: 10³ CFU mL⁻¹. Potential bias: +1 V, using a two-electrode configuration for the cell and the reactor.

⁴⁰Uzunova, M., Kostadinov, M., Georgieva, J., Dushkin, C., Todorovsky, D., Philippidis, N., Poullos, I. and Sotiropoulos, S. "Photoelectrochemical characterisation and photocatalytic activity of composite La₂O₃-TiO₂ coatings on stainless steel". Appl. Catal. B: Environ., 73 (2007) 23-33.

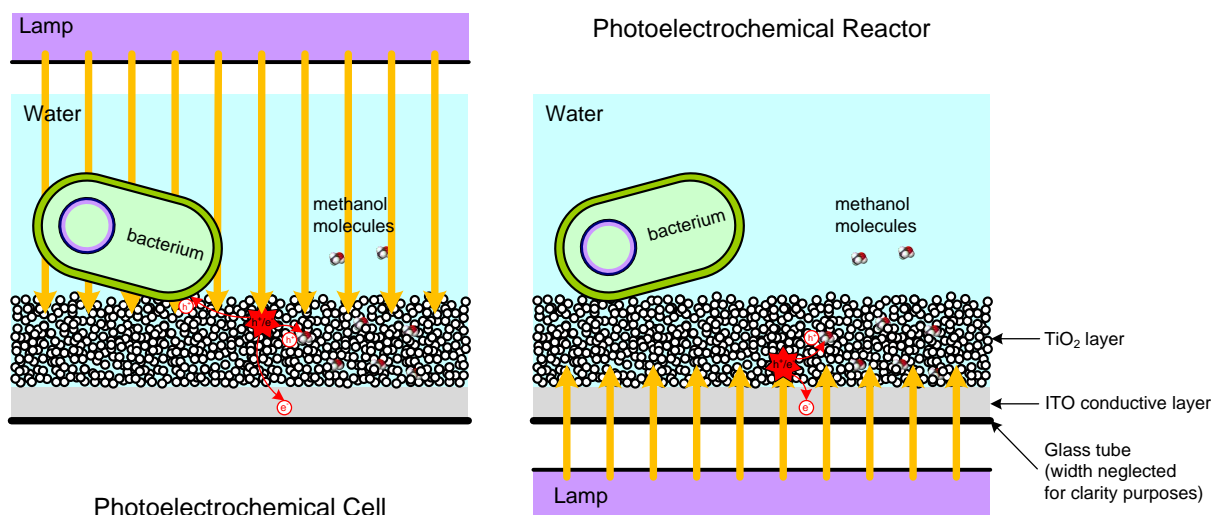


Figure 32. Schematic representation of the suggested differences in methanol oxidation and *E. coli* inactivation in a photoelectrocatalytic process between the cell (left) and the reactor (right).

Applications: Simultaneous photocatalytic bacterial inactivation and pharmaceutical oxidation of secondary wastewaters. Scaling-up of the process in a slurry TiO₂ photocatalytic reactor.

Figure 33 shows the results of the photocatalytic oxidation of pharmaceuticals and inactivation of *E. coli* using TiO₂ in suspension, in deionised as well as in a SWTP effluent. No significant dark adsorption and photolytic degradation of any pharmaceutical is observed. In contrast, *E. coli* seems to be sensitive to simultaneous osmotic stress and UV-A radiation, leading to a log decay in the viable bacterial concentration. No effect was observed on the *E. coli* inactivation rate due to the presence of high concentrations of the studied pharmaceuticals (corresponding to 20 mg L⁻¹), discarding possible toxic effects.

As expected, the composition of the water has played a significant role in the efficiency of the process, increasing the irradiation time required for the bacterial inactivation and pharmaceutical oxidation. However, a complete bacterial inactivation and pharmaceutical oxidation is achieved. In addition, it must be noted that a complete elimination of the pharmaceuticals is achieved in the required effective disinfection time.

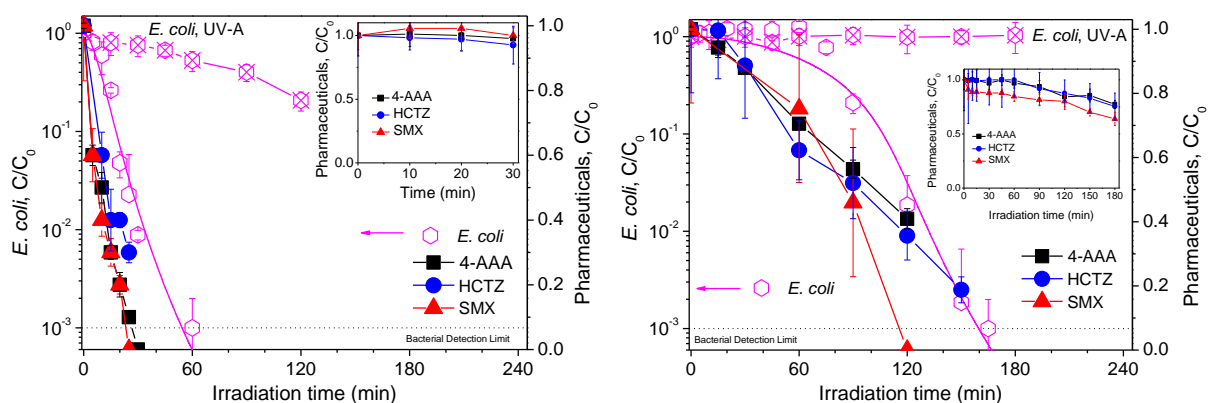


Figure 33. Simultaneous photocatalytic inactivation of *E. coli* and oxidation of pharmaceuticals in deionised water (DW) (left) and SWTPE (right) with TiO_2 in suspension. TiO_2 concentration: 0.1 g L^{-1} . Irradiation power: $2.8 \times 10^{-6} \text{ Einstein s}^{-1}$. Total volume: 1 L. Initial concentration of *E. coli*: 10^3 CFU mL^{-1} . Initial concentration of pharmaceuticals: $20 \mu\text{g L}^{-1}$. Insert: Pharmaceutical adsorption on TiO_2 in dark (left) and photolytic degradation of pharmaceuticals without TiO_2 (right). Error bars calculated from eight independent bacteria analysis. Curve calculated using the kinetic model represented by Eq. (3) and (4).

The use of TiO_2 immobilised in a fixed-bed reactor (Figure 34) leads to an increase in the irradiation time required for both, the bacterial inactivation and the pharmaceuticals oxidation in deionised water compared to that of the slurry reactor in deionized water. However, in agreement with previous results shown in Figure 16, the efficiency of this immobilised system for bacterial inactivation seems to be less negatively affected by the chemical composition of water. The irradiation times required to reach a complete bacterial inactivation and pharmaceutical oxidation in a SWTP effluent when using immobilized TiO_2 are similar compared to those of the TiO_2 in suspension. As mentioned above, this comparable efficiency observed for both photocatalytic systems might be attributed to the bacteria-catalyst interaction since the bacteria- TiO_2 contact is the main difference between both reactors based on the possibility of existing more efficient photocatalytic attacks in an immobilised system together with a certain enhancement of bacterial adhesion towards the catalyst not only due to the ionic and organic matter content present in SWTPE but also to the mechanical stress existing in the fixed-bed reactor which might lead to the development of resistance forms (EPS) in the bacterial surface. Moreover, the higher TiO_2 surface and turbulent flow through the reactor existing in the fixed-bed reactor compared to other immobilised systems may also enhance pharmaceutical oxidation.

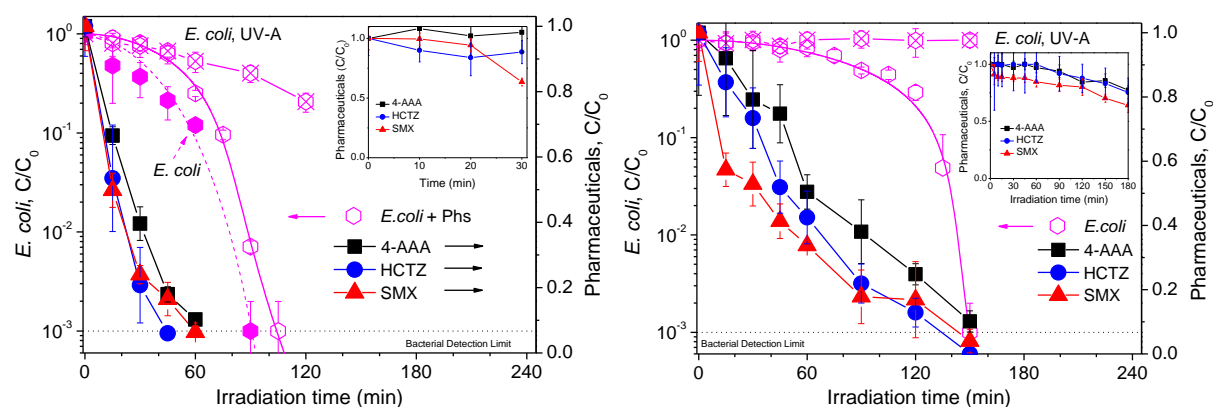


Figure 34. Simultaneous photocatalytic inactivation of *E. coli* and oxidation of pharmaceuticals (*Phs*) in deionised water (DW) (left) and SWTPE (right) in a fixed-bed reactor. Number of TiO_2 coatings: 2. Irradiation power: 2.8×10^{-6} Einstein s^{-1} . Total volume: 1 L. Initial concentration of *E. coli*: 10^3 CFU mL^{-1} . Initial concentration of pharmaceuticals: $20 \mu\text{g L}^{-1}$. Insert: Pharmaceutical adsorption on TiO_2 in dark (left) and photolytic degradation of pharmaceuticals without TiO_2 (right). Error bars calculated from eight independent bacteria analysis. Curve calculated using the kinetic model represented by Eq. (3) and (4).

Figure 35 shows the simultaneous photocatalytic inactivation of *E. coli* and oxidation of pharmaceuticals in a scaled-up slurry reactor. The TiO_2 concentration used was previously optimised, corresponding to that leading to the maximum absorption of UV-A radiation. As happens for the slurry reactor at lab scale (Figure 33), no degradation of pharmaceuticals is observed for non-photolytic experiments although bacteria seem to be more sensitive under UV-A radiation and no toxic effects appear on the bacteria as a consequence of the presence of pharmaceuticals. In deionised water, pharmaceutical are oxidised during the photocatalytic inactivation of bacteria, requiring irradiation times comparable to those of the slurry reactor at lab scale. In contrast, in SWTPE, although a complete photocatalytic bacterial inactivation is achieved after irradiation times similar to those of the slurry reactor at lab scale, pharmaceuticals are not oxidised during the disinfection process. The main difference between both reactors corresponds to the flow regime. The recirculation flow rate of the slurry reactor at lab scale corresponds to 2.5 L min^{-1} , what leads to a residence time in the irradiated photoreactor of 4.5 s and a Reynolds number of 663. Although the reactor is theoretically operating under laminar flow regime, the short length of the reactor and the turbulence generated at the reactor entrance assure good mixing conditions. In contrast, the scaled-up

slurry reactor also operates under laminar flow regime (flow rate: 3.9 L min^{-1} ; Reynolds number: 1035) but no perfect mixing conditions occur, working under diffusional control at high TiO_2 concentrations. This fact might explain the increase in the irradiation time required to guarantee a complete elimination of pharmaceuticals in this scaled-up slurry reactor.

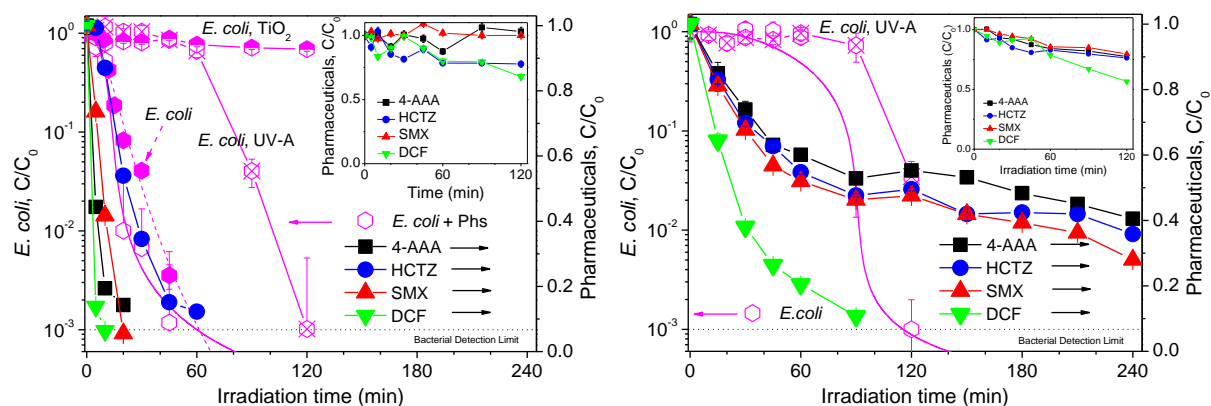


Figure 35. Simultaneous photocatalytic inactivation of *E. coli* and oxidation of pharmaceuticals (*Phs*) in deionised water (DW) (left) and SWTPE (right) in a scaled-up slurry reactor. TiO_2 concentration: 0.1 g L^{-1} . Irradiation power: $1.8 \times 10^{-5} \text{ Einstein s}^{-1}$. Total volume: 4 L. Initial concentration of *E. coli*: 10^3 CFU mL^{-1} . Initial concentration of pharmaceuticals: $20 \mu\text{g L}^{-1}$. Insert: Pharmaceutical adsorption on TiO_2 in dark (left) and photolytic degradation of pharmaceuticals without TiO_2 (right). Error bars calculated from eight independent bacteria analysis. Curve calculated using the kinetic model represented by Eq. (3) and (4).

IV. Conclusions.

TiO_2 photocatalysis has been proved to be an effective technology for the disinfection of water. The mechanism of microorganism inactivation, mainly based on the attack of the reactive oxygen species generated upon irradiation of TiO_2 to the external cell wall of the microorganism, has been demonstrated through the use of membrane permeability assays of DNA-stains followed by epifluorescence. The attack produced a cumulative damage to the cells that eventually leads to their inactivation. Based on this concept, a kinetic model based on a series-event inactivation mechanism has been successfully applied to the reproduction of the experimental data obtained under different values of catalyst concentration, irradiation power, initial concentration of microorganisms, type of microorganism, and chemical composition of water.

The effect of operational parameters such as catalyst concentration and intensity of radiation on the efficiency of photocatalytic disinfection processes has been shown to be very similar to that observed for the photocatalytic oxidation of chemical pollutants. These similarities are derived from the common physicochemical steps of photon absorption and hydroxyl radical generation, which do not depend on the specific photocatalytic application. That means that photoreactor design and optimization can be carried out using a simple chemical molecule, much easier to work with, as model pollutant, instead of working directly with microorganisms. In contrast, microbiological aspects concerning osmotic and nutrient effects as well as changes in the microorganism-TiO₂ interaction and the possible formation of chlorine-based species with high disinfection potential make these processes much more sensitive to the water composition than the photocatalytic oxidation of chemicals. These effects are especially important in photocatalysis, since the irradiation time required for the total inactivation of bacteria below the detection limit has shown to be very dependent on the water composition.

The configuration of the TiO₂ in the reactor has shown to have influence in the microorganism-TiO₂ interaction. Immobilised photocatalytic systems seem to lead to bacterial-TiO₂ contacts more effective than those of slurry systems. Epifluorescence microscopy showed an increase in the damaged bacteria from the very beginning of the reaction when using a fixed-bed reactor, as a consequence of a more concentrated damage on the area in which the bacteria-TiO₂ interaction takes place. In addition, bacterial adhesion to the TiO₂ in a fixed-bed reactor seems to be favoured due to the ionic and organic matter content present in wastewaters, counteracting the negative effect of these species on the photocatalytic process. The bacterial mechanical stress which might take place due to bacterial crashes against Raschig rings may lead to the formation of resistant forms on bacterial surface, enhancing adhesion. Apart from these microbiological aspects, the higher TiO₂ surface and turbulence compared to other immobilised systems make the fixed-bed reactor a suitable choice to develop a disinfection tertiary treatment of wastewaters for their reuse at field scale.

Concerning the application of an electric potential bias to enhance photocatalytic efficiency, the type of photoanode has shown to have an important influence in the photoelectrocatalytic activity. TiO₂ film characteristics, such as size and crystallite form, lead to differences in the limiting step for photoelectrocatalytic processes (charge carrier separation through the film and transfer on the surface). TiO₂-support interaction also

becomes crucial in a photoelectrocatalytic process, together with the kind of conductive support. In addition, TiO₂ layer thickness optimum might be different in comparison with a photocatalytic process. This variable also becomes important since a counterbalance between absorption of UV-A radiation and electron transport losses through the film up to reach to the conductive support must be taken into consideration.

A previous analysis of different photoanodes has shown the complexity of the process: Charge carrier transfer is favoured in particulate electrodes, reducing recombination and leading to a high activity for photocatalytic processes, whereas hardly enhancement of the process appears when applying an electric potential bias. In contrast, although thermal electrodes have shown charge carrier separation as a consequence of the application of electric potential, its TiO₂ nature is not suitable for the oxidation of pollutants. Thus, since the process is quite complex, photocurrent data cannot always be considered as an activity indicator. In addition, although a successful scaling-up of TiO₂/ITO photoelectrodes has been carried out for methanol oxidation, differences have been found for bacterial inactivation due to the different way of illumination of the photoelectrode (frontside/backside).

It is worth remarking that photocatalytic bacterial inactivation is enhanced by applying an electric potential bias since it leads to the formation of attractive charges between bacteria and TiO₂, and consequently, bacteria-TiO₂ interaction is notably improved. Moreover, the application of an electric potential leads to an increase in photocatalytic efficiency for methanol oxidation and *E. coli* inactivation in suspensions of low conductivity such as secondary wastewater effluents.

The main outcome of this work is the development of very active photocatalytic fixed-bed reactors with comparable irradiation time for total disinfection than that corresponding to TiO₂ in suspension and showing no deactivation in SWTPE. Those systems overcome the need of a post-treatment separation of the TiO₂ particles, and assures the removal of traces of low concentration of emerging pollutants such as pharmaceuticals during the disinfection process, constituting a effective process for the tertiary treatment of secondary wastewater treatment plant effluents for reuse purposes.

CAPÍTULO 1: RESUMEN

1. RESUMEN

El desarrollo económico implica la necesidad de disponer de recursos hídricos adicionales para poder abastecer a todos los sectores. Una de las vías para poder disminuir el uso de agua potable sin sacrificar el desarrollo económico consiste en la reutilización de efluentes de depuradoras puesto que estos constituyen uno de los recursos más importantes en volumen y disponibilidad. En el caso de la legislación española, el Real Decreto 1620/2007 establece el régimen jurídico de reutilización de aguas depuradas y recoge los criterios de calidad para la utilización de las aguas regeneradas según los usos, siendo uno de los parámetros que se evalúan la concentración de *Escherichia coli*. Las técnicas convencionales de desinfección por cloración presentan algunos inconvenientes en su aplicación debido a la generación de subproductos de desinfección de naturaleza cancerígena. Por este motivo, en la actualidad se están desarrollando las denominadas Tecnologías Avanzadas de Oxidación, entre las que destaca la fotocatalisis heterogénea con TiO_2 por ser una tecnología limpia que requiere condiciones de operación suaves, presión atmosférica y temperatura ambiente, sin necesidad de añadir compuestos químicos y permite la utilización de luz solar como fuente energética del proceso. Sin embargo, su aplicación comercial está limitada debido a la necesidad de separar las partículas de catalizador tras el tratamiento. A pesar de que la inmovilización del catalizador da lugar a limitaciones de transferencia de materia y reducción de la superficie activa, la tendencia en el desarrollo de sistemas fotocatalíticos debería ser hacia éstos, debido a sus claras ventajas operativas. Su baja eficiencia cuántica debido a la recombinación de los pares e^-h^+ fotogenerados puede reducirse mediante la utilización de fotoelectrodos semiconductores inmovilizados en un soporte conductor. Estos procesos, denominados fotoelectrocatalíticos, se basan en la aplicación de un pequeño potencial eléctrico entre un ánodo, correspondiente al electrodo semiconductor de trabajo y un contraelectrodo que actúa como cátodo, permitirían la separación física de los portadores de carga fotogenerados mejora la eficiencia cuántica del proceso.

Los principales objetivos de este trabajo son: (i) el estudio de las principales variables que influyen en el proceso fotocatalítico de inactivación bacteriana, (ii) el desarrollo de sistemas fotocatalíticos inmovilizados, eliminando la necesidad de un tratamiento adicional al final del proceso para recuperar las partículas de catalizador, (iii) evaluar la influencia de la

aplicación de un potencial eléctrico en la eficacia fotocatalítica de inactivación bacteriana, y (iv) evaluar posibles aplicaciones de esta tecnología como tratamiento terciario para la desinfección y eliminación simultánea de microcontaminantes emergentes en aguas residuales.

En primer lugar, mediante la aplicación de microscopía de epifluorescencia en ensayos de permeabilidad basados en el uso de fluorocromos capaces de unirse al ADN bacteriano en función de la permeabilidad de la membrana celular, se comprobó que el *mecanismo de inactivación fotocatalítico* se debe a sucesivos ataques de los radicales $\cdot\text{OH}$ que dan lugar a la lisis celular. En base a esto, se ha desarrollado un *modelo cinético fotocatalítico de inactivación bacteriana*, capaz de ajustar los resultados experimentales.

A continuación se realizó un estudio de las *principales variables del proceso fotocatalítico con TiO_2 en suspensión*: tanto la concentración óptima de TiO_2 en suspensión como la intensidad de radiación demostraron estar implicados únicamente en la absorción de fotones y formación de radicales $\cdot\text{OH}$. Por tanto, se podrían llevar a cabo experimentos fotocatalíticos de oxidación de compuestos químicos para optimizar el diseño del sistema. En cuanto al efecto de la concentración inicial de bacteria, aunque se observó un ligero aumento del tiempo de irradiación requerido para alcanzar la inactivación completa al aumentar la concentración bacteriana, los valores de constante cinética no fueron dependientes de la concentración inicial entre un rango de 10^3 y 10^6 UFC mL^{-1} . También se estudió la influencia del tipo de microorganismo utilizado en la eficacia del proceso. En concreto sus diferencias en estructura celular, puesto que el primer punto de ataque de los radicales $\cdot\text{OH}$ tiene lugar en la membrana celular. Se comparó *Escherichia coli* (Gram-negativa) y *Enterococcus faecalis* (Gram positiva). Una caracterización bacteriana inicial basada en el estudio de hidrofobicidad, carga tanto superficial como de la pared celular en conjunto, tipos de grupos funcionales ionizables, y composición de las formas de resistencia desarrolladas en la pared celular ante factores de estrés no dieron lugar a diferencias significativas. De acuerdo a estos resultados, tampoco se observaron diferencias notables en los experimentos llevados a cabo con TiO_2 en suspensión. Por tanto, los resultados fotocatalíticos obtenidos usando *E. coli* como bacteria modelo podrían ser extrapolables a otro tipo de bacterias e incluso mezcla de bacterias. La composición química del agua ha mostrado ser un factor relevante en la eficacia del proceso. La presencia de especies iónicas y orgánicas en el agua puesto que actúan como atrapadores de radicales $\cdot\text{OH}$, incrementando el tiempo de tratamiento. Los procesos fotocatalíticos de

inactivación bacteriana fueron más sensibles a la composición química del agua que los de oxidación de un compuesto químico al influir aspectos microbiológicos: La desaparición del estrés osmótico en suspensiones salinas dio lugar a condiciones apropiadas para la supervivencia bacteriana, necesitando más ataques de radicales $\cdot\text{OH}$ para alcanzar la inactivación completa. Especies como fosfatos y materia orgánica pueden servir como nutrientes a la bacteria, dificultando el proceso de inactivación. Por el contrario, la presencia de compuestos con poder oxidante como cloruros puede acelerar el proceso de inactivación bacteriana.

Se desarrollaron dos tipos de sistemas fotocatalíticos inmovilizados: de pared y lecho fijo, optimizando el número de recubrimientos de TiO_2 que permitiera una mayor absorción de radiación UV-A. Por una parte, se observaron diferencias en el perfil de inactivación bacteriana entre los sistemas fotocatalíticos inmovilizados y con TiO_2 en suspensión. Un mayor retraso inicial junto con una aceleración del proceso final para los primeros y una tendencia opuesta para el segundo. Puesto que la principal diferencia entre ambos sistemas en la configuración del TiO_2 en el reactor, las diferencias observadas pueden deberse a la interacción bacteria- TiO_2 . Mediante microscopía de epifluorescencia se observó un mayor incremento inicial del número de bacterias dañadas, que podría ser consecuencia de un daño más focalizado en un área específica, correspondiente al área donde la interacción bacteria- TiO_2 tiene lugar, dando lugar a ataque de los radicales $\cdot\text{OH}$ más efectivo.

Por otra parte, también se observaron diferencias en la eficacia fotocatalítica entre ambos sistemas inmovilizados, de forma que el reactor de lecho fijo permitió la inactivación bacteriana en tiempos de irradiación menores que en el caso del reactor de pared. En este caso, experimentos de adhesión con ambos sistemas inmovilizados, mostraron una mayor adhesión de la bacteria al catalizador en el reactor de lecho fijo. Este hecho unido a una mayor superficie activa y turbulencia en este reactor en comparación con el de pared podrían reducir el tiempo de irradiación. Destacar que el reactor de lecho fijo permitió la inactivación bacteriana en tiempos de irradiación comparables a los del sistema en suspensión y mostró estar menos afectado negativamente en aguas residuales. Mediante experimentos de adhesión, se observó que en el reactor de lecho fijo la adhesión bacteriana hacia el catalizador en aguas residuales sintéticas en comparación con el agua desionizada está favorecida, a diferencia de lo observado en el reactor de pared. Este hecho podría ser responsable de que la eficacia fotocatalítica de inactivación bacteriana no fuera tan baja en el reactor de lecho fijo en

comparación tanto con el reactor de pared como con TiO_2 en suspensión, puesto que al favorecer la interacción entre la bacteria y el catalizador contrarrestando la presencia de especies capaces de reaccionar con radicales $\cdot\text{OH}$. Además, en experimentos control en presencia de anillos Raschig y radiación UV-A en agua desionizada se observó que los choques de la bacteria podrían suponer un estrés mecánico adicional para la bacteria. Esto podría dar lugar al desarrollo de formas de resistencia en la superficie bacteriana, contribuyendo al aumento de la adhesión bacteria- TiO_2 .

También se llevaron a cabo experimentos fotocatalíticos simultáneos de inactivación bacteriana y de oxidación de una mezcla de microcontaminantes emergentes (fármacos en concentraciones de $20 \mu\text{gL}^{-1}$). Este tipo de microcontaminantes han generado una gran alarma en los últimos años debido a su detección en numerosos cursos hídricos, dado que las tecnologías actualmente implantadas en las plantas depuradoras de aguas residuales no son eficaces para su eliminación. Aunque su concentración es en muchos casos a nivel de trazas, su potencial efecto biológico requiere de su eliminación, sobre todo si el objetivo es la reutilización de estas aguas. Se llevaron a cabo en sistemas con TiO_2 en suspensión como inmovilizado en lecho fijo en agua desionizada y aguas residuales sintéticas. Todos los fármacos fueron eliminados completamente durante el proceso de inactivación fotocatalítica bacteriana en ambos sistemas y en ambas suspensiones. De nuevo, el reactor de lecho fijo permitió tanto una inactivación bacteriana como eliminación completa de los fármacos en tiempos comparables a los de un sistema en suspensión en aguas residuales sintéticas.

A continuación, se desarrolló un reactor fotocatalítico con TiO_2 en suspensión a mayor escala, permitiendo pasar de utilizar un volumen de trabajo de 1 a 4 L. Se realizó un estudio comparativo entre el reactor con TiO_2 en suspensión a escala de laboratorio utilizado hasta el momento y el de poyata, evaluando concentración de catalizador, radiación UV-A y concentración inicial de bacteria. Ambos reactores, de igual geometría pero diferente escala, mostraron operar con un flujo de radiación incidente comparable e igual concentración de catalizador. Seguidamente, se llevaron a cabo experimentos fotocatalíticos de inactivación bacteriana y oxidación de fármacos de forma simultánea. Se obtuvieron resultados similares a los del reactor a escala de laboratorio, excepto en la eliminación de fármacos en aguas residuales sintéticas, cuya eliminación total requirió de tiempos de irradiación superiores a los del proceso de desinfección. Aunque en ambos reactores se opera en condiciones de régimen de flujo laminar, en el caso del reactor a escala de laboratorio se dan condiciones de mezcla

perfecta. Por tanto, en el reactor de poyata podrían existir limitaciones difusionales sobre todo a elevada cantidad de catalizador, pudiendo influir negativamente en la eficacia de eliminación de fármacos.

También se evaluó el efecto de la aplicación de un potencial eléctrico en la mejora fotocatalítica de un proceso de oxidación. Para ello se utilizó una celda electroquímica, basada en la aplicación de una diferencia de potencial eléctrico entre un fotoánodo de TiO_2 inmovilizado en un soporte conductor y un contraelectrodo, utilizando un electrodo de referencia, permitiendo el estudio de los fenómenos electroquímicos. En primer lugar, se estudió la influencia del tipo de fotoánodo. Se prepararon fotoelectrodos de 25 cm^2 de área: térmico, oxidando un soporte de Ti; y particulados: inmovilizando TiO_2 comercial en un soporte de Ti y de vidrio conductor de óxido de estaño dopado con indio, ITO. Las características de composición y estructura de la película de TiO_2 (presencia de anatasa y rutilo y tamaño de cristal, y porosidad) afectaron al proceso predominante en los procesos fotoelectrocatalíticos, separación de los portadores de carga a través de la película de TiO_2 como consecuencia de la aplicación de un potencial eléctrico o de transferencia de los mismos en superficie. La interacción TiO_2 y soporte conductor también fue determinante al afectar a la eficacia en el transporte de electrones por la película de TiO_2 hasta el soporte conductor. Los procesos de transferencia de los portadores de carga en superficie predominan en los fotoelectrodos particulados, reduciendo la recombinación y mostrando por tanto una elevada actividad fotocatalítica y fotoelectrocatalítica en la oxidación de metanol, en comparación con el fotoelectrodo térmico. La recombinación es reducida en el fotoelectrodo térmico debido a la separación de los portadores de carga como consecuencia de la aplicación de un potencial eléctrico. Sin embargo, su reducida superficie activa así como a presencia solamente de rutilo como forma cristalina de TiO_2 limita la eficacia en la oxidación de compuestos orgánicos. El electrodo TiO_2/Ti presentó la actividad tanto fotocatalítica como fotoelectrocatalítica más elevada al combinar procesos de transferencia de carga en superficie como consecuencia de su capa particulada de TiO_2 , así como procesos de separación de cargas al aplicar un potencial eléctrico debido a la buena interacción soporte y película de TiO_2 . El grosor de la capa de TiO_2 mostró afectar a la eficacia del proceso fotoelectrocatalítico, ya que un espesor elevado puede aumentar la resistencia al transporte de electrones por la película de TiO_2 . Por tanto, el valor de grosor óptimo de la capa de TiO_2 en procesos fotocatalíticos, correspondiente a aquel que permite la máxima absorción de radiación UV-A puede no coincidir con el óptimo en procesos fotoelectrocatalíticos. Por tanto, debido al elevado número de variables que afectan

al proceso, los datos de fotocorriente no siempre pueden ser indicativos de actividad fotoelectrocatalítica.

Se llevó a cabo un escalado de los fotoelectrodos de TiO_2/ITO en un reactor fotoelectrocatalítico, con una configuración similar a la del sistema fotocatalítico de pared. El proceso fotoelectrocatalítico de oxidación de metanol mostró valores comparables a los obtenidos en la celda tanto de densidad de fotocorriente así como de constante cinética. Sin embargo, en el caso de inactivación bacteriana, se observaron mejores resultados en términos de constante cinética en la celda, lo que se puede deber posiblemente a las diferencias en la forma de iluminación del fotoelectrodo. Dado que en el reactor el fotoelectrodo se ilumina por la parte trasera, en vez de frontalmente a la capa de TiO_2 como en la celda, la mayoría de los huecos se formarían a lo largo de la capa de TiO_2 en vez de principalmente en la superficie como en la celda. Sin embargo, la bacteria sólo podría acceder a aquellos huecos en la superficie como consecuencia de su mayor tamaño en comparación con el metanol que puede difundir por la capa porosa. Destacar que al aplicar un potencial eléctrico, la eficacia de inactivación fotocatalítica bacteria se ve notablemente mejorada, observando además un aumento de ésta con el potencial eléctrico. Por el contrario no ocurre lo mismo en el caso del metanol. Esto sugiere que la bacteria, negativamente carga, puede verse atraída hacia la superficie del TiO_2 , más positivamente cargada al aplicar una diferencia de potencial.

Con vista a una posible aplicación de un sistema fotoelectrocatalítico en efluentes de salida de un tratamiento secundario de una planta de depuración de aguas residuales, el hecho de presentar esta suspensión una baja conductividad no impidió observar una mejora de la eficacia fotocatalítica tanto del proceso de inactivación bacteriana como de oxidación de metanol en aguas residuales sintéticas.

Como principal conclusión, se puede destacar que los sistemas fotocatalíticos desarrollados mediante inmovilización de TiO_2 en un reactor de lecho fijo permitieron alcanzar una desinfección completa en tiempos comparables a los del TiO_2 en suspensión, sin mostrar una pérdida significativa de actividad tras varios ciclos de reutilización en aguas residuales sintéticas, eliminando la necesidad de recuperar el catalizador al final del tratamiento y permitiendo la eliminación de una diferentes tipos de fármacos durante el proceso. Por tanto, este sistema fotocatalítico podría ser efectivo como tratamiento terciario para desinfección y eliminación de microcontaminantes emergentes de forma simultánea en efluentes de salida del tratamiento secundario de depuradoras, permitiendo su reutilización.

CAPÍTULO 2: INTRODUCCIÓN

2. INTRODUCCIÓN

2.1. Problemática actual del agua.

El agua es de vital importancia para los seres humanos, no solo a nivel fisiológico, sino también a nivel económico, político y social, por lo que a lo largo de la historia se han desarrollado procedimientos para la explotación de distintas fuentes de abastecimiento de agua como son las aguas superficiales, subterráneas y pluviales. La contaminación ambiental generada por el crecimiento de la población mundial y la actividad humana unida a las crecientes restricciones en los recursos hídricos disponibles constituyen una preocupación permanente de nuestra sociedad. Esta preocupación se materializa en regulaciones cada vez más estrictas para el tratamiento de los efluentes acuosos urbanos e industriales (Directiva 91/271/CEE) [1] así como para el acondicionamiento de recursos hídricos destinados al abastecimiento de agua potable (Directiva 98/83/CE) [2]. Los tratamientos físico-químicos y biológicos instalados en las plantas depuradoras de aguas residuales convencionales permiten el procesado eficiente de los efluentes acuosos originados en los núcleos urbanos, así como de una gran parte de los vertidos industriales. La presencia de contaminantes químicos en las aguas destinadas a consumo humano puede llegar a generar problemas de toxicidad crónica tras una exposición prolongada, especialmente aquellos contaminantes bioacumulables. En general, la presencia prolongada de contaminantes en las fuentes de suministro es fácil de detectar y solventar a corto plazo antes de que lleguen a generar un riesgo real para la población. Sin embargo, sería necesario poder prevenir potenciales repercusiones negativas como consecuencia de la presencia de pequeñas concentraciones de contaminantes que puedan suponer un riesgo a la salud humana, animal o vegetal. Finalmente, cabe destacar que la necesidad de fuentes de agua alternativas, asociadas con el incremento de los requisitos legales para la descarga de vertidos de aguas residuales, han derivado en el desarrollo de políticas y estrategias para la reutilización de aguas residuales depuradas, convirtiendo las aguas regeneradas en una nueva fuente de recursos hídricos.

2.1.1. Contaminantes biológicos de las aguas residuales: Microorganismos.

Contaminantes químicos aparte, los problemas más importantes de salud generados por el consumo de agua son el resultado de la presencia de contaminantes biológicos de diversa naturaleza (bacterias, virus, protozoos, etc.). Los riesgos microbiológicos del consumo de agua están habitualmente asociados a la existencia de contaminación fecal en las fuentes de suministro de agua potable, ya sea de origen humano o animal [3-5]. Las heces son una fuente de bacterias patógenas, virus y protozoos [6] que habitualmente infectan el tracto gastrointestinal produciendo síntomas como fatiga, diarrea y dolor abdominal. Las enfermedades causadas por estos microorganismos pueden transmitirse como resultado de la ingestión de agua sin tratar o tratada inadecuadamente, ingestión de especies acuáticas infectadas o por contacto de la piel con agua contaminada y con efluentes de aguas residuales inadecuadamente desinfectados cuando estas aguas se reutilizan [7]. En la Tabla 2.1 se muestran algunas de las enfermedades más importantes de transmisión hídrica.

La contaminación microbiana en las fuentes de suministro de agua potable ha producido numerosos estallidos epidémicos de diferente naturaleza en países de todo el mundo [3-5]. De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS), solamente las diarreas producidas por la ingestión de agua en malas condiciones causan entre 1,8 y 3,4 millones de muertos al año, de los cuales el 90% son niños de menos de 5 años pertenecientes a las comunidades más pobres del planeta [4]. Sin embargo, el problema de las enfermedades de transmisión hídrica no está limitado a los países menos desarrollados. Valga como ejemplo el brote de criptosporidiosis que tuvo lugar en Milwaukee (Wisconsin, Estados Unidos) en el año 1993 y que afectó a más de 400.000 personas, produciéndoles severas diarreas tras la ingesta de agua potable contaminada con *Cryptosporidium oocysts*, un parásito intestinal [9].

Otro problema importante de salud pública en la actualidad es el producido por la presencia de *Escherichia coli* O157:H7, una estirpe patógena que produce diarrea sanguinolenta y fallo renal agudo, en ocasiones letal. El primer caso documentado de infección por *E.coli* O157:H7 tuvo lugar en Ottawa (Canadá) en 1982 y se asoció a la ingestión de hamburguesas infectadas [10]. Otros brotes han sido posteriormente documentados en Estados Unidos [11-13], varios países europeos [14, 15], Sudáfrica [17] y Japón [18]. El brote más serio tuvo lugar en Walkerton (Ontario, Canadá) en la primavera del año 2000, resultando en 6 muertos y más de 2300 afectados [19]. En España, el Laboratorio

de Referencia de *E.coli* (LREC), localizado en el Departamento de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Santiago de Compostela ha documentado la existencia de, al menos, siete brotes de *E.coli* O157:H7 en las últimas décadas [20]. En base a lo expuesto, puede apreciarse como la desinfección de aguas superficiales y subterráneas cuyo destino sea las redes de suministro de agua potable es un proceso crucial en el tratamiento de las mismas con vistas a asegurar su calidad, debiendo minimizarse al mismo tiempo los efectos sobre sus propiedades organolépticas.

Tabla 2.1. Enfermedades infecciosas habituales de transmisión hídrica [8].

Organismo	Enfermedad principal	Fuente primaria
<u>Bacterias</u>		
<i>Salmonella typhi</i>	Fiebres tifoideas	Heces humanas
<i>Shigella</i>	Disentería	Heces humanas
<i>Vibrio cholerae</i>	Cólera	Heces humanas / aguas costeras
<i>Pathogenic Escherichia coli</i>	Gastroenteritis	Heces humanas / animales
<i>Legionella pneumophila</i>	Fiebre de Pontiac Legionelosis	Aguas calientes
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Dermatitis	Aguas naturales
<u>Virus entéricos</u>		
Poliovirus	Poliomielitis	Heces humanas
Virus Hepatitis A	Hepatitis infecciosa	Heces humanas
Adenovirus entéricos	Gastroenteritis	Heces humanas
<u>Protozoos y otros organismos</u>		
<i>Giardia lamblia</i>	Poliomielitis	Heces humanas / animales
<i>Cryptosporidium parvum</i>	Grastroenteritis (Criptosporidiosis)	Heces humanas / animales
<i>Toxoplasma gondii</i>	Toxoplasmosis	Gatos
Algas verdeazuladas	Gastroenteritis, enfermedades hepáticas y del sistema nervioso	Aguas naturales
Hongos	Alergias respiratorias	Aguas naturales / aire

2.1.2. Calidad microbiológica de las aguas residuales: *Escherichia coli*.

Para obtener un índice de la calidad de las aguas se usan una serie de *microorganismos indicadores* [8, 21, 22]. El uso de indicadores microbiológicos reduce los problemas que generaría analizar todos los patógenos presentes en las aguas, dada la gran variedad, así como las bajas concentraciones en las que se encuentran. Por otra parte, reduce los riesgos que supondría para el analista la exposición a organismos patógenos y permite obtener resultados microbiológicos en menor tiempo, dado que los métodos microbiológicos disponibles asociados a la detección de patógenos son muy largos. Los criterios exigibles a dichos microorganismos son:

- i) Que no sean patógenos por sí mismos.
- ii) Que estén habitualmente asociados al tracto intestinal de humanos y animales.
- iii) Que sean fácilmente detectables por métodos sencillos y rápidos.
- iv) Que no estén presentes en aguas naturales.
- v) Que su persistencia en agua y su grado de eliminación en los tratamientos de desinfección sea similar a la de los microorganismos patógenos de transmisión hídrica.

El indicador más ampliamente utilizado es el grupo de los microorganismos coliformes, que incluye a *Escherichia coli*. Los coliformes proporcionan un parámetro indicador de gran sensibilidad de la posible existencia de contaminación fecal en las aguas. La bacteria *Escherichia coli* constituye el organismo más estudiado siendo su genética y fisiología perfectamente conocidas casi en su totalidad. Es un organismo procariótico, y como tal, está constituido por una única célula autónoma. Pertenece a la familia *Enterobacteriaceae*, que se definen como Gram-negativas, no formadoras de esporas, con forma de bastón y anaerobias facultativas, es decir, presentan metabolismos tanto aerobio como fermentativo [23].

La Figura 2.1 muestra una representación esquemática de la estructura celular de *E.coli*. Presenta una *membrana externa* o *membrana celular* que consiste principalmente en un bicapa lipídica compuesta de una capa externa de lipopolisacáridos y una capa interna de fosfolípidos. Los otros componentes mayoritarios de la membrana celular son proteínas que actúan como canales de difusión pasivos para la entrada de nutrientes en la célula. La membrana externa tiene un espesor en torno a 10-15 nm y constituye una barrera muy resistente para al ataque de compuestos químicos. En la superficie de la membrana externa,

distribuidos de forma uniforme alrededor de la célula se encuentran anclados unos apéndices rígidos de forma helicoidal denominados *flagelos* (10-20 μm de longitud y ~ 25 nm de anchura) que proporcionan movimiento a la célula a través de su rotación. También están presentes otras estructuras denominadas *fimbrias* o *pili* que consisten en pequeños apéndices (0,2-2 μm de longitud y $\sim 6,5$ nm de diámetro) mucho más numerosos y cuya función está relacionada con el anclaje a otras bacterias para la transferencia de ADN [23, 24]. Justo debajo de la membrana externa y unida covalentemente a ella, se ubica la *pared celular*, compuesta de peptidoglucano. La pared celular proporciona a la bacteria su forma característica y su función es la de evitar la lisis celular debida a la presión osmótica. En *E.coli* la pared celular es muy fina (2-6 nm) y puede consistir en una monocapa de peptidoglucano. La pared celular se ubica en el *periplasma*, con un espesor de unos 10 nm cuya función se cree la que es la de ayudar a la osmoregulación [23].

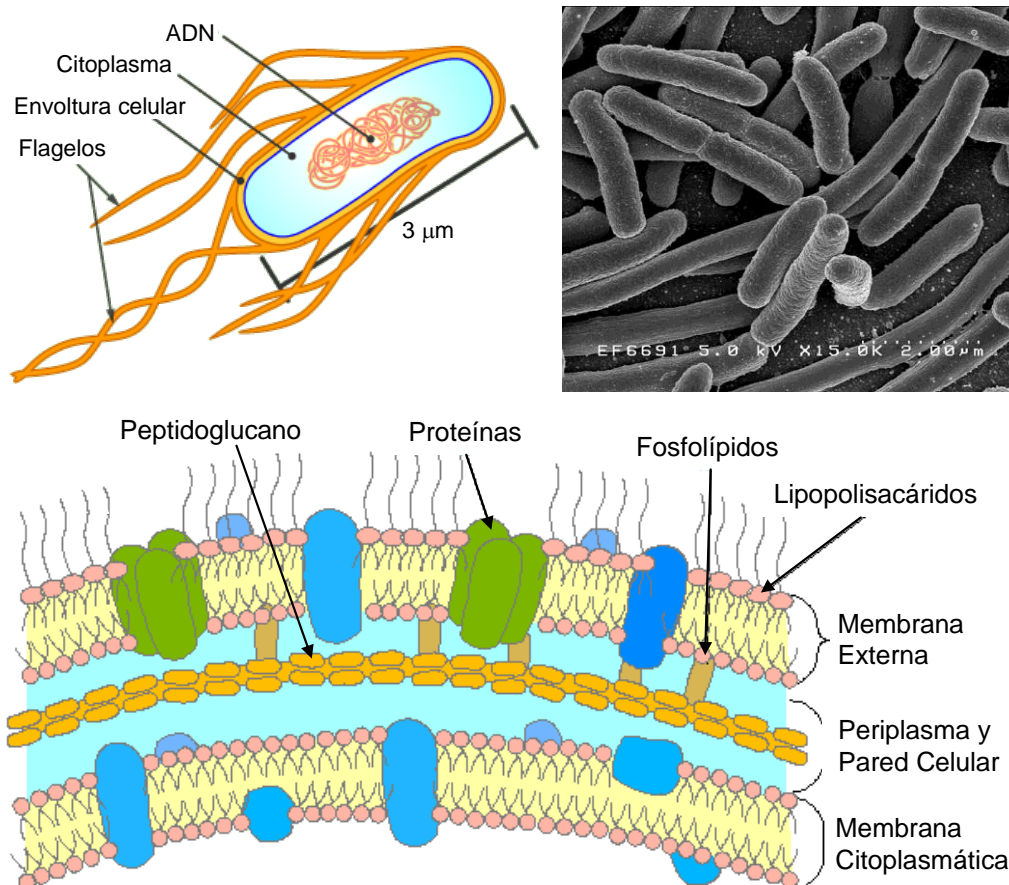


Figura 2.1. Representación esquemática de la estructura de *Escherichia coli* (superior izquierda). Microfotografía tomada en el microscopio electrónico de transmisión (superior derecha). Representación esquemática de la envoltura celular (inferior) [25, 26].


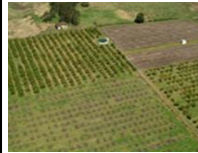



Por debajo de la pared celular se ubica la *membrana interna* o *membrana citoplasmática*, compuesta de una bicapa lipídica de unos 8 nm de espesor constituida por fosfolípidos (40 %) y proteínas (60 %). La membrana interna, junto con la membrana externa, actúan como una barrera osmótica, un sistema específico de transporte de nutrientes, un sistema de síntesis de lípidos y peptidoglucanos y un sistema de transporte de electrones para los procesos redox del metabolismo celular. La parte interna de la célula es el *citoplasma*, donde se ubica el ADN cromosómico que almacena toda la información genética, el ARN y los ribosomas necesarios para la síntesis de proteínas, y otros orgánulos y moléculas con diferentes funciones fisiológicas [23, 24].

E.coli es comúnmente empleado como microorganismo indicador debido a su facilidad de crecimiento y detección en el laboratorio [27] así como por su origen intrínsecamente fecal y por estar recogido en todas las normativas de agua. La mayoría de las bacterias de *E.coli* son inofensivas, aunque algunas pueden producir enfermedades, como se ha explicado anteriormente. Para estudios de laboratorio, la estirpe *E.coli* K-12 se ha convertido en un estándar microbiológico utilizada ampliamente en docencia e investigación durante los últimos 70 años [28]. Se trata de una estirpe debilitada deliberadamente que sobrevive con dificultad en humanos y en el ambiente y que no tiene efectos adversos en otros microorganismos y plantas.

2.1.3. Reutilización de aguas residuales.

El Real Decreto 1620/2007, de 7 de diciembre, establece el régimen jurídico de la reutilización de las aguas depuradas [29]. En este Real Decreto se especifica una reglamentación muy completa, que permite obtener pautas a seguir en materia de reutilización. En primer lugar, define el concepto de reutilización e introduce el concepto de aguas regeneradas. Éstas se definen como aquellas aguas residuales que han sido sometidas a un tratamiento adicional que permite adecuar su calidad a un uso posterior. Son diversas las aplicaciones en donde las aguas regeneradas pueden ser utilizadas, dependiendo del uso que se les quiera dar, como muestra la Tabla 2.2.

Tabla 2.2. Usos potenciales de las aguas regeneradas y contenido de *E. coli* permitido [29].

1. Urbanos	2. Agrícolas	3. Industriales	4. Recreativos	5. Ambientales
				
<p>1.1. Usos residenciales. Riego jardines privados; Descarga de aparatos sanitarios (0 UFC/100 mL).</p> <p>1.2. Servicios urbanos. Riego de zonas verdes; Baldeo de calles; Sistemas contra incendios; Lavado industrial de vehículos, ... (200 UFC/100 mL).</p>	<p>2.1. Contacto directo del agua con partes comestibles (100 UFC/100 mL).</p> <p>2.2. Productos cuyo consumo se realiza después de un tratamiento posterior; Pastos para animales productores de leche o carne; Acuicultura (1000 UFC/100 mL).</p> <p>2.3. Cultivos leñosos; Flores ornamentales, viveros e invernaderos; cultivos industriales, (10000 UFC/100 mL).</p>	<p>3.1. Aguas de proceso y limpieza ; Otros usos industriales (10000 UFC/100 mL). Industria alimentaria (1000 UFC/100 mL).</p> <p>3.2. Torres de refrigeración y condensadores evaporativos (0 UFC/100 mL).</p>	<p>4.1. Riego de campos de golf (200 UFC/100 mL).</p> <p>4.2. Estanques, caudales circulantes ornamentales a los que está impedido el acceso del público al agua (10000 UFC/100 mL).</p>	<p>5.1. Recarga de acuíferos por percolación a través del terreno (1000 UFC/100 mL).</p> <p>5.2. Recarga de acuíferos por inyección directa (0 UFC/100 mL).</p> <p>5.3. Riego de bosques y zonas verdes no accesibles al público; Silvicultura (sin límite)</p> <p>5.4. Otros usos ambientales: mantenimiento de humedales, etc. (Caso por caso).</p>

También establece los requisitos necesarios que se deben cumplir para llevar a cabo la utilización de las aguas residuales y por último, incluye dos anexos, destinados a definir los criterios de calidad que deben cumplir las aguas según el uso específico al que estén destinadas. Como se ha mencionado anteriormente, puesto que en las aguas residuales residen una gran cantidad de microorganismos, algunos de ellos de carácter patógeno, su contenido aparece regulado para todos los usos a los que se destine el agua regenerada. En concreto, el RD 1620/2007 establece *E.coli* como microorganismo indicador de referencia para evaluar la calidad microbiológica de las aguas en función de los diferentes usos, tal y como se muestra en la Tabla 2.2.

La necesidad de alcanzar la calidad microbiológica exigida para los diferentes usos de las aguas regeneradas impone la necesidad de llevar a cabo tratamientos de desinfección. Este proceso de desinfección de aguas residuales se define como el mecanismo a través del cual los organismos patógenos son desactivados o destruidos mediante el uso de agentes mecánicos, químicos y/o físicos. El objetivo primordial de la desinfección es evitar que el uso del agua sea una fuente de enfermedades, de ahí la necesidad de la existencia de un tratamiento

terciario eficaz aunque en los tratamientos primarios y secundarios de depuración se eliminen porcentajes elevados de microorganismos entéricos.

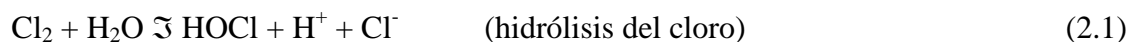
Por otra parte, existen muchas sustancias que pueden suponer un peligro para la población a la hora de reutilizar las aguas depuradas, como son los contaminantes químicos denominados contaminantes emergentes, como son fármacos, pesticidas, etc. El número de vías de entrada de los mismos al agua es elevado: granjas, industrias, aguas residuales de hospitales y clínicas veterinarias, así como aguas residuales domésticas. Éstos se han detectado en los últimos años en las aguas residuales en concentraciones traza (ng L^{-1}) indicando que los tratamientos existentes en las plantas depuradoras no son eficaces para su eliminación y por tanto, su presencia en las aguas residuales sería un problema a la hora de la reutilización de dichas aguas. Por tanto, sería necesario un tratamiento terciario adicional [30, 31]. Otro problema relacionado con este tipo de contaminantes son que sus efectos potenciales tanto en ecosistema acuáticos como en humanos como consecuencia de la exposición a éstos durante un largo periodo de tiempo son aún desconocidos. Sin embargo, algunos de ellos podrían ser su acción tóxica y actividad como disruptores endocrinos hacia organismos acuáticos, bioacumulación a través de la cadena trófica debido a su carácter no biodegradable y el aumento de la resistencia de diferentes microorganismos, reduciendo la eficacia de los fármacos para tratarlos [30, 31].

2.2. Tecnologías convencionales de desinfección de aguas.

Las etapas previas a la desinfección eliminan eficientemente la mayor parte de las algas, bacterias y protozoos, consideradas como partículas en suspensión, y también los virus, junto con las partículas orgánicas coloidales eliminadas en el proceso de coagulación-floculación [32]. Sin embargo, pese a que estos tratamientos permiten reducir en gran medida en el contenido en microorganismos del agua, no pueden garantizar su completa eliminación, por lo que es necesario un posterior tratamiento de desinfección como barrera final para garantizar el cumplimiento de la calidad del agua requerida en función de su uso posterior. Es importante destacar que los procesos de desinfección no buscan la total esterilización del agua requerida, sino que su objetivo es inactivar los microorganismos patógenos, porque lo que puede que no necesariamente se hayan destruido todos los microorganismos y formas no vegetativas. A continuación se muestran los métodos de desinfección más ampliamente utilizados.

2.2.1. Cloración.

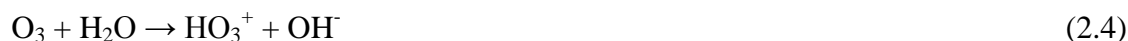
Consiste en la adición de cloro gas u otros compuestos de cloro al agua. Cuando el cloro se introduce en agua en cualquiera de sus tres formas tienen lugar las siguientes reacciones químicas:



Su eficiencia de inactivación como desinfectante es muy elevada aunque se reduce al tratar microorganismos como *Cryptosporium* y *Giardia* [32]. Su efecto residual en el sistema de distribución impide el recrecimiento de los microorganismos eliminados y la entrada de otros nuevos. El principal inconveniente de esta tecnología es que el cloro produce reacciones secundarias con la materia orgánica presente en el agua formando subproductos de desinfección (DBP's, *Disinfection By-Products*) de carácter tóxico, carcinógeno y mutagénicos, que además consumen el cloro residual [32].

2.2.2. Ozonización.

Consiste en la utilización de ozono aprovechando su fuerte poder oxidante que permite tiempos de contacto cortos y bajas dosis para conseguir mayor efectividad de desinfección que la cloración [32, 33]. Las reacciones que tienen lugar son las siguientes:



Los radicales que se generan ($^\cdot\text{HO}_2$ y $^\cdot\text{OH}$), poseen gran poder oxidante, y son los responsables de la acción desinfectante del proceso. Sin embargo, no existe efecto residual debido a su corto periodo de vida, y al ser poco soluble en agua requiere mecanismos de mezcla para solventar las limitaciones a la transferencia de materia gas-líquido. Los productos de desinfección obtenidos son aldehídos, ácidos, cetonas y alcoholes que pueden actuar como

precursores de DBP's [32]; además, si existen bromuros en el agua que puedan reaccionar con ozono se formarán bromatos, especies de naturaleza carcinógena [33].

2.2.3. Radiación UV de baja longitud de onda.

Mientras que los agentes desinfectantes anteriormente descritos inactivan los microorganismos a través de una reacción química, en este caso la inactivación se debe a la absorción de radiación UV (254 nm) por la célula, impidiendo su reproducción o provocando directamente su muerte. Se trata de un procedimiento eficaz frente a bacterias, virus y protozoos que no presenta la desventaja de la formación de compuestos tóxicos secundarios. Como factores limitantes, se encuentran la necesaria aplicación de agentes químicos con efecto residual y la falta de efectividad en aguas turbias con altas concentraciones de sólidos, ya que estos limitan la absorción de radiación y actúan como escudo de los microorganismos [32, 34].

2.2.4. Otros agentes de desinfección.

Existen una gran variedad de otros agentes físicos y químicos que se han mostrado eficaces en la inactivación de microorganismos patógenos. A continuación se citan algunos de ellos:

- i) **Calor:** La desinfección del agua mediante su ebullición es ampliamente conocida, aunque su coste económico la hace absolutamente inviable en la práctica. Sin embargo, su aplicación es útil en situaciones de emergencia en las que no se dispone de una fuente segura de suministro [35].
- ii) **Valores extremos de pH:** Producen cierta inactivación microbiana pero no son suficiente como único desinfectante.
- iii) **Bromo:** Es un agente oxidante que se ha utilizado con éxito en el tratamiento del agua de las piscinas. Al ser líquido, es fácil de manejar y adicionar al agua; su almacenamiento no es peligroso y aparentemente no causa olores ni irritación de los ojos [8].
- iv) **Yodo:** Puede utilizarse para el tratamiento de agua potable en caso de emergencia, pero su efecto fisiológico aún no es totalmente conocido [8].
- v) **Metales:** El efecto bactericida del cobre y de la plata es conocido desde la antigüedad, utilizándose en la antigua Grecia depósitos de este material para almacenar el agua. En la actualidad, suele utilizarse en filtros en combinación con carbón activado. Su utilización

en el tratamiento de agua no produce productos secundarios y la presencia de materia orgánica no interfiere en su eficacia (como sí sucede con los desinfectantes clorados). Sin embargo, su elevado coste, la necesidad de elevados tiempos de tratamiento y su ineficacia frente a virus y protozoos hacen que su uso no sea muy extendido [8].

2.3. Tecnologías Avanzadas de Oxidación (TAO's).

Las limitaciones de los procesos convencionales para la desinfección de aguas como son la generación subproductos de desinfección potencialmente dañinos para la salud humana así como su ineficacia frente a protozoos patógenos de los géneros *Cryptosporium* y *Giarda*, han impulsado el desarrollo de nuevos procesos de tratamiento. Las Tecnologías Avanzadas de Oxidación (TAO's) agrupan a un elevado número de procesos cuyo denominador común es la generación de especies altamente reactivas, principalmente radicales hidroxilo ($\cdot\text{OH}$), bien por medios fotoquímicos (incluida la luz solar) o por otras formas de energía [36]. Estos radicales tienen una elevada capacidad para oxidar materia orgánica y generar productos no nocivos. En la Tabla 2.3 se muestra una relación de algunas de estas tecnologías [37].

Tabla 2.3. Tecnologías Avanzadas de Oxidación [37].

Procesos no fotoquímicos	Procesos fotoquímicos
Ozonización en medio alcalino (O_3/OH^-)	Fotólisis de agua por UV
Ozonización con peróxido de hidrógeno ($\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2$)	UV/ H_2O_2
Procesos Fenton ($\text{Fe}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2$) y relacionados	UV/ O_3
Oxidación electroquímica	Foto-Fenton y relacionados
Radiólisis γ y tratamiento con haces de electrones	Fotocatálisis heterogénea
Descarga electrohidráulica-Ultrasonido	
Oxidación en agua sub/ y supercrítica	
Plasma no térmico	

El fundamento de la mayoría de estas tecnologías está basado en dos propiedades del radical hidroxilo:

- i) Su capacidad oxidante ($E^0 = 2,8$ V), la más enérgica después de la correspondiente al flúor (Tabla 2.4), es superior a la correspondiente al ozono, al peróxido de hidrógeno y a los oxidantes clorados [37].
- ii) La velocidad de oxidación de compuestos orgánicos conseguida con el radical hidroxilo es 10^6 - 10^{12} veces más rápida que la presentada por oxidantes alternativos como el ozono (Tabla 2.5) [37].

Tabla 2.4. Potenciales redox de algunos agentes oxidantes [37].

Oxidante	E^0 (V) a 25°C
Flúor	3,03
Radical hidroxilo	2,80
Oxígeno atómico	2,42
Ozono	2,07
Peróxido de hidrógeno	2,78
Radical perhidroxilo	1,70
Permanganato	1,68
Dióxido de cloro	1,57
Ácido hipocloroso	1,49
Cloro	1,36

Tabla 2.5. Comparación de constantes cinéticas de oxidación, k ($L mol^{-1} s^{-1}$) [37].

Compuestos	$\cdot OH$	O_3
Alquenos clorados	$10^9 - 10^{11}$	$10^{-1} - 10^3$
Fenoles	$10^9 - 10^{10}$	10^3
Aromáticos	$10^8 - 10^{10}$	$1 - 10^2$
Cetonas	$10^9 - 10^{10}$	1
Alcoholes	$10^8 - 10^9$	$10^{-2} - 1$
Alcanos	$10^6 - 10^9$	10^{-2}

Por lo tanto, estos radicales tienen una elevada capacidad para oxidar materia orgánica y generar productos no nocivos. Así mismo, el poder oxidante de los radicales $\cdot OH$ permite

utilizar estos procesos para la inactivación de microorganismos [38] con el objetivo de conseguir la desinfección de aguas.

De entre las diferentes TAO's, la fotocatalisis heterogénea ha emergido durante los últimos años como una alternativa de gran interés debido a la posibilidad de utilizar directamente la radiación solar como fuente de energía. Además, permite trabajar en condiciones de presión y temperatura ambiente sin necesidad de reactivos químicos, sólo utilizando el oxígeno del aire como agente oxidante.

2.4. Fotocatálisis heterogénea.

La *fotocatálisis* puede definirse como la aceleración de una reacción por la absorción, directa o indirecta, de energía radiante (visible o UV) por parte de un catalizador, ya sea por vía homogénea o por vía heterogénea. En los sistemas heterogéneos, los procesos catalizados son fundamentalmente reacciones redox aceleradas por la fotogeneración de pares electrón-hueco de elevado poder reductor y oxidante, respectivamente. Estas reacciones tienen lugar en la interfase entre el sólido y la fase fluida, sin que el catalizador sufra cambios químicos al finalizar el proceso, no existiendo actividad catalítica en ausencia de radiación. Desde los trabajos iniciales desarrollados por Gerischer [39] y Fujishima y Honda [40] a principios de los 70, los procesos fotocatalíticos han alcanzado un elevado grado de madurez. El interés inicial despertado por los procesos fotocatalíticos encaminados a la conversión y almacenamiento de energía solar [41] se ha trasladado posteriormente a las potenciales aplicaciones ambientales de estos procesos en la eliminación de contaminantes en agua y aire. Un trabajo de bibliográfico realizado por Blake y actualizado periódicamente [42], muestra el incremento exponencial de publicaciones en este campo durante la década de los noventa. Asimismo, se han publicado numerosos trabajos de revisión sobre el fundamento y las aplicaciones de los procesos fotocatalíticos [34, 43-52]. En la actualidad, existen numerosas patentes y sistemas comerciales de sistemas fotocatalíticos encaminados fundamentalmente a la depuración de gases. Sin embargo, las aplicaciones para la descontaminación de aguas residuales aun no han alcanzado el desarrollo comercial, aunque actualmente existen numerosos sistemas a escala de planta piloto y de planta de demostración [53].

2.4.1. Fundamentos.

Estructura electrónica de los semiconductores.

Los procesos de fotocatalisis heterogénea se basan en la utilización de un material semiconductor como catalizador. Un modelo que describe de manera satisfactoria la estructura electrónica de los materiales semiconductores es la teoría de bandas de sólidos. Por definición, se denomina banda de valencia (BV) a la banda llena de electrones que presenta un mayor valor de energía potencial, mientras que la banda desocupada de menor valor de energía potencial es llamada banda de conducción (BC). La separación energética existente entre ambas bandas se conoce como ancho de la banda de energía prohibida o *band gap* (E_g).

En realidad, el salto energético depende del nivel de ocupación y es la diferencia entre la energía de los niveles ocupados más altos y los niveles desocupados más bajos (*Highest Occupied Molecular Orbital*, HOMO, y *Lowest Unoccupied Molecular Orbital*, LUMO). Otro concepto importante es el nivel de Fermi (E_F), que se define como el nivel de energía en el que la probabilidad de ocupación por un electrón es $\frac{1}{2}$. El nivel más alto de ocupación de un semiconductor intrínseco a 0 K se sitúa en el orbital de mayor energía de la banda de valencia, puesto que su nivel de Fermi se sitúa en el punto medio de la zona de energía prohibida, existiendo una densidad nula de portadores de carga. A temperaturas mayores, la agitación térmica promueve electrones a niveles por encima de E_F , extendiéndose la ocupación hasta un nivel $E_F + k_B T$ y desocupando una fracción equivalente de estados en el intervalo $E_F - k_B T$, siendo k_B la constante de Boltzmann y T la temperatura [34].

La existencia de impurezas o vacantes donadoras de electrones en la red cristalina del semiconductor introduce estados localizados de energía dentro de la banda de energía prohibida (E_d). Estas impurezas, cuyo estado energético se localiza cerca del LUMO, pueden oxidarse transfiriendo electrones al semiconductor y generando una red en la que los portadores de carga son mayoritariamente electrones, conocido como semiconductor *tipo n*. Por el contrario, la presencia de impurezas o vacantesceptoras de electrones en la red cristalina introduce estados localizados de energía (E_a) que sí se localizan cerca de la parte superior de la banda de valencia pueden reducirse tomando electrones y generando una red en la que los portadores de carga son mayoritariamente huecos, conocido como semiconductor *tipo p*. Como la posición del nivel de Fermi depende de la concentración de electrones y huecos, se produciría el desplazamiento del mismo. En el caso de semiconductores de *tipo n*,

su nivel E_F se sitúa justo bajo la banda de conducción, mientras que para un semiconductor de tipo p , éste se sitúa justo encima de la banda de valencia [54, 55]. Estos conceptos están representados en la Figura 2.2.

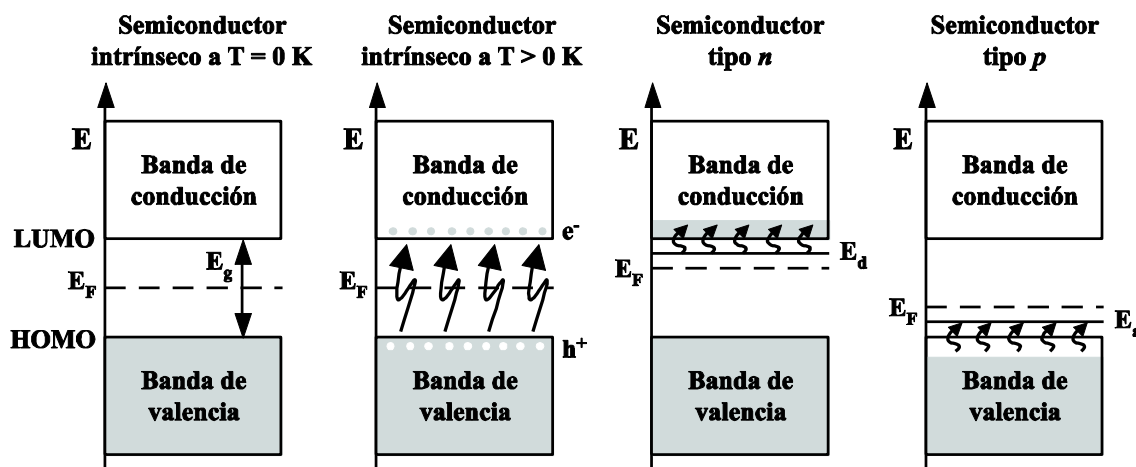


Figura 2.2. Nivel de Fermi y densidad de estados ocupados en un semiconductor [34].

Interfaz semiconductor-electrolito.

Cuando el semiconductor se encuentra en una suspensión acuosa en contacto con un electrolito se induce un reordenamiento de cargas hasta que el sistema se equilibra eléctricamente. Se genera así un gradiente de potencial tanto del lado de la solución como del sólido. El desarrollo de diferencias de potencial entre fases introduce un campo eléctrico interno, cuya condición de equilibrio está dada por la igualdad de los potenciales electroquímicos. En el sólido, el nivel de Fermi es una medida de la energía potencial eléctrica (potencial electroquímico) de los electrones de mayor energía en el estado fundamental. El concepto de nivel Fermi se extiende también a los electrolitos, de forma que si la disolución contiene un único par redox A/A^+ , el nivel de Fermi de la misma, $E_{F,redox}$, se corresponde con el potencial redox ε dado por la ecuación de Nernst [34].

El contacto entre el semiconductor y la disolución acuosa produce por lo tanto una transferencia de carga a través de la interfaz para igualar el nivel de Fermi de ambas fases, generando cargas netas en el semiconductor y en la disolución (las cargas libres en el sólido son electrones o huecos, mientras que en la disolución son iones). En la disolución, existen fenómenos adicionales de separación de cargas que en cierto modo fijan el potencial en la

superficie del sólido. En un semiconductor *tipo n*, el nivel de Fermi (E_F) es más alto que el potencial redox del electrolito ($E_{F,redox}$). Por tanto, los portadores mayoritarios (en este caso, los electrones) serán transferidos del semiconductor a la disolución para equilibrar las dos fases ($E_F = E_{F,redox}$). Por tanto, el nivel de Fermi del sólido baja hasta igualarse con el de la solución. Esta transferencia de carga hacia la disolución produce un déficit de electrones en las cercanías de la superficie del semiconductor (región de carga espacial, *space charge region*). En cambio, el nivel de Fermi de la solución permanece prácticamente constante, porque la densidad de estados ocupados es suficientemente grande. En consecuencia, el potencial en la superficie del sólido permanece constante, ya que depende sólo de la composición de la solución, y al bajar el nivel de Fermi del sólido, y existir una carga positiva en la región de carga espacial, las bandas de valencia y de conducción se curvan hacia arriba. En este caso, a la región de carga espacial se le denomina región de agotamiento (*depletion layer*, W). Estos conceptos se representan en la Figura 2.3. De forma análoga, en el caso de un semiconductor *tipo p*, se formaría una región de acumulación [34, 54-56].

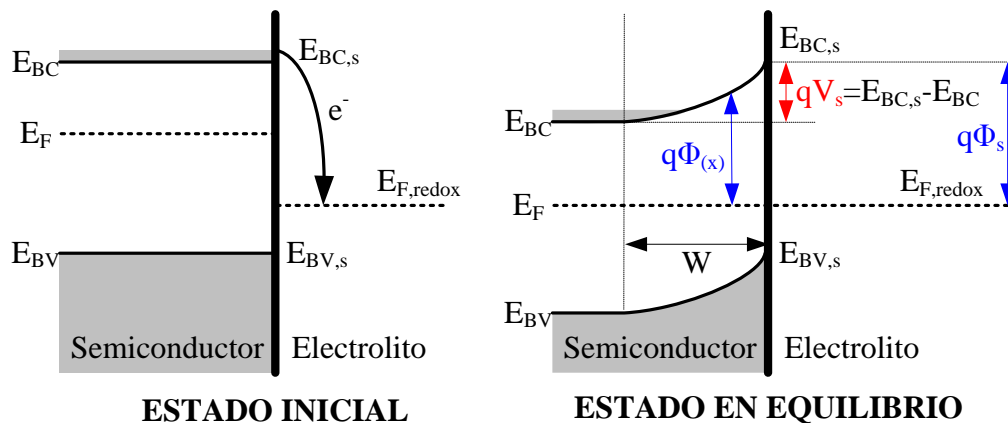


Figura 2.3. Diagrama energético del contacto semiconductor *tipo n*-electrolito [34].

El potencial en la superficie, V_s , es proporcional a la diferencia entre los niveles de Fermi de ambas fases por separado: $qV_s = E_F - E_{F,redox}$. Entre la superficie y el seno del semiconductor, en la región de carga espacial, la separación entre el nivel de Fermi y el fondo de la banda de conducción aumenta hacia la superficie. En consecuencia, cualquier transferencia de electrones desde el sólido a la solución deberá superar una barrera de potencial, $\Phi(x)$, cuyo valor sólo depende de las posiciones iniciales de E_{BC} y $E_{F,redox}$, y es independiente de la concentración de impurezas o de defectos.

Bajo iluminación, el nivel de Fermi en el seno del semiconductor sube (pues aumenta la densidad de electrones en la banda de conducción). El gradiente de campo eléctrico en la región de carga espacial promueve procesos migratorios de los portadores de carga; en semiconductores *tipo n*, los electrones migran hacia el seno del semiconductor y los huecos hacia la superficie. En consecuencia, la curvatura de las bandas disminuye [34, 54, 55]. El reordenamiento de cargas producido en el sistema en equilibrio genera un gradiente de potencial tanto del lado de la solución como del sólido.

El modelo aceptado para representar la interfaz semiconductor-electrolito es el de tres capas esquematizado en la Figura 2.4. Sobre el semiconductor se forma una capa (capa de Helmholtz) ya sea por adsorción de iones o moléculas, por dipolos orientados o por la formación de enlaces superficiales entre el sólido y las especies en solución. Las cargas opuestas en el semiconductor (electrones, huecos, donadores ionizados o estados aceptores) no están localizadas solamente en el plano de la interfaz, (como ocurre en la interfaz metal-electrolito) sino que se distribuyen a lo largo de una distancia finita hacia el interior del semiconductor, denominada *región de carga espacial*. Este distinto comportamiento se debe a la diferente concentración de portadores de carga existentes en los semiconductores (10^{15} - 10^{19} cm^{-3}) en comparación con los metales ($\sim 10^{23}$ cm^{-3}) [34].

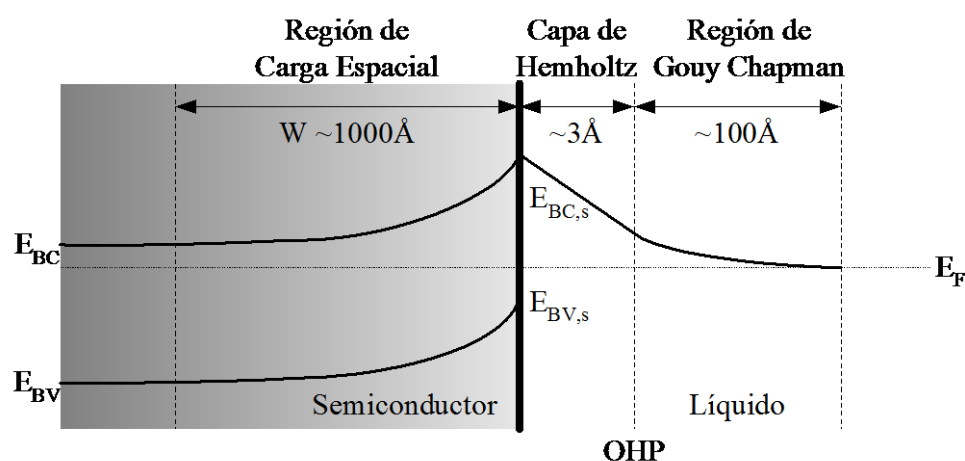


Figura 2.4. Interfaz semiconductor *tipo n*-electrolito en equilibrio [34].

La interfaz se puede dividir en 3 zonas:

i) **Región de carga espacial** (región de agotamiento para un semiconductor *tipo n*), que se extiende hacia el interior del semiconductor. Su extensión, W , depende tanto del par redox en

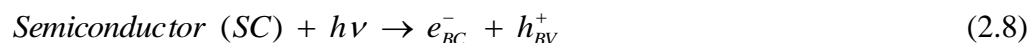
disolución (que fija el nivel de Fermi de la misma) como de la constante dieléctrica del material, ϵ_s y de la concentración de impurezas donoras, N_d . Para una densidad de portadores típica $n = 10^{17} \text{ cm}^{-3}$ y una barrera superficial de 0,5 eV (Φ_s), $W \sim 10^2 \text{ nm}$. Resaltar que el análisis es válido para sólidos con dimensiones mayores que W . En el caso de partículas coloidales más pequeñas, no hay doblado de bandas.

ii) **Región de Hemholtz**, situada entre el sólido y el *plano externo de Hemholtz* (*Outer Hemholtz plane*, OHP), que se corresponde con la mínima distancia de acercamiento de iones adsorbidos a la superficie. La extensión de la región de Hemholtz depende principalmente de la composición de la solución. Un valor típico del campo eléctrico en la capa de Hemholtz es $3 \cdot 10^9 \text{ V m}^{-1}$ para un cubrimiento de iones (H^+ u OH^-) entre el 1 % y 10 %, lo cual implica una diferencia de potencial de 0,1 V a 1 V entre el OHP y la superficie del sólido [34].

iii) **Región de Gouy Chapman** (o capa difusa) que se extiende hacia el seno de la solución y cuya extensión depende de la concentración del electrolito.

Reacción fotocatalítica.

Cuando el semiconductor se ilumina y absorbe radiación de energía igual o superior a E_g , se promueven electrones a la banda de conducción, generándose vacantes electrónicas o *huecos* en la banda de valencia [34, 43-53]:



Los dos portadores de carga, electrón y hueco, pueden migrar hacia la superficie de la partícula de semiconductor. En la difusión a través del sólido, ambos pueden encontrarse dando lugar a un proceso conocido como *recombinación volumétrica* en el que se libera energía en forma de calor. Incluso en el caso en el que tanto el electrón como el hueco consigan alcanzar la superficie de la partícula, puede producirse el encuentro entre ambos en un proceso de *recombinación superficial*. Si por el contrario las cargas fotoinducidas se mantienen atrapadas en la superficie del semiconductor el tiempo suficiente para que las moléculas en la interfase sólido-fluido puedan ser accesibles, se produciría la reacción fotocatalítica, en la que el hueco superficial actuaría como un agente oxidante extremadamente fuerte y sería capaz de captar un electrón de alguna sustancia adsorbida en la superficie del catalizador, oxidándola, mientras que el electrón fotogenerado puede ser transferido a una sustancia adsorbida que sería por tanto reducida. Es importante destacar que el sólido utilizado no presenta en sí mismo propiedades como catalizador, sino que esta

característica de fotocatalizador se genera en presencia de energía radiante. Estos conceptos se representan de forma esquemática en la Figura 2.5.

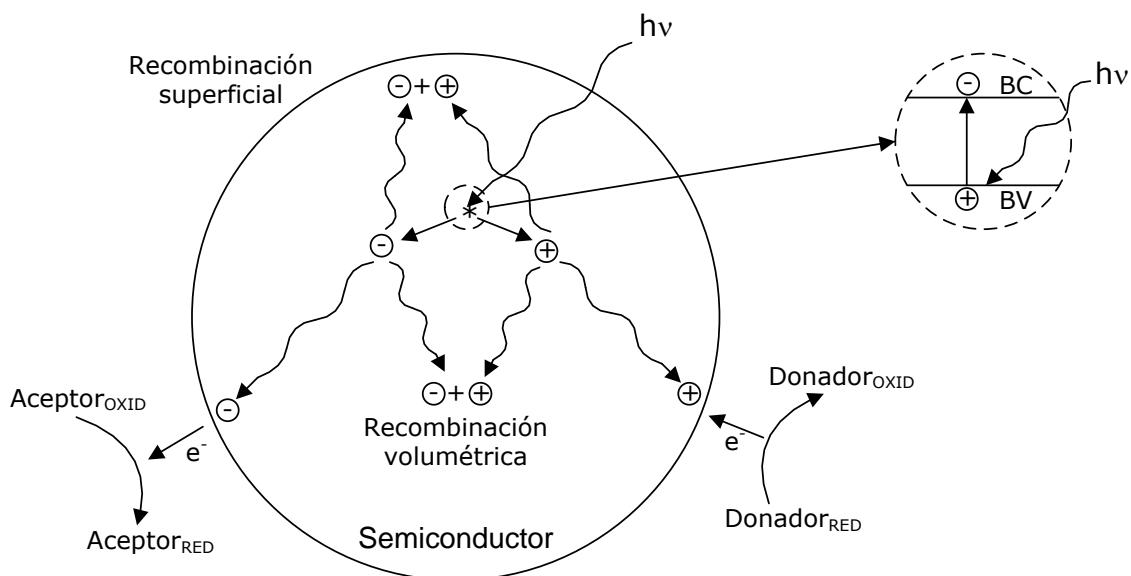


Figura 2.5. Esquema simplificado de los procesos de fotocatalisis heterogénea.

El mecanismo más generalmente aceptado para los procesos fotocatalíticos en disolución acuosa con óxidos semiconductores como el TiO_2 en presencia de oxígeno, considera que la mayor parte de los huecos que llegan a la superficie del semiconductor son capturados por los grupos hidroxilo superficiales generando radicales hidroxilo ($\cdot\text{OH}$) (reacción 2.9). En cuanto a los electrones fotogenerados que no sufren procesos de recombinación, reaccionan mayoritariamente con las moléculas de oxígeno adsorbidas generando otras especies oxigenadas reactivas (*Reactive Oxygen Species*, ROS) como los radicales superóxido ($\cdot\text{O}_2^-$) (reacción 2.10) y su forma protonada (reacción 2.11), que pueden conducir a la formación de peróxido de hidrógeno (reacción 2.13), y éste también, a la formación de más radicales hidroxilos (reacciones 2.14 y 2.15).



Rendimiento cuántico.

La eficacia de un proceso fotocatalítico se determina mediante un parámetro denominado *rendimiento cuántico*, que se define como el cociente entre la velocidad de reacción observada y la velocidad de absorción de fotones del material, en otras palabras, el número de moléculas que reaccionan por cada fotón absorbido [34].

$$\text{Rendimiento cuántico } (\phi_\lambda) = \frac{\text{Moles de producto fotoformado}}{\text{Moles de fotones absorbidos}} \quad (2.16)$$

El valor del rendimiento cuántico es fuertemente dependiente de la longitud de onda utilizada para iluminar el semiconductor. En la mayor parte de los casos, el valor de este rendimiento cuántico suele ser bastante bajo, en torno a 0,04, es decir solo el 4 % de los fotones absorbidos acaba produciendo la reacción química [34]. Esto se debe a la inevitable existencia de procesos de recombinación de los portadores de carga (electrón y hueco) antes de conseguir ser transferidos a las especies adsorbidas en la superficie de la partícula. Este fenómeno produce además un efecto colateral que hace que la velocidad de reacción obtenida cuando la intensidad de irradiación es suficientemente elevada no sea proporcional al flujo de radiación incidente, sino a la raíz cuadrada del mismo, ya que al aumentar la concentración de los portadores de carga se favorecen los procesos de recombinación frente a los de transferencia de carga [52].

Esta definición, a veces, no es totalmente operativa en sistemas heterogéneos debido a la dificultad de medir con precisión el flujo de fotones absorbidos por un medio que dispersa la radiación. En estos sistemas suele definirse el parámetro denominado *eficacia fotónica*, que

relaciona la cantidad de producto formado con el flujo de radiación incidente en el reactor, de acuerdo a la ecuación 2.17.

$$Eficacia\ fotónica\ (\xi) = \frac{Moles\ de\ producto\ fotoformado}{Moles\ de\ fotones\ incidentes} \quad (2.17)$$

El método más aceptado para evaluar el flujo de fotones incidentes en un reactor, valor necesario para el cálculo de la eficacia fotónica, es el uso de *disoluciones actinométricas*. Son sistemas fotoquímicos homogéneos de rendimiento cuántico conocido que a partir de la conversión permiten evaluar el número de fotones recibidos [34].

2.4.2. Fotocatalizadores.

De entre los numerosos materiales semiconductores de potencial aplicación en fotocatalisis, en la Figura 2.6 se representan algunos de los más estudiados, indicándose en el diagrama los potenciales normales de reducción de electrón y hueco en disolución acuosa a pH = 0, así como los valores de E_g , la separación energética entre las bandas de valencia y de conducción.

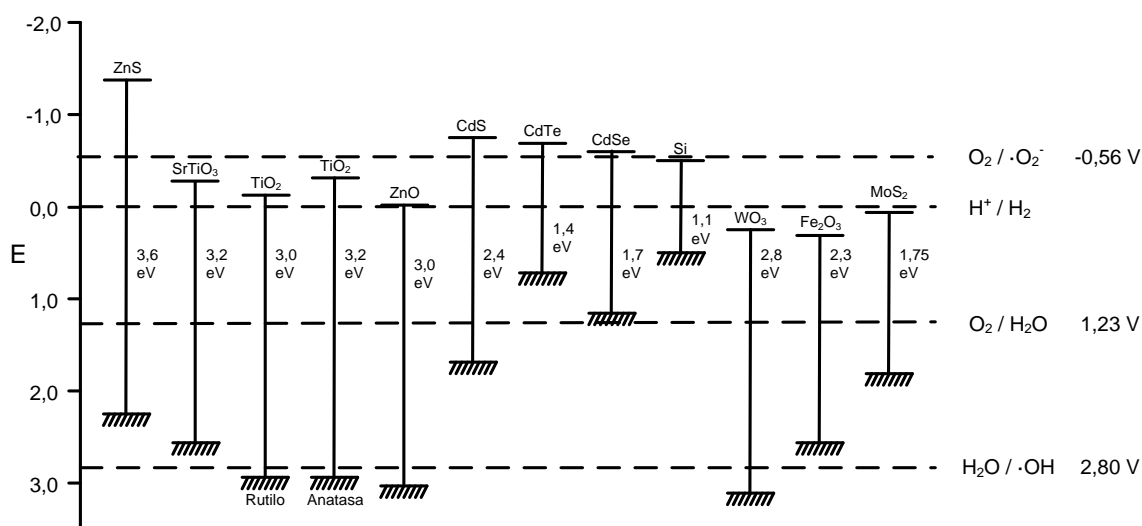


Figura 2.6. Potencial redox de los pares electrón-hueco en diferentes semiconductores [34].

Para su aplicación en los procesos fotocatalíticos, el potencial de reducción del hueco debe ser superior al del ión hidroxilo, permitiendo así la formación del radical hidroxilo, verdadera especie oxidante del contaminante. Por ejemplo, en el caso del TiO₂, el potencial de

reducción del hueco en la banda de valencia a $\text{pH} = 0$ es de 2,9 V mientras que el del radical hidroxilo es de 2,8 V [57]. En cuanto al electrón, cuyo potencial de reducción a $\text{pH} = 0$ es de -0,3 V [57], es capaz de reducir especies de potencial de reducción mayor, pudiendo utilizarse el O_2 como aceptor final, o bien otra especie reducible presente en la fase adsorbida sobre la superficie del catalizador, como en el caso de los cationes metálicos [50]. En caso de la utilización de los semiconductores en suspensión acuosa, los potenciales de oxidación y reducción de hueco y electrón están condicionados por el pH de la disolución, existiendo una disminución de 59 mV por unidad de pH [58] respecto a los valores representados en la Figura 2.6. Este desplazamiento de los potenciales de reducción hacia valores anódicos se produce también en los pares $\text{H}_2\text{O}/\cdot\text{OH}$ y $\text{O}_2/\text{H}_2\text{O}$, por lo que a valores de pH superiores, además de la transferencia de carga a estas especies, se posibilita la formación de radicales superóxido.

Otra de las características que deben presentar los materiales es una estabilidad suficiente en las condiciones de la reacción. Los sulfuros metálicos semiconductores no cumplen los requisitos necesarios de estabilidad, debido a fenómenos de fotocorrosión anódica [48]. En cuanto a los polimorfos de óxidos de hierro, pese a ser baratos y presentar valores adecuados de E_g , no son adecuados porque sufren fenómenos de fotocorrosión catódica [48]. El ZnO es una buena alternativa, aunque presenta inconvenientes debido a su disolución para formar especies de zinc en disolución y $\text{Zn}(\text{OH})_2$ superficial que desactiva el fotocatalizador [59].

El semiconductor más habitualmente utilizado en los procesos de fotocatalisis heterogénea es el dióxido de titanio (TiO_2), producto no tóxico, químicamente muy estable frente a los procesos de corrosión y fotocorrosión, barato y abundante. El TiO_2 es un semiconductor *tipo n* debido a que es termodinámicamente estable como compuesto no estequiométrico con vacantes aniónicas en la red cristalina (TiO_{2-x}). Este déficit de carga negativa se compensa por un número de posiciones equivalentes Ti^{3+} que actúan como donadores de electrones [34]. Sin embargo, el aprovechamiento de la radiación solar por parte del dióxido de titanio esta limitado a la zona del espectro correspondiente a la radiación ultravioleta, lo que representa en torno al 5 % de la radiación solar que alcanza la superficie de la Tierra [34, 60].

2.4.3. Variables del proceso.

Un gran número de parámetros influyen en el proceso fotocatalítico, resultando determinantes en la eficiencia global del proceso. A continuación se mencionan algunos de los más importantes.

Diseño del reactor.

Uno de los parámetros más importantes de diseño son las dimensiones del reactor, que deben facilitar que el máximo número posible de fotones útiles que llegan a dicho reactor sea utilizado, evitando que los fotones salgan sin interceptar las partículas responsables de la absorción de radiación [34].

Masa y características de catalizador.

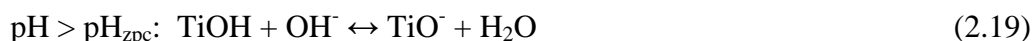
La velocidad inicial de reacción es directamente proporcional a la masa de catalizador (m), sin embargo a partir de un cierto valor de m , la velocidad de reacción se estabiliza y pasa a ser independiente de m . Este límite depende de la geometría del fotorreactor, relacionada con el flujo de radiación comentado posteriormente en este apartado, y corresponde a la máxima cantidad de catalizador en la que toda la radiación es absorbida.

En general, son características ventajosas para un fotocatalizador una alta área superficial, una distribución de tamaño de partícula uniforme, forma esférica de las partículas y ausencia de porosidad interna. La anatasa parece ser la forma cristalina con mejores propiedades fotocatalíticas y esto ha sido atribuido, entre otras razones, a la mayor capacidad de fotoadsorción de la anatasa por oxígeno molecular y sus formas ionizadas y a su baja rapidez relativa de recombinación de pares hueco-electrón. El dióxido de titanio con el nombre comercial de P25 (*Evonik Industries*, anteriormente *Degussa*) es el catalizador no soportado más empleado ya que hasta ahora ha mostrado una mayor efectividad. Sin embargo, posee un área superficial específica baja ($50 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$), las dimensiones de partícula no son uniformes y cerca del 30 % de su estructura cristalina es rutilo [34].

pH.

Normalmente, el proceso de fotocatalisis es más eficiente en medio ácido ($3 \leq \text{pH} \leq 5$). El pH afecta a la carga superficial del catalizador, a la forma química de la especie a degradar y

de las especies en disolución, y esto se manifiesta en alteraciones de la velocidad de reacción. Por ejemplo, el TiO₂ P25 posee un valor de pH en el punto de carga cero (*ZPC*, *zero point of charge*) de 6,5 [34] en el cuál no presenta carga superficial. Para un pH en el medio por debajo de 6,5, el TiO₂ se encuentra cargado positivamente (reacción 2.18), mientras que a valores de pH superiores, se encuentra cargado negativamente (reacción 2.19). Teniendo en cuenta que la superficie celular de las bacterias está cargada negativamente, la interacción TiO₂-bacteria no estaría favorecida a valores de pH superiores al *ZPC*.



Longitud de onda.

Las variaciones en la velocidad de reacción son función del espectro de absorción del catalizador, de forma que éste sólo puede ser excitado cuando la energía de los fotones iguala o supera valor de banda de energía prohibida (E_g). Para el TiO₂, con $E_g = 3,02$ eV, se requieren $\lambda \leq 400$ nm (correspondiente a radiación ultravioleta cercana, UV-A) [34, 52].

Temperatura.

La velocidad de las reacciones fotocatalíticas no se modifica apreciablemente con la variación de la temperatura del sistema. La temperatura óptima se encuentra entre 20 y 80 °C, por lo que no es necesario gastar energía en calentar el agua [34].

Intensidad de radiación.

Este parámetro influye en la velocidad de reacción como se puede observar en la Figura 2.7. El cambio de un orden parcial de 1 a 0,5 significa que la recombinación de e^- y h^+ comienza a limitar el aprovechamiento de los fotones disponibles, y el cambio a un orden cero indica que el sustrato no puede generar más pares aunque aumente la intensidad de la radiación.

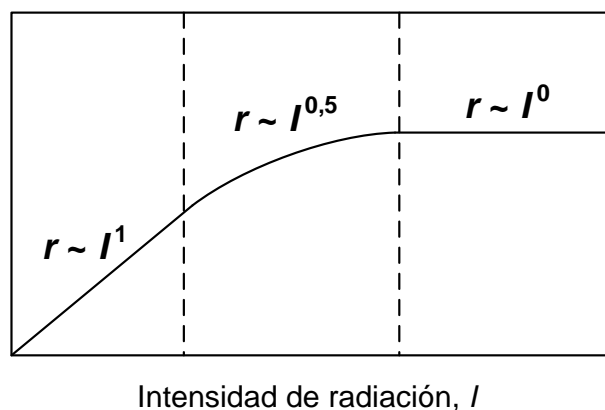


Figura 2.7. Dependencia de la velocidad de reacción con la intensidad de iluminación [34].

Aditivos.

Determinadas sustancias pueden inhibir o acelerar la velocidad de reacción. La inhibición se relaciona con la adsorción de iones inorgánicos sobre el catalizador, que compiten con la adsorción del contaminante, especialmente cuando favorezcan la recombinación de pares e^- - h^+ . Por otra parte, los agentes oxidantes son imprescindibles para la degradación del contaminante, ya que participan en la reacción de oxidación. El oxígeno es el oxidante más empleado por ser el más barato y no competir con el sustrato en el proceso de adsorción [34].

Naturaleza y concentración inicial de los reactivos.

Una de las ecuaciones más sencillas y usadas para describir la cinética del proceso fotocatalítico es la de Langmuir-Hinshelwood [34]:

$$\frac{dC_A}{dt} = -\frac{k \cdot K_A \cdot C_A}{1 + K_A \cdot C_A} \quad (2.20)$$

Esta ecuación modela un mecanismo de reacción en el que tiene lugar una etapa de adsorción y una reacción superficial cinéticamente equiparables. Es una función implícita de la concentración y representa una transición gradual desde un comportamiento de primer orden a otro de orden cero al aumentar la concentración de reactivo (C_A). Los factores discutidos anteriormente influyen sobre los valores de k (constante cinética de la reacción) y K_A (constante de equilibrio de adsorción), que son también muy sensibles a la naturaleza del contaminante.

La reacción puede hacerse más compleja debido a la existencia de uno o varios compuestos intermedios (i), que provocan una disminución de la velocidad de desaparición del reactivo, donde la suma del denominador corresponde a todos los compuestos intermedios que aparezcan en el proceso:

$$\frac{dC_A}{dt} = - \frac{k \cdot K_A \cdot C_A}{1 + K_A \cdot C_A + \sum K_i \cdot C_i} \quad (2.21)$$

En cualquier caso estos modelos cinéticos constituyen una importante simplificación del proceso, ya que no contemplan de forma explícita el efecto de la absorción de radiación por parte del catalizador.

2.4.4. Sistemas fotocatalíticos inmovilizados.

La forma más habitual de utilizar el dióxido de titanio en los procesos fotocatalíticos es en forma de suspensión debido a dos ventajas fundamentales:

- i) El aprovechamiento de la radiación incidente es máximo.
- ii) Se minimizan las posibles limitaciones del transporte de materia en el reactor.

Puesto que la transferencia de carga en los procesos fotocatalíticos tiene lugar en la interfase sólido-fluido, la superficie específica del catalizador condiciona en gran medida la actividad del mismo. Teniendo en cuenta que los materiales comerciales de TiO_2 no suelen presentar estructura porosa, para maximizar la actividad es necesario utilizar tamaños de partícula muy pequeños que ofrezcan una elevada superficie externa. Por otra parte, también interesa trabajar con partículas de tamaño reducido desde el punto de vista de la absorción de radiación. Si tomamos un valor aproximado de $\alpha = 5 \cdot 10^3 \text{ cm}^{-1}$ para el coeficiente volumétrico de absorción del TiO_2 [61, 62], un cálculo rápido indica que el 90 % de la radiación se absorbe en la franja de $2 \mu\text{m}$ más cercana a la superficie irradiada del semiconductor, por lo que partículas a una distancia superior presentarían zonas de semiconductor no iluminadas. Finalmente, la distancia media que los huecos fotogenerados pueden difundir en ausencia de un campo eléctrico sin que se produzca la recombinación con un electrón (*Minority Carrier Length*, L_P) para el TiO_2 es aproximadamente de $0,1 \mu\text{m}$ [63-65]. Esto significa que los portadores de carga generados a una distancia de la superficie superior a ese valor no tendrán éxito en el proceso de transferencia de carga superficial,

reduciendo el rendimiento cuántico del proceso. Por lo tanto, desde este punto de vista, también interesa trabajar con partículas de semiconductor de muy pequeño tamaño.

El inconveniente de trabajar con suspensiones de partículas de tamaño reducido es que incrementan enormemente los costes de separación del catalizador una vez finalizada la reacción. Por este motivo, en los últimos años se han dedicado muchos esfuerzos al desarrollo de fotocatalizadores soportados que faciliten el proceso de recuperación del mismo, manteniendo en la medida de lo posible una elevada actividad fotocatalítica [66]. La utilización de catalizadores inmovilizados implica, sin embargo, tres problemas fundamentales:

- i) Posible existencia de limitaciones difusionales: el posible control difusional del transporte de materia en la fase fluida puede eliminarse mediante un diseño adecuado del reactor fotocatalítico [65]. Sin embargo, esto no permite descartar la posible existencia de problemas de difusión interna en el caso de utilizar soportes porosos [67].
- ii) Problemas en la eficiencia de absorción de luz por una película de TiO_2 : el espesor de la capa de semiconductor es crítico. Un espesor muy grande (superior a L_P) haría que los huecos generados en las zonas más profundas no alcanzasen la superficie. Por el contrario, un espesor muy pequeño haría que gran parte de la radiación incidente no fuese absorbida. En ambos casos, el rendimiento cuántico se vería directamente afectado [65].
- iii) Elevado número de requisitos que deben presentar los soportes para la preparación de fotocatalizadores inmovilizados: La configuración del soporte debe garantizar simultáneamente una buena iluminación del catalizador y unas condiciones fluidodinámicas adecuadas para que no exista control difusional, todo ello manteniendo una pérdida de carga reducida y una estabilidad adecuada en las condiciones de reacción. Además, el soporte no debe reaccionar con el medio de reacción pero debe conseguir una muy buena adherencia con el TiO_2 y la interacción del soporte con el catalizador debe producir una disminución mínima de la actividad del catalizador. Asimismo, la estabilidad de la película de catalizador debe ser adecuada para mantener su actividad después de procesar volúmenes importantes de fluido contaminado, asegurando que no tienen lugar fenómenos prematuros de envenenamiento del catalizador. También deben ser transparentes a la radiación ultravioleta, ofrecer una

elevada área superficial específica, tener buenas propiedades como adsorbentes de las sustancias a degradar, presentar una configuración física que facilite la separación del sólido tras el proceso y permitir un diseño del reactor que facilite el transporte de los contaminantes [34].

Como consecuencia de estos problemas, la utilización de fotocatalizadores inmovilizados habitualmente conduce a resultados menos eficientes que la utilización de suspensiones de partículas de pequeño tamaño. A pesar de ello, la necesidad de eliminar los costes de post-tratamiento para el caso de catalizadores en suspensión, hace fundamental la continuación de líneas de investigación en la aplicación y mejora de catalizadores inmovilizados para su aplicación comercial [52].

2.4.5. Electrodo fotocatalítico: Procesos fotoelectrocatalíticos.

Un tipo especial de fotocatalizadores inmovilizados son aquellos donde el soporte es un material conductor, constituyendo un electrodo sobre el que es posible aplicar una pequeña diferencia de potencial eléctrico. Los electrodos fotocatalíticos, además de ser sistemas inmovilizados con las ventajas que ello supone, posibilitan la mejora del rendimiento cuántico del proceso, como se explicará posteriormente.

En un proceso fotocatalítico, cada partícula de TiO_2 puede pensarse como una celda electroquímica a escala atómica. Un electrodo, el cátodo, es el sitio donde un electrón fotogenerado es atrapado en la superficie (como Ti^{3+}) y posteriormente transferido a un aceptor de electrones. El otro electrodo es el sitio donde el hueco atrapado (como radical $\cdot\text{OH}$) es transferido a un aceptor de huecos (o dador de electrones). Cuando los portadores de carga atrapados en la superficie no son rápidamente transferidos a especies en solución o adsorbidas, puede producirse la recombinación superficial de ambos reduciendo el rendimiento cuántico del proceso. Debido al equilibrio de cargas, en estado estacionario, la velocidad de oxidación por huecos es igual a la de reducción por electrones. Si el aceptor de electrones, habitualmente O_2 , no se reduce a una velocidad apreciable, los electrones se acumulan en el semiconductor y aumenta la recombinación hasta que la suma de las velocidades de recombinación y transferencia de electrones iguala la velocidad de fotogeneración de cargas. La oxidación fotocatalítica de materia orgánica aprovecha la aceleración de la semirreacción de oxidación, en la que participan los huecos fotogenerados.

En cambio, sobre la superficie de dióxido de titanio, la reacción catódica en la que se deben intercambiar electrones con la superficie, es relativamente lenta.

Usando la terminología electroquímica, esa semirreacción tiene un sobrepotencial elevado o, lo que es lo mismo, tiene una alta energía de activación [34]. Esto se debe, entre otros motivos, al propio potencial que se establece en la interfaz semiconductor *tipo n*-electrolito y que hace que los electrones tengan que vencer una barrera adicional para alcanzar la superficie. En cambio, algunas superficies metálicas son buenos catalizadores de estos procesos de intercambio de electrones, como por ejemplo el platino. En otras palabras, la fotocatalisis es muy adecuada para la reacción anódica y la electrocatalisis para la catódica. La separación espacial de los portadores de carga mediante la aplicación de un campo eléctrico externo entre un electrodo de TiO_2 y otro de platino permite por lo tanto que la reacción de reducción, que normalmente limita la cinética del proceso global [68], ocurra con una energía de activación menor (o en términos electroquímicos, con un menor sobrepotencial) y por lo tanto la velocidad global del proceso de fotooxidación aumenta.

Un proceso fotoelectrocatalítico busca combinar las ventajas de la fotocatalisis y de la electrocatalisis, usando un semiconductor iluminado como ánodo y un electrodo apropiado como cátodo, para acelerar ambas semirreacciones. El potencial eléctrico aplicado además inhibe la recombinación de los portadores de carga, que se concentran en dos electrodos distintos, permitiendo aumentar el rendimiento cuántico en el aprovechamiento de la radiación incidente [65]. El electrodo de TiO_2 requiere que exista un buen contacto eléctrico, preferentemente óhmico, entre el semiconductor y el metal. Al iluminar el electrodo, se genera un flujo adicional de electrones a través del circuito externo, o fotocorriente, debido al incremento en la concentración de electrones en la banda de conducción. Estos conceptos se representan de forma esquemática en la Figura 2.8. En definitiva, el principal objetivo de la fotoelectrocatalisis es proveer de un camino de menor energía de activación para la transferencia de carga a través de la interfaz semiconductor-electrolito y, en cierto modo, se busca minimizar la disipación de la energía de excitación y de recuperar la máxima energía eléctrica o química. En la práctica, este objetivo requiere que la transferencia de huecos a través de la interfaz sea efectiva, que el transporte de electrones a través del semiconductor sea rápido y que los contactos semiconductor-metal y semiconductor-electrolito no impongan barreras adicionales de energía.

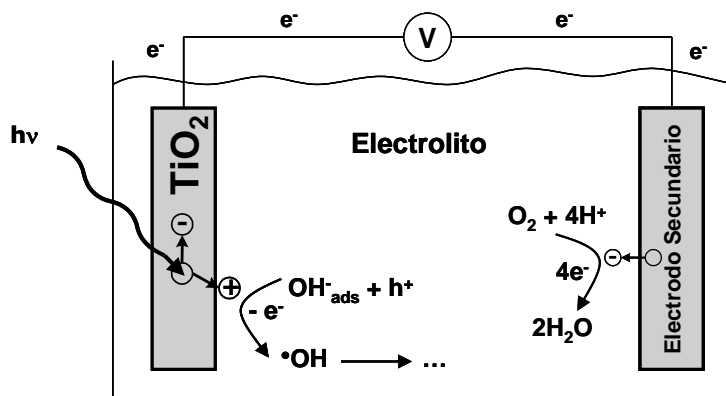


Figura 2.8. Esquema simplificado del funcionamiento de una celda fotoelectrocatalítica [34].

Elementos de una celda fotoelectrocatalítica.

Como el paso de corriente por el circuito modifica el potencial de cada uno de los electrodos, un dispositivo utilizado para el estudio de estos procesos es una celda fotoelectrocatalítica, representada en la Figura 2.9. En una celda con 3 electrodos (electrodo de trabajo, ET o fotoánodo, contraelectrodo, CE, y electrodo de referencia, ER) se mantiene fijo el potencial del ET con respecto a ER y circula corriente entre ET y CE. El control del potencial se realiza mediante un potencióstato que contiene una fuente y un circuito de realimentación que da la lectura de corriente.

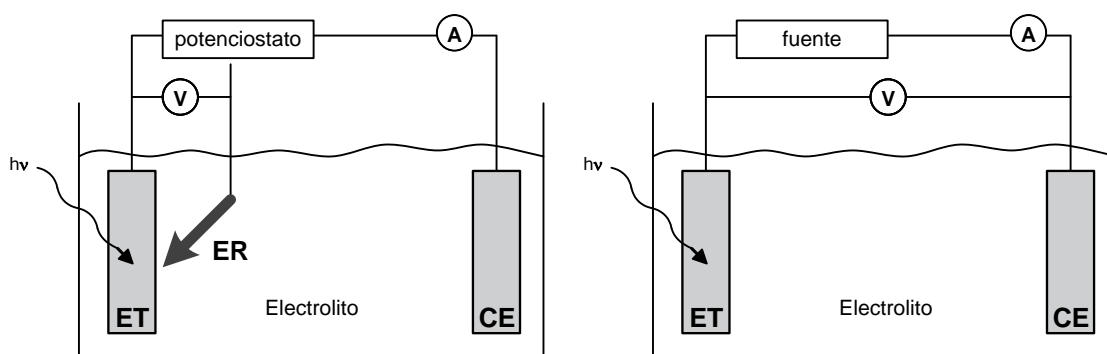


Figura 2.9. Circuito con celda de tres (izquierda) y dos electrodos (derecha) [34].

En general, el potencial aplicado no supera los 2 V (medidos contra electrodo de calomel saturado, ECS). El uso de potenciales más positivos no mejora la separación hueco-electrón y puede dar origen a reacciones secundarias puramente electroquímicas. En general se escoge el

modo potenciostático, con sistemas de tres electrodos (Figura 2.9 izquierda), aunque en ciertos casos no se encuentran grandes diferencias con una celda de dos electrodos (Figura 2.9 derecha). El electrodo de referencia debe mantener un potencial fijo que no varíe durante el experimento, siendo los más utilizados el electrodo de calomel saturado ($\text{Hg}/\text{Hg}_2\text{Cl}_2$), el de mercurio/sulfato mercúrico ($\text{Hg}/\text{Hg}_2\text{SO}_4$), el de mercurio/óxido de mercurio (Hg/HgO) y por último, el de plata/cloruro de plata (Ag/AgCl).

En cuanto al electrodo de trabajo, se usan electrodos de películas delgadas (espesor $< 1 \mu\text{m}$) soportadas sobre sustratos conductores para reducir la resistencia a la corriente eléctrica. Además, el fotoánodo debe ser resistente a la corrosión y a la abrasión producida por el líquido. El tipo de soporte depende de la geometría de la celda y de la iluminación. Los soportes más comunes son vidrios conductores, consistentes en una película de SnO_2 dopada con indio (III) o con fluoruro, o metales como titanio, acero inoxidable, aluminio, platino y oro. El TiO_2 depositado sobre acero tiene actividad fotocatalítica, aunque menor que la de depósitos sobre vidrio o vidrio conductor [34, 71]. La oxidación del soporte puede constituir un problema serio. En el caso del acero, se ha observado la oxidación de dicho metal durante los procesos fotoelectrocatalíticos puesto que el carácter microporoso de las películas no evita el contacto del soporte con la solución a tratar. El titanio resulta un buen soporte para aplicaciones fotoelectrocatalíticas por tratarse de un metal resistente a la corrosión electroquímica [34]. La película de TiO_2 se prepara ya sea por recubrimiento por inmersión (*dip-coating*) o recubrimiento mediante giro (*spin-coating*) a partir de suspensiones, por el método sol-gel, por calcinación de soportes de titanio, anodización, deposición electroforética o por métodos en fase vapor como evaporación, deposición química o por bombardeo (*sputtering*) [34]. La temperatura máxima de calentamiento, para evitar la degradación del recubrimiento conductor, es próxima a los $600 \text{ }^\circ\text{C}$ [34, 71].

Los CE más empleados se construyen en platino que es un excelente catalizador para la reducción de O_2 . También se han obtenido buenos resultados con carbón vítreo y se ha propuesto el uso de cátodos de acero inoxidable [34]. Además, deben tener una mayor área que el ET para que la reacción de reducción en la que interviene no limite la reacción de oxidación del ET.

Para alcanzar una iluminación homogénea del fotoánodo, la localización de los electrodos debe tener en cuenta no solo la distribución del campo eléctrico, sino también la posición de la fuente de radiación, de forma tal que evite (o disminuya al mínimo posible) efectos de pantalla entre los electrodos. Para ello, el CE se coloca en un compartimento separado en algunos reactores discontinuos, o emplean como ventana un CE transparente (vidrio conductor o vidrio conductor platinizado); en este caso, es imposible evitar una pérdida de intensidad de iluminación. También se puede usar un fotoelectrodo transparente (TiO_2 soportado sobre vidrio conductor) como ventana; en este caso debe compatibilizarse la integridad a largo plazo de la película de TiO_2 con un espesor adecuadamente delgado, que permita que la luz llegue a la superficie.

En cuanto al electrolito, éste debe presentar cierta conductividad para neutralizar la carga positiva que se desarrolla alrededor del ánodo y la carga negativa alrededor del cátodo y que las reacciones puedan continuar, además de reducir la resistencia entre el ET y CE. Se deben usar electrolitos de sales inertes que no intervengan en las reacciones de fotodegradación de los compuestos, así como concentraciones que no reduzcan la actividad fotoelectrocatalítica [72].

No existen muchos trabajos que profundicen en el diseño de reactores fotoelectrocatalíticos, aunque los existentes apuntan a la utilización de configuraciones anulares donde los electrodos, conformados de forma cilíndrica, se sitúan en posiciones concéntricas dentro del reactor [73, 74].

Polarización de la interfaz semiconductor-electrolito.

Cuando un electrodo semiconductor está polarizado con respecto a un electrodo de referencia, el sistema se aleja de la condición de equilibrio descrita en el apartado 2.4.1. El nivel de Fermi del semiconductor se mueve con respecto al potencial electroquímico de la solución y cambia la carga en la superficie [75]. Puesto que la posición energética de las bandas de valencia y de conducción en la superficie de los óxidos metálicos semiconductores en medios acuosos está fijada por un equilibrio ácido-base, mover el nivel de Fermi del sólido con respecto al de la solución implica modificar el doblado de las bandas con respecto a la posición de equilibrio (Figura 2.10.a).

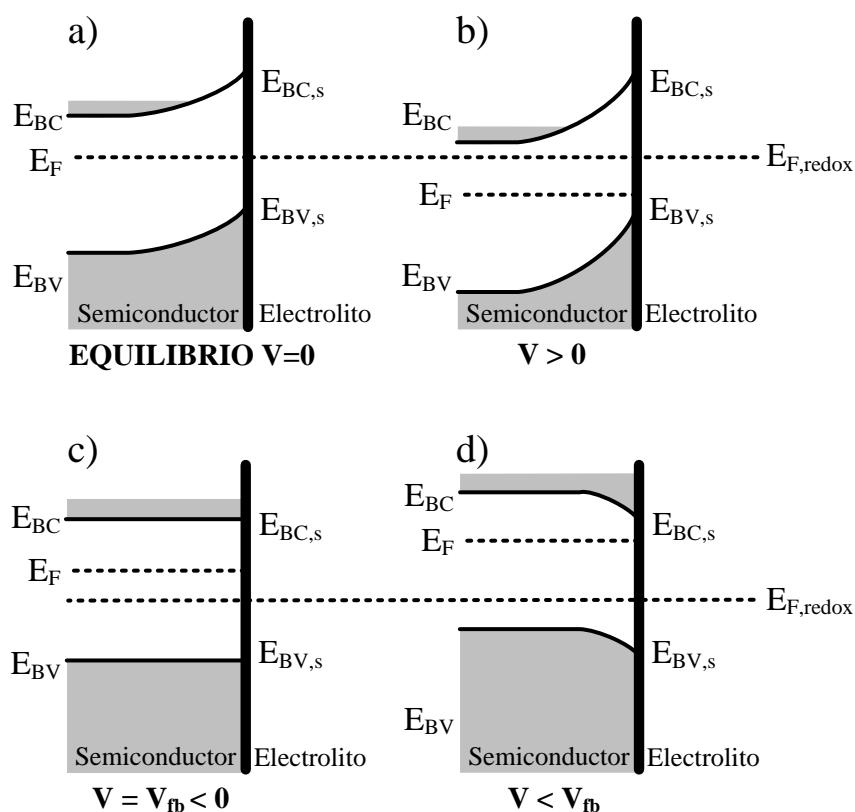


Figura 2.10. Interfaz semiconductor *tipo n*-electrolito polarizada con respecto a un electrodo de referencia: a) Polarización nula; b) Potencial positivo; c) Potencial de banda plana; d) Potencial más negativo que el potencial de banda plana [34].

Para un semiconductor *tipo n*, cuando el potencial aplicado es tal que no hay diferencia de potencial entre el seno del material y la superficie, desaparece el doblado de las bandas (Figura 2.10.c). Esta condición corresponde a un único potencial para cada sistema, llamado *potencial de banda plana* (*Flat Band Potential*, V_{fb}). A medida que el potencial aplicado es más positivo que el V_{fb} , disminuye la energía del nivel de Fermi (E_F), la superficie adquiere una mayor carga positiva y en consecuencia, aumenta la extensión de la región de agotamiento o región espacial de carga (Figura 2.10.b). Dado que para un determinado semiconductor el potencial de la superficie en equilibrio depende sólo del nivel de Fermi de la solución, V_{fb} es función de la composición del electrolito y, en particular para óxidos, del pH de la solución [76]. Finalmente, si el potencial es más negativo que V_{fb} , se forma una región de acumulación, con un exceso de electrones en la superficie con respecto al seno del material (Figura 2.10.d). Cuando se produce una región de acumulación, el comportamiento del electrodo semiconductor es similar a un electrodo metálico, ya que hay un exceso de

portadores de carga mayoritarios (electrones) disponibles para la transferencia de carga. Por el contrario, si existe una región de agotamiento, sólo unos pocos portadores de carga están disponibles para la transferencia de carga, y en caso de que ocurran, las reacciones de transferencia de electrones ocurren lentamente [34, 54].

Cuando el electrodo se ilumina con radiación de suficiente energía, los electrones pueden ser promovidos a la banda de conducción. Como se explicó en el apartado 2.4.1, si el proceso ocurre en el interior del semiconductor, se produce la recombinación del electrón y el hueco junto con la producción de calor. Sin embargo, si este proceso ocurre en la región de carga espacial, la aplicación de un campo eléctrico superior al potencial de banda plana sobre un semiconductor *tipo n* (es decir, el caso representado en la (Figura 2.10.b) en esta región dará lugar a la separación de cargas, de forma que los huecos se desplazan hacia la superficie del semiconductor, acumulándose en la interfaz semiconductor-electrolito y los electrones se desplazan hacia el interior del semiconductor hasta el soporte conductor donde son transferidos al cátodo por el circuito externo. Con ello se potencia aún más la fuerza electromotriz que promueve la separación de las cargas (*Electric Field Enhancement, EFE* [65]).

En el caso de electrodos semiconductores *tipo n*, como es el TiO_2 también se les conoce como fotoánodos. La aplicación de un potencial eléctrico positivo en una película de TiO_2 genera un campo eléctrico que da lugar a un gradiente de potencial a lo largo de la región de agotamiento de profundidad, W , como se muestra en la Figura 2.11. El campo eléctrico depende del nivel de impurezas o vacantes donadoras de cada semiconductor *tipo n* así como por el aumento del potencial eléctrico. La presencia de este campo eléctrico facilita el proceso de separación de carga, de forma que este efecto *EFE* se representa en la Figura 2.11. La máxima profundidad de penetración de la luz incidente en el TiO_2 es $1/\alpha$, dónde α es el coeficiente de absorción del TiO_2 según la longitud de onda de radiación incidente. Los huecos generados en la región de agotamiento (W) serán transportados eficientemente hacia la superficie, mientras que los huecos generados a mayor profundidad, entre W y $(W + Lp)$, pueden difundir por la región de agotamiento y sufrir un transporte efectivo hacia la superficie. La absorción de radiación a profundidades mayores de $(W + Lp)$ resultarán en la recombinación de cargas. Los electrones de la banda de conducción son retirados del semiconductor, migrando hacia el contraelectrodo donde tiene lugar la reducción de oxígeno,

evitando la acumulación de los electrones en la superficie del semiconductor. Niveles de impurezas dentro de la capa de $\text{TiO}_2 \geq 10^{17} \text{ cm}^{-3}$, electrolitos de cierta conductividad y la aplicación de diferencias de potencial eléctrico de 1 V sería suficiente para generar un campo eléctrico interno suficiente para separar los huecos y electrones generados al iluminar el semiconductor eficientemente [65].

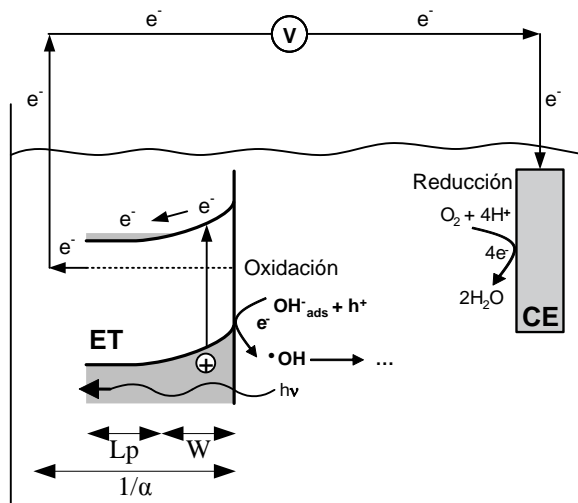


Figura 2.11. Transferencia de carga en un semiconductor *tipo n* en una solución acuosa bajo iluminación al aplicar una diferencia de potencial eléctrico externo positivo [65].

El comportamiento ideal de un semiconductor *tipo n* en oscuridad (a) y bajo radiación (b) se muestra en la Figura 2.12. La transferencia de electrones a través del circuito externo genera una corriente, I . No existe corriente ni en oscuridad ni bajo radiación para el potencial de banda plana (V_{fb}) (Región II). Para potenciales negativos respecto al potencial de banda plana (Región I) existe una región de acumulación, en la que el electrodo actúa como un cátodo, tanto en oscuridad como bajo radiación, generando una corriente catódica ($I_{catódica}$). Para potenciales positivos respecto al potencial de banda plana, se produce una región de agotamiento, de forma que no existirá corriente de oxidación en la oscuridad pero sí se producirá un aumento exponencial de la corriente ($I_{anódica}$) a partir de V_{fb} al iluminar el TiO_2 hasta alcanzar un valor de corriente estable proporcional al flujo fotónico [54, 56]. Se denomina fotocorriente (*photocurrent*, I_{ph}) a la diferencia de corriente registrada al iluminar el fotoánodo y en oscuridad. La fotocorriente puede proveer una medida de la velocidad de reacción de un compuesto ya que por cada hueco que se transfiere a la superficie del semiconductor circula un electrón por el circuito externo. Sin embargo, el punto controvertido es la relación entre la fotocorriente y la velocidad de fotodegradación de un compuesto ya que

hay que tener en cuenta que algunos intermedios pueden inyectar electrones en la banda de conducción o los huecos podrían reaccionar con especies adsorbidas o presentes en la solución distintas al compuesto objetivo, conllevando un incremento en la fotocorriente. Por el contrario, los procesos de recombinación conllevan una disminución de fotocorriente [34].

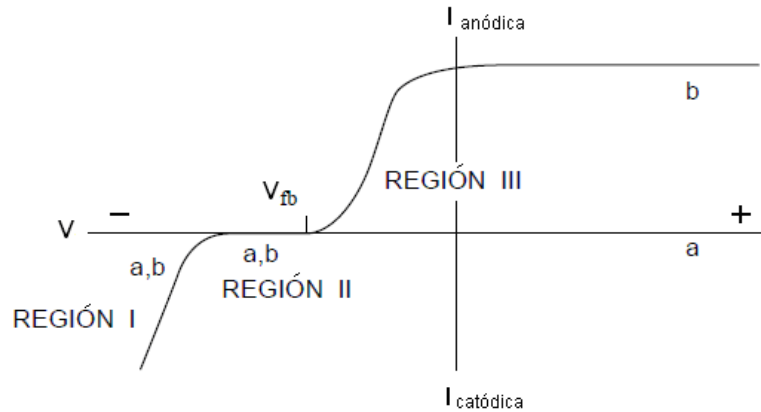


Figura 2.12. Dependencia típica de la intensidad de corriente (I) en función del potencial eléctrico aplicado (V) de un semiconductor *tipo n* en oscuridad (a) y bajo radiación (b) [54].

Rendimiento fotoelectroquímico.

El rendimiento de los procesos fotoelectrocatalíticos se basa habitualmente en la medición de la eficiencia en la conversión a fotocorriente de los fotones incidentes (*Incident monochromatic Photon-to-current Conversion Efficiency*, IPCE). La IPCE se define como el número de electrones generados en el circuito externo divididos por el número de fotones incidentes, siendo un valor fuertemente dependiente de la longitud de onda de irradiación. Su valor puede calcularse fácilmente a partir de la fotocorriente medida mediante la siguiente ecuación [34, 77]:

$$IPCE_{\lambda} = 1240 \cdot \frac{\text{Densidad de fotocorriente (A cm}^{-2}\text{)}}{\text{Longitud de onda (nm)} \cdot \text{Flujo fotónico (W cm}^{-2}\text{)}} \quad (2.22)$$

El valor de IPCE de un fotoánodo permite evaluar indirectamente la capacidad de oxidación fotocatalítica, vinculada con la cantidad de huecos que se generan en el semiconductor por cada fotón de energía $h\nu > E_g$ que llega a la superficie. Sin embargo, la cantidad de huecos fotogenerados es proporcional a la eficiencia fotocatalítica, solamente si éstos tienen la misma energía oxidativa (la posición de la banda de valencia en la que se

encuentran los fotohuecos), y si no hay limitaciones en el transporte de masa en el electrolito. Por lo tanto, para completar el estudio de la eficiencia fotocatalítica del semiconductor, es necesario por cuantificar la degradación de un contaminante en particular en función de la longitud de onda y compararla con la IPCE.

En base a lo expuesto, la aplicación de los procesos fotoelectrocatalíticos permite solucionar dos de los principales inconvenientes de las tecnologías fotocatalíticas que utilizan dióxido de titanio en suspensión:

- i) La utilización del catalizador inmovilizado en el electrodo evita la necesidad de una etapa posterior de separación del mismo.
- ii) La aplicación de un pequeño potencial sobre el electrodo de TiO_2 mejora el bajo rendimiento cuántico al aumentar la separación de cargas, incrementando el aprovechamiento de la radiación y mejorando por tanto la eficacia de la reacción de oxidación.

Desde que en 1972, Fujishima y Honda [40] demostraran por primera vez que la luz del sol podía ser usada para dar lugar a la fotoelectrolisis del agua usando un fotoánodo de dióxido de titanio y platino como contraelectrodo, un elevado número de trabajos han sido publicados no sólo en este campo o con aplicaciones fotovoltaicas [78], sino también en el tratamiento fotocatalítico de aguas. Vinodgopal y col., [79] y Kim y Anderson, [80] fueron los primeros en utilizar electrodos fotocatalíticos para la oxidación de compuestos orgánicos en aguas, y desde entonces varios trabajos han mostrado un aumento en la eficiencia del proceso fotocatalítico para la degradación de compuestos orgánicos [81-84].

2.5. Desinfección de aguas con procesos fotocatalíticos: Estado del arte.

La primera referencia relativa a la aplicación de los procesos fotocatalíticos para la desinfección de agua se debe a Matsunaga y col. en 1985 [85]. Desde entonces, la investigación se ha centrado fundamentalmente en el trabajo con bacterias [38, 86-100], aunque existen algunos trabajos relativos a virus [101], hongos [102], protozoos [103] e incluso células tumorales [104]. La mayor parte de los estudios con bacterias se han llevado a cabo sobre cultivos de laboratorio, siendo *Escherichia coli*, con diferencia, el organismo más

estudiado. Sin embargo, también se han llevado a cabo algunos estudios sobre la inactivación de microorganismos más resistentes, fundamentalmente bacterias Gram-positivas como *Enterobacter cloacae* [105], especies formados del esporas del género *Bacillus* [106] y comunidades bacterianas presentes en aguas residuales [106, 107]. Asimismo, se han publicado trabajos relativos a la interacción entre *E.coli* y la materia orgánica precursora de los DBP (*Disinfection By-Products*) durante el tratamiento con TiO_2 [108] así como de la aplicación de la energía solar a los procesos fotocatalíticos de desinfección a escala de planta piloto [109, 110].

No existen en la bibliografía muchas referencias respecto al mecanismo de desinfección. Matsugana y col. [85] propusieron que los huecos fotogenerados en el catalizador eran reducidos por transferencia de un electrón desde la coenzima A de la pared celular. Este proceso produciría la inhibición de su actividad respiratoria produciendo la muerte de la célula. Posteriores trabajos [94-96] propusieron que las ROS eran responsables del ataque a los lipopolisacáridos constituyentes de la membrana celular, provocando la lisis celular. Más recientemente, Sunada y col. [111], mediante la monitorización del cambio en la concentración de los constituyentes de la pared celular externa utilizando un microscopio de fuerza atómica, confirmaron que el ataque se producía por descomposición de la misma. Estos autores propusieron que la reacción de inactivación de *E.coli* tenía lugar a través de un mecanismo de dos etapas. En la primera de ellas, se produce la descomposición parcial de la membrana por ataque de las ROS producidas por el mecanismo fotocatalítico. Esto produciría un cambio en la permeabilidad de la membrana externa permitiendo que a las ROS alcanzar la membrana citoplasmática. En una segunda etapa la membrana citoplasmática es atacada produciéndose la lisis celular (Figura 2.13). Posteriormente, Cho y col. [38] observaron una relación lineal entre la concentración de radicales hidroxilo y la tasa de inactivación de *E.coli*, indicando que los radicales hidroxilo son la principal especie oxidante responsable de la inactivación fotocatalítica de la bacteria. Por tanto, el mecanismo de desinfección de los procesos fotocatalíticos más aceptado se basa en la generación de especies altamente reactivas que tras varios ataques sucesivos sobre la pared celular de la bacteria producen daños irreparables sobre los microorganismos o lisis celular. Estas especies reactivas oxigenadas (*reactive oxygen species*, ROS) son capaces de producir daños en las estructuras funcionales de las células de los microorganismos, aunque el mecanismo de actuación todavía es objeto de debate.

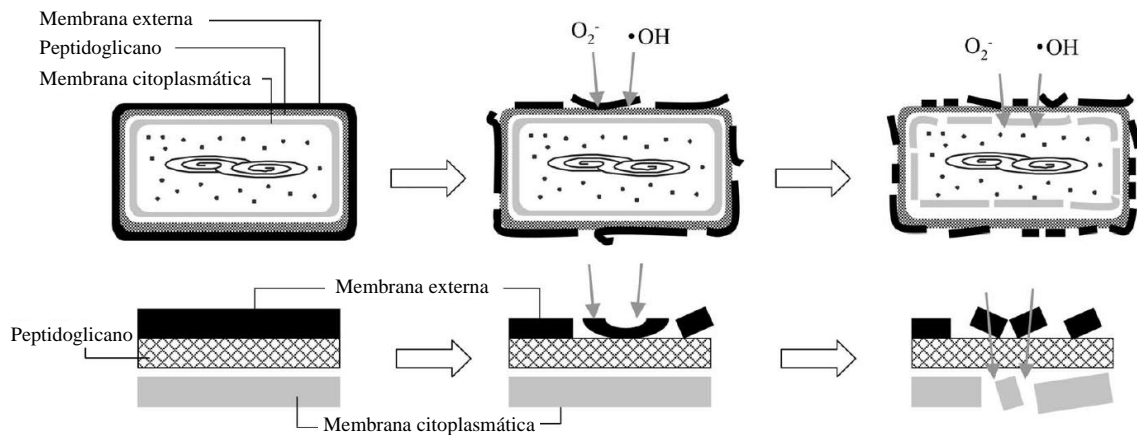


Figura 2.13. Mecanismo de inactivación fotocatalítica bacteriana en dos etapas [111].

Puesto que la mayor parte de estas especies se encuentran adsorbidas sobre la superficie del catalizador y no difunden a la fase acuosa, el contacto físico entre el microorganismo y el catalizador es absolutamente necesario [112-114]. En el caso de utilizar catalizadores en suspensión de pequeño tamaño existe incluso la posibilidad de que algunas partículas de catalizador entren dentro de la célula por un mecanismo de fagocitosis, pudiendo producirse la reacción en el interior de la misma [104]. No en vano hay que señalar que el tamaño de las células microbianas es $> 1 \mu m$, valor muy superior al tamaño correspondiente a las partículas y aglomerados de TiO_2 habitualmente utilizados. Por lo tanto, a diferencia de los procesos de oxidación de contaminantes, donde las moléculas orgánicas se adsorben sobre la superficie del catalizador, en los procesos de desinfección en suspensiones de TiO_2 son las partículas de semiconductor las que se fijan a la pared celular del microorganismo (Figura 2.14).

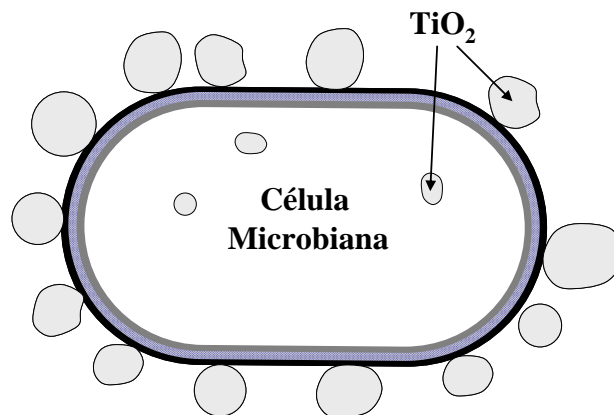


Figura 2.14. Diagrama del proceso fotocatalítico con microorganismos [60].

Además de estudios relacionados con el mecanismo fotocatalítico de inactivación bacteriana, se ha investigado en profundidad la influencia de las principales variables del proceso fotocatalítico en la inactivación bacteriana como son la potencia de irradiación [60, 97, 114-119], concentración de catalizador [60, 97, 112,117-119], y concentración inicial de bacteria [60, 100, 113, 115, 121-124]. Otros grupos también se han centrado en el estudio del proceso de inactivación en matrices acuosas de diferente composición [60, 98, 112, 115, 119, 125-127] ya que la influencia de las sales y materia orgánica presente en el agua debe ser tomada en cuenta debido a la baja selectividad de los radicales hidroxilos. La mayor parte de los resultados apuntan a un efecto negativo en la eficacia del proceso como consecuencia de la presencia de especies en el agua, al actuar éstas como atrapadores de radicales hidroxilo. Sin embargo, existe cierta controversia en el efecto de determinadas especies inorgánicas (Fe, Al, HCO_3^-) y materia orgánica para las que se ha observado un efecto positivo (al actuar como fotosensibilizadores y generar ROS adicionales) o como el cloro (para el que se ha observado un efecto positivo o negativo en función de su concentración) [98, 125]. Otros grupos [128, 129] han señalado la influencia de la composición química del agua en la adhesión entre la bacteria y el catalizador, requiriendo por tanto un estudio en profundidad de este aspecto en el proceso de inactivación bacteriano. Además, las diferencias experimentales tanto en composición química como compuestos presentes en las suspensiones utilizadas hace difícil la comparación de resultados, siendo los trabajos de aplicación del proceso fotocatalítico de inactivación en aguas residuales de salida de una depuradora bastante escasos [124, 125, 130].

Aunque como se ha expuesto anteriormente, numerosos estudios han demostrado la eficacia de la fotocatálisis heterogénea para la inactivación de una gran diversidad de microorganismos en diferentes tipos de agua, aún existen aspectos que no han sido muy estudiados pero serían determinantes en la eficacia del proceso fotocatalítico de inactivación bacteriana. Ejemplo de ello es el desconocimiento parcial existente sobre la cinética de desinfección, ya que la mayor parte de los trabajos simplifican la tasa de inactivación bacteriana a un ajuste sencillo basado en la Ley de Chick-Watson [112, 119]. Este modelo establece una relación logarítmica de la concentración de bacterias viables con el tiempo según un proceso de primer orden. En cambio, muchos de los trabajos existentes en la bibliografía muestran perfiles cinéticos de inactivación más complejos, con retardos iniciales y/o deceleración para tiempos de irradiación elevados, lo que pone de manifiesto la necesidad de modelos cinéticos más complejos con mayor número de parámetros.

Tampoco se han considerado las posibles diferencias en la respuesta fotocatalítica entre microorganismos y compuestos químicos ante similares parámetros del proceso. De hecho, Chen y col. [118] establecieron la posibilidad de evaluar el efecto de inactivación microbiana extrapolando los resultados de oxidación fotocatalítica de los compuestos químicos, más fácil de medir cuantitativamente. Por el contrario, Guillard y col. [131] han señalado la existencia de diferencias entre la oxidación fotocatalítica de compuestos químicos y la inactivación bacteriana puesto que los microorganismos son varios órdenes de magnitud más grandes que las moléculas. Numerosos grupos [60, 121, 132] han destacado el estrés osmótico al que se ven sometidos los microorganismos en agua desionizada que no tiene lugar en compuestos orgánicos, al ser un proceso propio de organismos vivos. Además, Malato y col. [112] señalaron que la mayor complejidad de los microorganismos afecta al proceso fotocatalítico de inactivación. Por una parte, la mayor complejidad de la estructura celular, la existencia de mecanismos de reparación de daños así como de autodefensa inducidos por la luz UV-A en células sometidas a estrés [97] y la posibilidad de re-crecimiento bacteriano tras la irradiación [97, 99, 100] pueden dar lugar a una menor eficacia del proceso fotocatalítico de inactivación microbiana frente al de oxidación de contaminantes químicos. Sin embargo, el estrés adicional producido por ciertas especies presentes en agua [98, 125-126], el estrés osmótico en ausencia de iones [60, 121, 132], la temperatura [97, 121], el estrés mecánico [121], el estado fisiológico de la bacteria [131] y el efecto germicida de la luz UV-A [97, 112, 133] pueden dar lugar a una inactivación más rápida en comparación con la oxidación de contaminantes químicos. Por tanto, es indispensable tener en cuenta las posibles diferencias de eficacia del proceso fotocatalítico antes de la extrapolación de datos así como para desarrollar un posible tratamiento simultáneo de desinfección y oxidación de contaminantes químicos en aguas.

Otros autores también han observado diferencias en la eficacia fotocatalítica de inactivación bacteriana en función del tipo de microorganismo [60, 112]. De hecho, actualmente existe controversia en la bibliografía sobre el efecto de la eficacia del proceso fotocatalítico entre bacterias Gram-negativas y Gram-positivas como consecuencia de sus diferencias en estructura celular [26]. Como se observa en la Figura 2.15, las bacterias Gram-negativas tienen una pared celular de peptidoglicano más fina que las bacterias Gram-positivas; en cambio las primeras tienen una membrana externa adicional consistente en una

bicapa lipídica, dotándolas de una estructura celular de mayor complejidad [25, 26]. Puesto que se acepta que el mecanismo de inactivación está basado en el ataque de los radicales hidroxilo sobre la pared celular como primer paso hasta llegar a la lisis celular, una diferente estructura celular podría explicar las diferencias en cuanto a eficacia del proceso entre bacterias Gram-negativas y positivas. Sin embargo, mientras que unos autores han observado una mayor resistencia de las bacterias Gram-positivas a la inactivación fotocatalítica [60, 106, 134], otros observaron resultados opuestos [26, 135, 136].

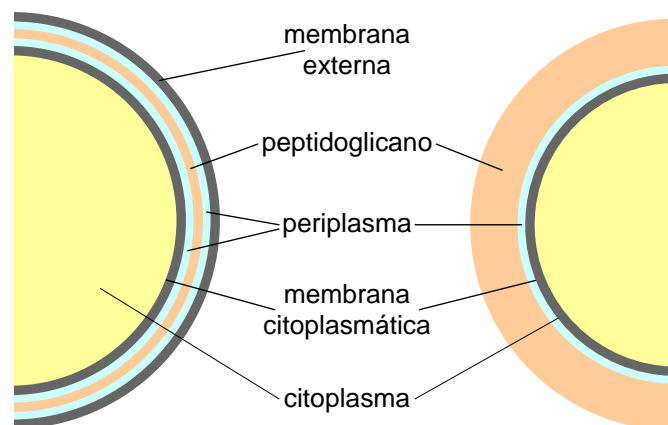


Figura 2.15. Representación esquemática de las diferencias de estructura celular existentes entre bacterias Gram-negativa (izquierda) y Gram-positiva (derecha).

La tendencia actual en el campo de la desinfección con TiO_2 se dirige hacia la inactivación de esporas bacterianas, protozoos patógenos como *Giardia lamblia* y *Cryptosporidium* o de algas resistentes [134]. En cualquier caso, la demostrada capacidad de fotodesinfección del dióxido de titanio aún debe ser implantada y establecida como una técnica de desinfección. Como ventajas adicionales destacan el aprovechamiento de una fuente de energía renovable, el uso de materiales e instalaciones que pueden llegar a ser muy baratos y la no producción de subproductos de desinfección nocivos. Sin embargo, los inconvenientes principales de esta técnica son su falta de efecto residual, su lento comportamiento cinético si se compara con otras tecnologías convencionales y la necesidad de separar el catalizador al finalizar el tratamiento.

En este sentido, no se han desarrollado muchos reactores basados en la utilización de catalizadores de TiO_2 inmovilizado. Los resultados observados en estos casos dieron lugar a

una reducción significativa de la eficacia de inactivación fotocatalítica en comparación con catalizadores en suspensión [60, 112, 119, 120, 127, 134, 137, 138]. Gummy y col. [137] incluso observaron una mayor reducción de la eficacia del sistema inmovilizado en la inactivación bacteriana en comparación con la degradación de contaminantes orgánicos. Tanto estos investigadores como Alrousan y col. [127] observaron cantidades óptimas de catalizador diferentes en procesos fotocatalíticos con microorganismos y compuestos químicos cuando éste está inmovilizado, ya que el menor tamaño del contaminante químico permite la difusión de éstos por la capa porosa de catalizador. Malato y col. [110] también apuntaron que los resultados fotocatalíticos de eliminación de compuestos orgánicos en sistemas inmovilizados no deben ser extrapolados a procesos de inactivación fotocatalítica de bacterias. Las principales hipótesis realizadas para explicar la disminución de la eficiencia de procesos fotocatalíticos de inactivación bacteriana con catalizador inmovilizado fueron las siguientes:

- i) La bacteria debe adsorberse sobre la película de catalizador, no estando éste favorecido. En el caso del catalizador en suspensión, era éste el que se adsorbía sobre la bacteria.
- ii) El catalizador soportado ofrece una menor superficie activa accesible a la luz para generar especies oxidantes que ataquen a la bacteria, así como una menor superficie activa de interacción con la bacteria.
- iii) La llegada de oxígeno a las capas más profundas de catalizador se ve limitada.
- iv) Puesto que el catalizador está fijo, no es posible que pequeñas partículas de TiO_2 (30-50 nm) penetren en el interior de la bacteria ($\sim 1 \mu\text{m}$) y causen mayor daño intracelular.

A pesar de esta reducción de la eficacia fotocatalítica, para poder aplicar esta tecnología a la desinfección de aguas de forma comercial es necesario el desarrollo de sistemas catalíticos inmovilizados de alta actividad. Por ello, aparte del dopaje de catalizadores para reducir los procesos de recombinación y mejorar el aprovechamiento de la luz visible [112], una de las estrategias propuestas es el desarrollo de electrodos fotocatalíticos sobre los que es posible aplicar un pequeño potencial eléctrico para aumentar el rendimiento cuántico del proceso fotocatalítico. A continuación se resumen las principales contribuciones realizadas en el ámbito de la aplicación de los procesos fotoelectrocatalíticos a la desinfección de aguas.

Butterfield y col. [139] demostraron por primera vez en 1997 que la eficacia de inactivación bacteriana mediante fotocátalisis podía incrementarse significativamente mediante la aplicación de un pequeño potencial sobre un electrodo de TiO_2 preparado por tratamiento térmico de titanio metálico. Posteriormente, en 2002, este mismo grupo de investigación aplicó con éxito el proceso a la inactivación del protozoo *Cryptosporidium oocysts* [140]. Además, hicieron un estudio en profundidad de la eficacia de distintos tipos de electrodos. Primeramente, Harper y col. estudiaron en 2001 [141] el diferente efecto del potencial en electrodos de dióxido de titanio preparados por el proceso sol-gel y por calcinación de una lámina de titanio, no observando influencia en el electrodo preparado por sol-gel. Además, observaron diferencias entre ambos electrodos en la tasa de inactivación al aumentar la concentración inicial de bacteria, de forma que el electrodo sol-gel es más eficaz a bajas concentraciones de bacteria mientras que el térmico es más eficaz a mayores concentraciones. Seguidamente, Christensen y col. compararon en 2003 [142] la eficacia de electrodos de dióxido de titanio preparados por el proceso sol-gel y por calcinación sobre una malla de titanio. Éstos últimos fueron más eficaces al aplicar un potencial eléctrico 1,3 V, siendo necesario aplicar un potencial eléctrico de 3 V sobre los electrodos preparados por sol-gel para alcanzar resultados similares a los observados por lo electrodos térmicos. Sin embargo, éstos mostraron ser menos activos fotocatalíticamente y más sensibles a las especies presentes en el agua, desactivándose antes. Además, a pesar de las dificultades difusionales para el transporte de la bacteria ($\sim 1 \mu\text{m}$) en comparación con un compuesto químico (nm), la aplicación de un potencial eléctrico sobre ambos tipos de electrodos de TiO_2 inmovilizado dio lugar a una mayor eficacia que cuando se utilizó TiO_2 en suspensión en el mismo reactor y con la misma lámpara. Posteriormente, en el año 2006, Egerton y col. [143] utilizaron electrodos de TiO_2 preparados por el método sol-gel dopados con hierro que aumentaron la eficacia del proceso fotocatalítico así como del proceso fotoelectrocatalítico en comparación con electrodos similares sin dopar. Destacar que la mejora obtenida en inactivación bacteriana hasta concentraciones de hierro de 0,5 en % atómico no se vio reflejada en un aumento de la fotocorriente.

Dunlop y col. [115] investigaron en 2002 la utilización de dióxido de titanio comercial (*Degussa P25* y *Aldrich*) inmovilizado por electroforesis sobre un electrodo conductor de titanio para la desinfección de *E.coli* K-12. Los resultados indicaron que la aplicación del potencial eléctrico incrementaba la eficacia del proceso de desinfección entre un 40 % usando

TiO₂ *Degussa* P25 y un 80 % con TiO₂ *Aldrich*. En 2008, estos investigadores [144], prepararon ambos tipos de TiO₂ comercial inmovilizado sobre 3 tipos de soportes conductores, dos metales y un vidrio conductor, consistentes en una aleación de titanio, titanio puro y óxido de estaño dopado con indio (*indium-doped tin oxide*, ITO) sobre vidrio de borosilicato. Estudiaron el efecto de los diferentes electrodos en la inactivación de la espora *Clostridium perfringes*. Todos los electrodos mostraron eficacia fotocatalítica y la aplicación de un potencial eléctrico de 1 V incrementó la tasa de inactivación de los electrodos basados en TiO₂ *Degussa* P25 y *Aldrich* en un 72 y 56 % respectivamente.

Posteriormente, Baram y col. [145] desarrollaron en 2007 electrodos de TiO₂ poroso sobre láminas de titanio mediante anodización a diferentes potenciales eléctricos con el objetivo de aplicarlos en desinfección de aguas. Con la aplicación de un potencial eléctrico de 1,5 V, los electrodos de nanotubos de TiO₂ mostraron ser más eficaces en la inactivación bacteriana que electrodos mesoporosos e incluso que el TiO₂ en suspensión [146].

Recientemente, Philippidis y col. [147] prepararon electrodos de TiO₂ *Degussa* P25 depositado por recubrimiento por inmersión (*dip-coating*) sobre una lámina cilíndrica de titanio. Además, doparon estos electrodos con platino y ambos fueron comparados con respecto a un electrodo de titanio preparado por calcinación a 750 °C. La aplicación de un potencial eléctrico de 1 V mejoró el proceso de inactivación fotocatalítica para los electrodos de TiO₂ *Degussa* P25, sobre todo para aquel dopado con platino. Además, mostraron seguir siendo activos tras 15 ciclos de reutilización. Por el contrario, el proceso de inactivación fotocatalítica no se vio mejorado con la aplicación de un potencial eléctrico al utilizar el electrodo térmico.

Finalmente, Cho y col. [148] estudiaron el efecto la aplicación de un potencial eléctrico en la inactivación fotocatalítica de diferentes microorganismos. Para ello utilizaron electrodos de dióxido de titanio soportado sobre ITO. Observaron un aumento de la eficacia del proceso en todos los tipos de microorganismos, incluyendo esporas y protozoos, incrementando el potencial eléctrico hasta 2 V.

En cuanto al mecanismo de desinfección fotoelectrocatalítica, es esencialmente el mismo que el descrito para los procesos puramente fotocatalíticos, puesto que la actividad se basa en

la generación de las mismas especies reactivas. Li y col. [149] trataron de correlacionar el aumento de la eficacia del proceso fotocatalítico al aplicar un potencial eléctrico con los daños a la bacteria observados en imágenes de microscopía electrónica de barrido. Observaron que la aplicación de un potencial eléctrico mejoraba la adhesión de las bacterias al fotoánodo aumentando la eficacia en la producción de daños, llegando incluso a proponer la posibilidad de un mecanismo de inactivación directa vía hueco. Sin embargo, otros autores defienden el mecanismo vía hidroxilo. Christensen y col., [142] comprobaron que la presencia de iones y otras sustancias atraparoras de radicales hidroxilo en la solución condujo a una reducción en la eficacia del proceso de inactivación. Cho y col. [148] mediante el uso de atrapadores de radicales también observaron que la inactivación fue causada principalmente por radicales hidroxilo. Las diferencias más importantes que se pueden plantear entre los mecanismos de desinfección fotocatalítica y fotoelectrocatalítica son las siguientes:

- i) La separación de los procesos catódicos y anódicos hace que en el fotoánodo de TiO_2 se concentren básicamente las especies derivadas del hueco, fundamentalmente radicales hidroxilo, minimizando por lo tanto la actuación de las especies formadas a partir de la transferencia del electrón fotogenerado.
- ii) Por otra parte, la estructura química de la membrana celular de las bacterias hace que éstas se encuentren cargadas negativamente, lo que facilitará el contacto con el fotoánodo de TiO_2 , donde se concentran cargas positivas [139, 148].

En resumen, la aplicación de un potencial eléctrico en procesos fotocatalíticos para la desinfección de aguas es relativamente reciente, existiendo muy pocos trabajos en la bibliografía. Los resultados existentes parecen indicar que la aplicación de un potencial eléctrico mejora el proceso fotocatalítico de inactivación microbiana. Sin embargo, se observa una gran variabilidad de resultados en función tanto de la naturaleza del material del electrodo usado como de la forma de preparación. Además, aunque la utilización de electrodos fotocatalíticos permite eliminar la etapa de separación del catalizador, para poder llevar esta tecnología a gran escala es necesario el estudio de otros aspectos como el cambio de escala de los electrodos desde las pequeñas celdas fotoelectrocatalíticas habitualmente utilizadas a reactores continuos de mayor capacidad, así como la utilización de aguas reales en lugar de los electrolitos ideales comúnmente usados.

El interés por el uso de procesos fotocatalíticos para la eliminación de microcontaminantes ha aumentado en estos últimos años, como muestra el reciente incremento en el número de trabajos de investigación centrados en ello [30]. Además, de acuerdo a estos trabajos, los procesos fotocatalíticos han mostrado ser eficaces en la oxidación de contaminantes emergentes [30]. Sin embargo, existen pocos resultados en la bibliografía [98] en relación a una posible aplicación de los procesos fotocatalíticos para la eliminación simultánea de contaminantes orgánicos y microorganismos. Dada la creciente preocupación por la existencia de contaminantes emergentes en el agua de salida de efluentes de depuradora [31], la utilización de un proceso terciario de desinfección de aguas residuales con el objetivo de su reutilización podría ser utilizado también para la degradación de dichos contaminantes. Aunque existen algunas referencias utilizando otras tecnologías avanzadas de oxidación basadas en ozono y UV/H₂O₂ [150-153], no existen en cambio publicaciones sobre aplicaciones fotocatalíticas en desinfección de aguas y eliminación simultánea de contaminantes emergentes. Puede decirse por tanto, que existe un interesante campo de estudio sobre la potencial aplicación de los procesos fotocatalíticos como tratamiento terciario en la regeneración de aguas residuales depuradas con vistas a su reutilización.

2.6. Objeto y alcance de la presente investigación.

En los apartados anteriores se ha puesto de manifiesto la importancia del desarrollo de *tecnologías avanzadas de oxidación*, y en particular de los procesos de *fotocatálisis heterogénea* como alternativa para el tratamiento de desinfección de efluentes de salida de plantas de tratamiento de aguas residuales con el objetivo de que éstas puedan ser reutilizadas. Asimismo se ha puesto de manifiesto la necesidad de desarrollar catalizadores de dióxido de titanio inmovilizado que puedan ser aplicados con éxito en procesos fotocatalíticos de inactivación bacteriana de aguas residuales.

Con este propósito, en Noviembre de 2008 comenzó en el Departamento de Tecnología Química y Ambiental de la Universidad Rey Juan Carlos el desarrollo del presente trabajo de investigación en el marco de dos proyectos de investigación denominados:

i) TRAGUA: “*Tratamiento y reutilización de aguas residuales para una gestión sostenible*”, financiado por el Ministerio de Educación y Ciencia (Programa Consolidación-Ingenio 2010, Proyecto CSD2006-00044) desde septiembre de 2006 hasta junio de 2012.

ii) REMTAVARES: “*Red madrileña de tratamientos avanzados para aguas residuales con contaminantes no biodegradables*”, financiado por la Comunidad de Madrid (Proyecto S-0505/AMB/0395), desde enero de 2006 hasta diciembre de 2009, y renovado desde enero de 2010 hasta diciembre de 2013 (Proyecto S-2009/AMB-1588).

A partir del 1 julio de 2009 hasta 31 de julio de 2013, el presente trabajo de investigación se enmarca dentro de un trabajo de tesis doctoral financiado por el Ministerio de Educación a través del programa de becas FPU (Formación de Profesorado Universitario), de acuerdo a la resolución de la convocatoria correspondiente al BOE de 28 de octubre de 2008 (Beca AP2008-04567), siendo el director de la tesis el Dr. Rafael van Grieken Salvador y como codirector el Dr. Javier Marugán Aguado.

El objetivo principal de la presente investigación es el desarrollo de procesos fotocatalíticos basados en catalizadores inmovilizados de elevada actividad para su aplicación en la inactivación de microorganismos y eliminación simultánea de microcontaminantes químicos emergentes con vistas a su aplicación como tratamiento terciario de aguas residuales de cara a su reutilización.

El programa de investigación diseñado se estructuró en los siguientes bloques:

- i) Puesta a punto de las instalaciones y técnicas experimentales básicas del estudio:
 - Desarrollo de las técnicas microbiológicas necesarias para el seguimiento de los procesos de desinfección.
 - Diseño y montaje de un reactor fotoquímico versátil que posibilite la comparación de diferentes sistemas fotocatalíticos (suspensión, lecho fijo, electrodos, etc) en condiciones de iluminación comparables.
- ii) Realización de experimentos básicos de referencia para establecer la naturaleza fotocatalítica del proceso y de estudios preliminares de desinfección fotocatalítica con TiO_2 en suspensión para determinar el mecanismo de la inactivación y el modelo cinético más adecuado para describir los resultados.
- iii) Estudio de las principales variables que afectan a la eficacia del proceso fotocatalítico utilizando TiO_2 en suspensión: concentración de catalizador, potencia de irradiación,

composición química del agua, concentración inicial de bacteria, y tipo de microorganismo.

iv) Desarrollo de sistemas catalíticos inmovilizados:

- Puesta a punto de la técnica de recubrimiento del soporte y optimización de la cantidad de TiO_2 a incorporar en función de la configuración del catalizador en el reactor, incluyendo la caracterización físicoquímica de los materiales desarrollados.
- Estudios de adhesión de las bacterias al catalizador inmovilizado en función de la composición química del agua.
- Evaluación de la actividad fotocatalítica en la inactivación de bacterias y su comparación con la eliminación de contaminantes orgánicos.

v) Desarrollo de electrodos fotocatalíticos:

- Puesta a punto de la celda de reacción y de las técnicas electroquímicas necesarias para la evaluación de los procesos fotoelectrocatalíticos.
- Desarrollo de electrodos fotocatalíticos basados en la inmovilización de TiO_2 sobre materiales conductores, incluyendo la caracterización físicoquímica y electroquímica de los mismos.
- Estudio de las principales variables del proceso fotoelectrocatalítico: tipo de soporte, potencial eléctrico aplicado, cantidad de catalizador incorporado y tipo de contaminante (microorganismo y contaminante orgánico).
- Desarrollo de electrodos fotocatalíticos de mayor tamaño y estudio del cambio de escala del proceso fotoelectrocatalítico desde la celda al reactor.

vi) Aplicación de los procesos fotocatalíticos como tratamiento de desinfección para la inactivación de microorganismos y degradación simultánea de contaminantes emergentes.

CAPÍTULO 3: MÉTODOS EXPERIMENTALES

3. MÉTODOS EXPERIMENTALES

3.1. Sistemas de reacción fotocatalíticos.

3.1.1. Instalación experimental a escala de laboratorio.

La instalación experimental utilizada para llevar a cabo las reacciones fotocatalíticas (Figura 3.1) es un reactor anular de 15 cm de largo, formado por dos tubos cilíndricos de vidrio de borosilicato de diámetro interno y externo 3 y 5 cm respectivamente. El sistema de reacción opera en recirculación con un depósito agitado con un volumen total de 2 L donde tiene lugar la toma de muestras. Los experimentos se han llevado a cabo utilizando un volumen de trabajo de 1 L, siendo el volumen irradiado del reactor de $188,5 \text{ cm}^3$. El caudal de recirculación es de $2,5 \text{ L min}^{-1}$, dando lugar a un tiempo de residencia de la suspensión en el reactor fotocatalítico irradiado de 4,5 s y número de Reynolds de 663, lo que implica que el sistema se encuentra teóricamente en régimen de flujo laminar. Sin embargo, el reducido tiempo de residencia y las condiciones de mezcla debido a la corta longitud del reactor y a la turbulencia generada a la entrada del reactor (la suspensión impacta directamente contra la pared del reactor cuando entra al mismo), puede suponerse que el sistema de recirculación en su conjunto se comporta como un reactor de mezcla perfecta. La temperatura de operación del sistema se mantiene en el intervalo entre 20 y 35°C sin necesidad de utilizar sistemas de control de temperatura.

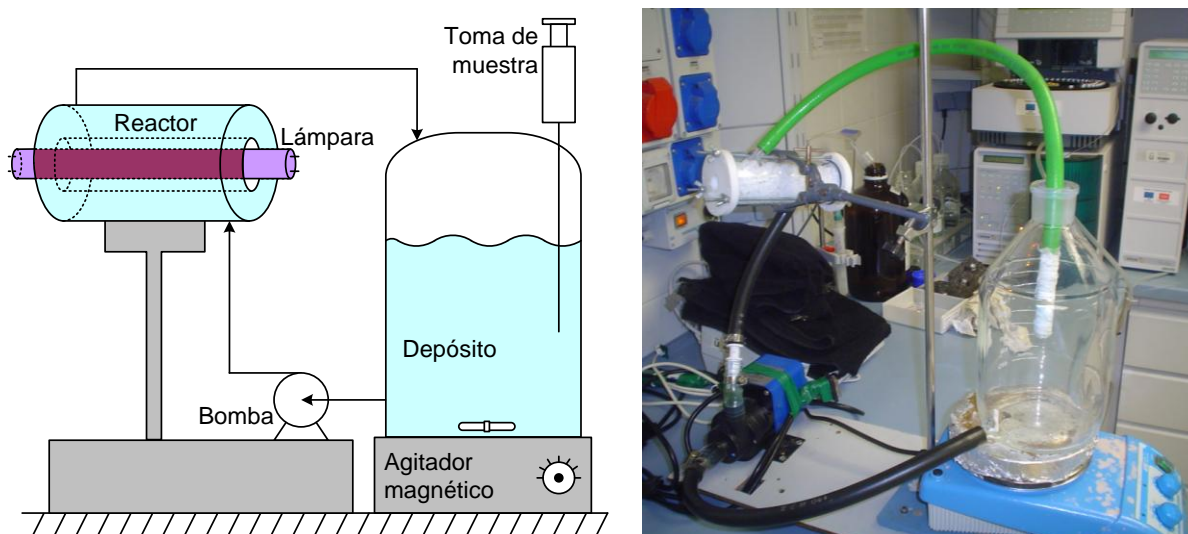


Figura 3.1. Esquema y fotografía del reactor fotocatalítico.

Para iluminar el reactor se utilizó una lámpara de luz negra *Philips TL* de 6 W situada en el eje del reactor. Esta lámpara tiene un diámetro de 1,6 cm y una longitud de 21 cm, estando ambos extremos fuera del reactor para evitar efectos de borde y permitir un flujo de irradiación homogéneo en toda la longitud del reactor. La lámpara emite radiación UV-A en un intervalo entre 350 y 400 nm, con un pico máximo de emisión centrado en 370 nm. La potencia de radiación UV-A incidente, determinada por actinometría con ferrioxalato potásico es de $2,77 \times 10^{-6}$ Einstein s^{-1} (0,91 W), correspondiente a un flujo de radiación incidente de $1,92 \times 10^{-8}$ Einstein $cm^{-2} s^{-1}$. Experimentos con valores más bajos de potencia de irradiación se llevaron a cabo colocando filtros neutros alrededor del exterior del cilindro interno que constituye la pared interna del reactor. Dichos filtros consisten en un material polimérico transparente con un % de cobertura negra entre el 25 y el 50% controlado con una impresora láser de alta calidad. Cuanto mayor es el grado de opacidad del filtro, menor es la cantidad de radiación que pasaba a su través, reduciéndose la potencia de irradiación incidente hasta valores del orden de $0,78 \times 10^{-7}$ Einstein s^{-1} .

El catalizador utilizado en todos los experimentos ha sido Aeroxide® TiO₂ P25 (*Evonik Industries AG*, antes *Degussa*). Se han estudiado tres tipos diferentes de configuración del catalizador en el reactor fotocatalítico, estando en dos de ellos inmovilizado sobre soportes de vidrio de borosilicato:

- i) Reactor en suspensión, utilizando como catalizador las partículas de TiO₂ P25.
- ii) Reactor de pared catalítica, inmovilizando TiO₂ P25 sobre la pared externa del tubo de vidrio de 15 cm de longitud y 3 cm de diámetro interno, que constituye la pared interna del reactor.
- iii) Reactor de lecho fijo, inmovilizando TiO₂ P25 en anillos Raschig de vidrio de borosilicato de 6 x 6 mm colocados en el interior del fotorreactor. La porosidad de este sistema es del 64,4 % y el volumen libre irradiado para la suspensión es de 121,4 cm³.

En la Figura 3.2 se presenta un esquema de los mismos.

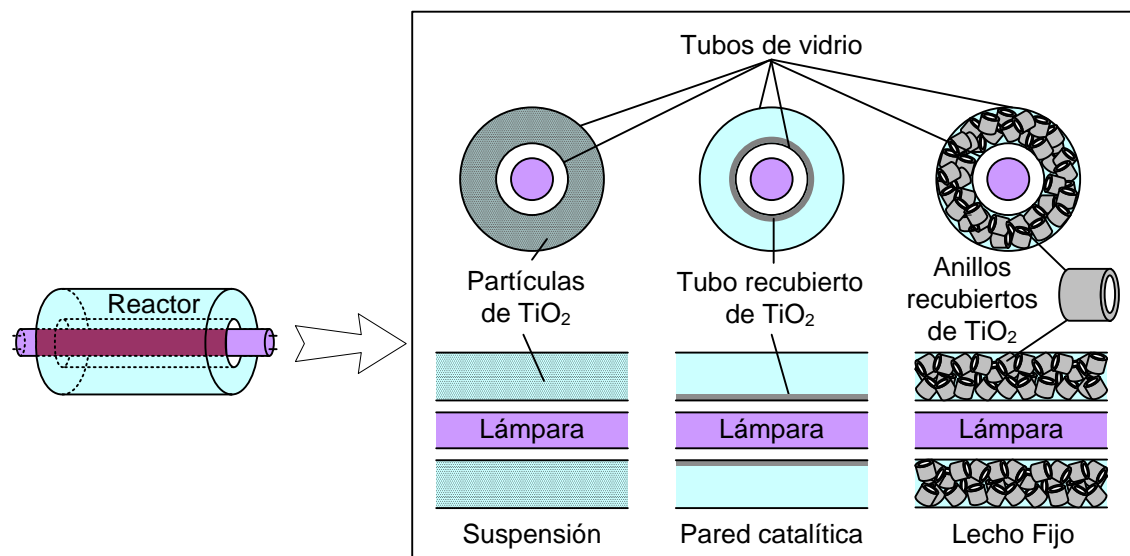


Figura 3.2. Esquema detallado de las diferentes configuraciones de reactores fotocatalíticos utilizados.

La inmovilización del TiO_2 sobre los soportes de vidrio (tubo cilíndrico interno y anillos Raschig) se llevó a cabo por el procedimiento de recubrimiento por inmersión (*dip-coating*) representado en la Figura 3.3. En primer lugar, el material de vidrio se lavó con agua y jabón, se introdujo en un baño de ultrasonidos durante 30 min y finalmente se sumergió en un baño de KOH-isopropanol (200 g L^{-1}) durante 24 h. Una vez aclarado, se introdujo en una suspensión de TiO_2 P25 con una concentración de 150 g L^{-1} en agua desionizada (*Milli-Q*[®], de conductividad $18,2 \text{ M}\Omega \text{ cm}$) y un pH de 1,5 (ajustado con HNO_3). Con el fin de conseguir un espesor homogéneo en toda la pieza, se utilizó el equipo RDC-15 (*Bungard Elektronik GmbH*) que permitió controlar la velocidad de salida del vidrio de la suspensión en un valor constante de $0,65 \text{ mm s}^{-1}$. Tras cada recubrimiento, las piezas de vidrio fueron secadas a $110 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 24 h y calcinadas a $500 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 2 h con una rampa de temperatura de $5 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$. Este procedimiento se podía repetir varios ciclos para aumentar el espesor de la capa de TiO_2 formada. Antes de que las piezas recubiertas fueran probadas en reacción, fueron introducidas en el fotoreactor y lavadas durante 30 min con agua desionizada para retirar las partículas del catalizador que no estuvieran bien adheridas al vidrio.

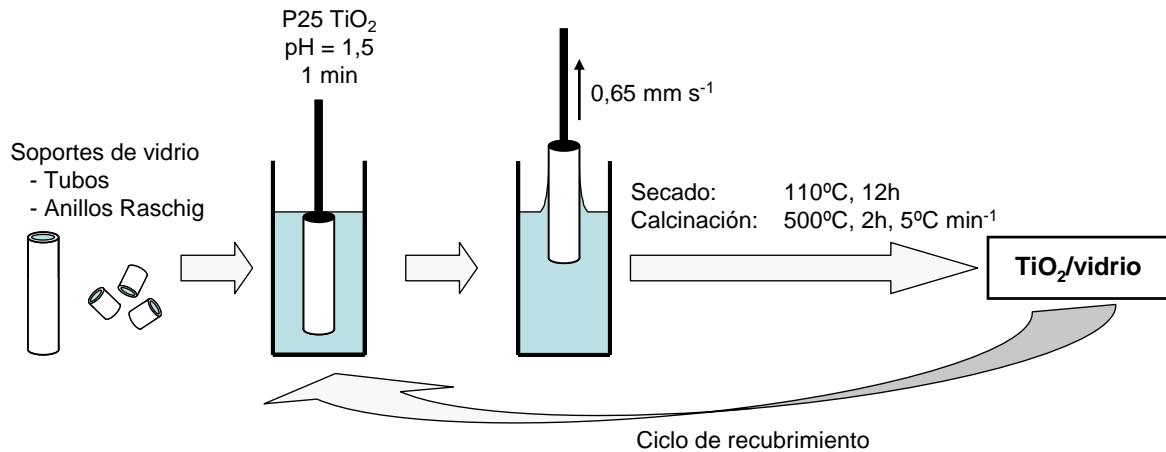


Figura 3.3. Representación esquemática del proceso de inmovilización del catalizador en soportes de vidrio por recubrimiento por inmersión (*dip-coating*).

3.1.2. Instalación experimental a mayor escala.

Para poder llevar a cabo experimentos con una mayor capacidad de tratamiento se utilizó también una instalación experimental de mayor tamaño consistente en un reactor anular de 100 cm de largo, formado por dos tubos cilíndricos concéntricos de vidrio de borosilicato de 3 y 5 cm de diámetro (Figura 3.4). El sistema de reacción opera en un circuito cerrado con un depósito dotado de un sistema de agitación de volumen total 7 L donde se realiza la toma de muestras. El volumen de trabajo utilizado en los experimentos fue de 4 L, siendo el volumen irradiado del reactor de 1.250 cm^3 . El caudal utilizado fue de $3,9 \text{ L min}^{-1}$, correspondiente a un tiempo de residencia en el reactor de 19,2 s y a un valor del número de Reynolds de 1035, por lo que se puede considerar que el sistema opera en régimen de flujo laminar.

Para iluminar el reactor se utilizó una lámpara de luz negra *Osram L* de 36 W situada en el eje del reactor. La lámpara tiene un diámetro de 2,6 cm y una longitud de 120 cm, estando ambos extremos fuera del reactor para evitar efectos de borde y asegurar una irradiación homogénea en toda la longitud del mismo. La lámpara emite radiación UV-A en un intervalo de entre 350 y 400 nm, con un pico máximo de emisión centrado en 370 nm. La potencia de radiación UV-A incidente, determinada por actinometría con ferrioxalato potásico, es de $1,80 \times 10^{-5} \text{ Einstein s}^{-1}$ (5,91 W), correspondiente a un flujo de radiación incidente de $1,91 \times 10^{-8} \text{ Einstein cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$. En este caso, para mantener la temperatura por debajo de 35°C fue necesario utilizar un serpentín de enfriamiento con agua de red en contracorriente a la salida del reactor.

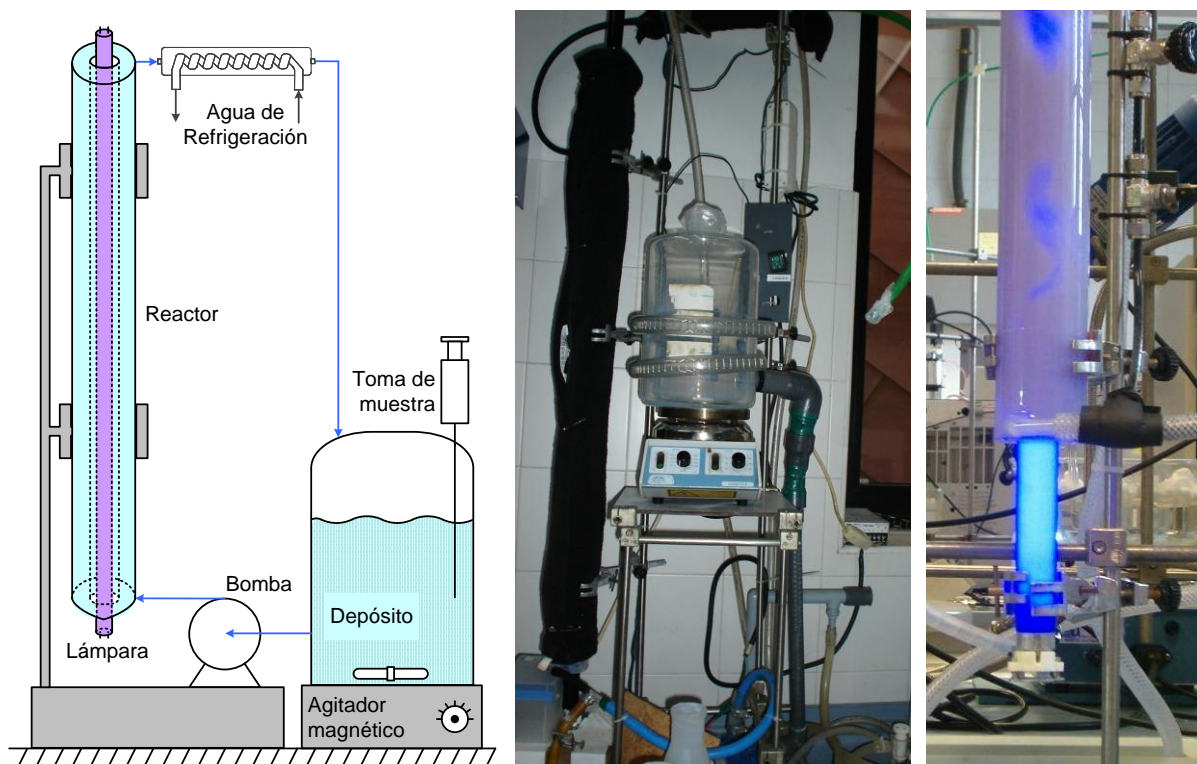


Figura 3.4. Esquema y fotografías del reactor fotocatalítico de mayor escala.

3.2. Sistemas de reacción fotoelectrocatalíticos.

3.2.1. Celda fotoelectrocatalítica.

En la Figura 3.5 se muestra la celda utilizada para llevar a cabo la caracterización electroquímica de diferentes electrodos de trabajo así como las pruebas de actividad fotoelectrocatalítica. La celda consta de tres electrodos contenidos en un recipiente de vidrio de 0,6 L de capacidad. El volumen de reacción utilizado ha sido de 0,4 L sometido a agitación constante para asegurar la homogeneización de la suspensión y la difusión adecuada de oxígeno. En cuanto a los electrodos, el electrodo de trabajo (ET) se sitúa en la parte inferior de la celda, con la cara recubierta de dióxido de titanio hacia arriba. El contraelectrodo (CE), de mayor tamaño es una malla de níquel que permite el paso de la radiación de las lámparas UV-A colocadas en la parte superior para que incida sobre el electrodo de trabajo. Ambos electrodos se mantienen en posiciones fijas mediante una pieza de *Teflón*[®]. El electrodo de referencia (ER) se sitúa cerca de la superficie del electrodo de trabajo. Los tres electrodos están conectados a un potenciostato controlado por ordenador.

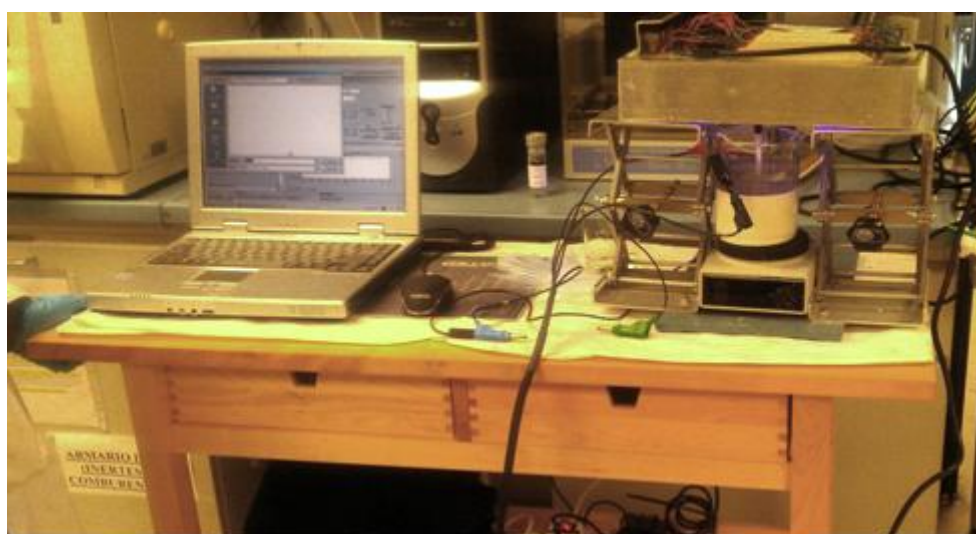
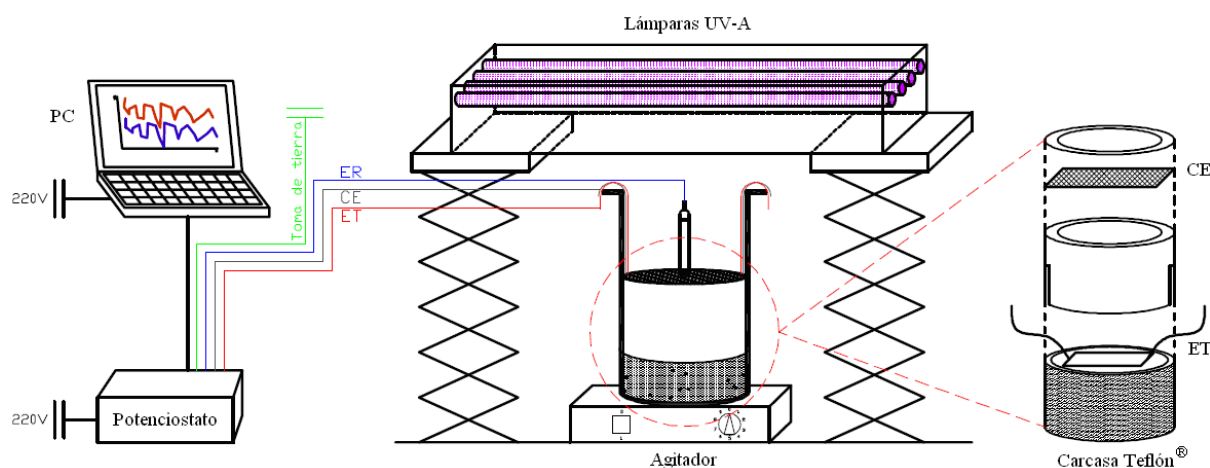


Figura 3.5. Esquema (arriba) y fotografía (abajo) de la instalación fotoelectroquímica experimental.

El sistema de iluminación consta de 4 lámparas de luz negra *Philips TL* de 6W que emiten radiación UV-A con un espectro de emisión en un intervalo de entre 350 y 400 nm, con un pico máximo de emisión centrado en 370 nm. La potencia de radiación UV-A incidente, determinada por actinometría con ferrioxalato potásico es de $2,92 \times 10^{-7}$ Einstein s^{-1} (0,10 W).

El potenciostato utilizado para mantener el potencial del electrodo de trabajo constante con respecto al del electrodo de referencia mediante el ajuste de la corriente en el contraelectrodo ha sido el modelo *Eco-Chemie μ AUTOLAB Type III*. Como electrodo de referencia (ER) se ha utilizado un electrodo de plata/cloruro de plata (Ag/AgCl) modelo *RE-1B (Bas Inc.)*. El contraelectrodo (CE) utilizado consiste en una malla circular de níquel

(*Goodfellow*) con un área abierta del 55 %, de diámetro 8,5 cm (57 cm^2) situado a 1 cm del electrodo de trabajo. Aunque habitualmente se considera que el platino es más adecuado para llevar a cabo la reducción del O_2 , experimentos preliminares utilizando una malla de platino (*Goodfellow*) como CE condujeron a resultados muy similares, porque lo que los experimentos fueron realizados con el CE de níquel, de menor coste económico de cara a una posible aplicación comercial. Como electrolito se ha utilizado Na_2SO_4 0,1 M con un valor de conductividad de 16 mS cm^{-1} y pH de 6,4.

Los experimentos se han realizado con 6 tipos diferentes de electrodos de trabajo preparados en el laboratorio, siendo todos ellos placas cuadradas de 25 cm^2 de superficie. Como soportes se ha utilizado titanio metálico ($5 \times 5 \times 0,05 \text{ cm}$) (*Goodfellow*) y vidrio conductor ($5 \times 5 \times 0,2 \text{ cm}$) (*Diamond Coatings*) de diferente resistencia (10 y $100 \Omega \text{ cuadrado}^{-1}$) obtenido por recubrimiento de un soporte de vidrio de borosilicato con una capa de espesor adecuado de óxido de estaño dopado con indio (*indium tin oxide*, ITO). La película de TiO_2 se ha preparado a partir de una suspensión de TiO_2 P25 e inmovilizado sobre los diferentes soportes por el método de recubrimiento por inmersión explicado en el apartado 3.1.1. La única diferencia en la forma de preparación con respecto a los sistemas inmovilizados descritos anteriormente es la temperatura de calcinación, que en este caso ha sido de $450 \text{ }^\circ\text{C}$ para evitar daños en el recubrimiento de vidrio conductor. Por tanto los electrodos de trabajo preparados han sido los siguientes:

- i) TiO_2 P25 inmovilizado sobre vidrio conductor de $10 \Omega \text{ cuadrado}^{-1}$ (se denominará en el texto como $\text{TiO}_2/\text{ITO}10$) con 1, 2 y 3 recubrimientos para evaluar el efecto del espesor de la capa de TiO_2 .
- ii) TiO_2 P25 inmovilizado sobre vidrio conductor de $100 \Omega \text{ cuadrado}^{-1}$ ($\text{TiO}_2/\text{ITO}100$) con 3 recubrimientos para evaluar el efecto de la resistencia del soporte conductor.
- iii) TiO_2 P25 inmovilizado sobre titanio (TiO_2/Ti) con 3 recubrimientos para evaluar el efecto del tipo de soporte conductor.
- iv) Un electrodo de titanio de referencia (Ti) en el que el TiO_2 se formó por oxidación de la lámina de titanio mediante su calcinación en atmósfera de aire a $700 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 30 min con una rampa de temperatura de $50 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$.

Las conexiones eléctricas de los electrodos se han realizado uniendo un cable de titanio (*Goodfellow*) sobre el soporte conductor en dos esquinas opuestas de cada electrodo con una resina de plata. Para aislar la conexión, ésta se ha recubierto con resina epoxi inerte. Los cables se han envuelto con *Teflón*[®] para evitar su contacto con el CE. En la Figura 3.6 se muestra una fotografía de los mismos.

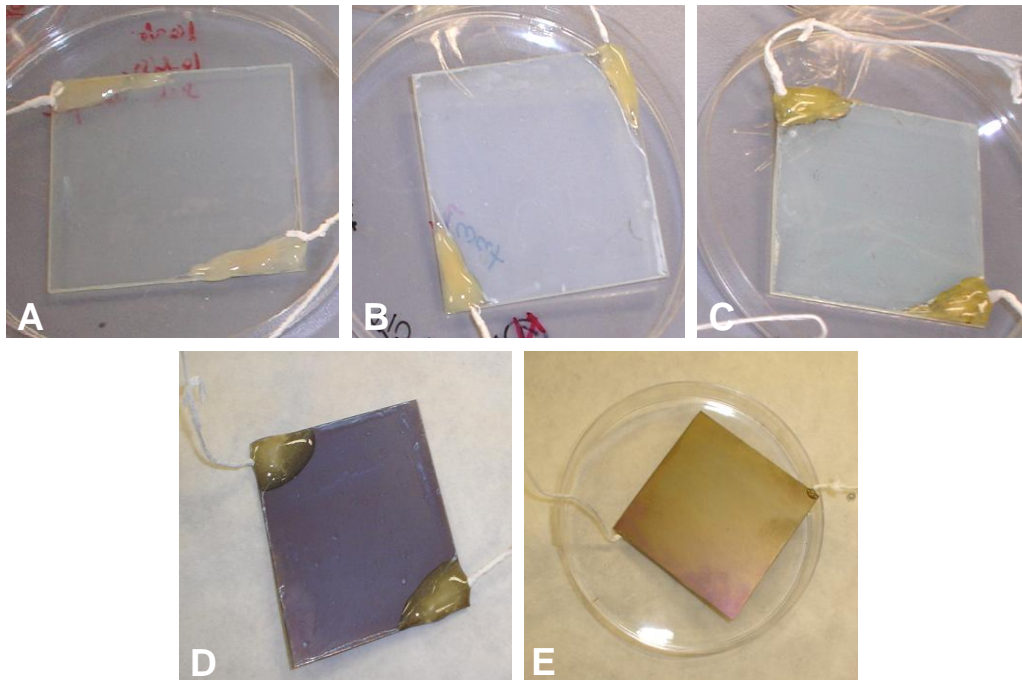


Figura 3.6. Electrodos de trabajo: A, B y C: Electrodos de TiO₂ inmovilizado sobre vidrio conductor por recubrimiento por inmersión (1, 2 y 3 recubrimientos respectivamente). D: Electrodo de TiO₂ inmovilizado sobre titanio por recubrimiento por inmersión, 3 recubrimientos. E: Electrodo de TiO₂ sobre titanio por calcinación.

3.2.2. Reactor fotoelectrocatalítico.

En la Figura 3.7 se muestra el esquema del reactor fotoelectrocatalítico, diseñado con el mismo esquema del reactor fotocatalítico de pared descrito en el apartado 3.1.1 para que ambos sistemas pudieran ser comparables. La potencia de radiación UV-A incidente, determinada por actinometría con ferrioxalato potásico corresponde a $1,01 \times 10^{-6}$ Einstein s⁻¹ (0,33 W), valor inferior al registrado en el reactor fotocatalítico debido a la absorción de radiación por parte del vidrio conductor.

El ET consiste en una película de TiO_2 P25 inmovilizado sobre el exterior del tubo interior cilíndrico que constituye la pared interna del reactor fotocatalítico. Este tubo cilíndrico es a su vez el electrodo de vidrio conductor (ITO $10 \Omega \text{ cuadrado}^{-1}$, *Diamond Coatings*) ($\text{TiO}_2/\text{ITO}10$) de diámetro 3 cm y longitud 15 cm ($141,4 \text{ cm}^2$). Tanto la preparación de la suspensión de TiO_2 como su inmovilización sobre el vidrio conductor se han llevado a cabo de acuerdo al procedimiento descrito en el apartado 3.2.1. Con el objetivo de estudiar el efecto del espesor de la capa de TiO_2 se prepararon ET con diferente número de recubrimientos. Las conexiones eléctricas se realizaron en ambos extremos de los electrodos uniando cables de cobre sobre el soporte conductor con resina de plata y posteriormente aplicando resina inerte como aislamiento, como se muestra en la Figura 3.8.

Como CE se ha utilizado una malla de níquel situada entre las paredes del reactor fotocatalítico formando un cilindro de diámetro 4 cm ($188,5 \text{ cm}^2$). Para mantenerla en una posición fija, guardando 0,5 cm de distancia del ET y la pared externa del reactor, se han utilizado pequeñas piezas de *Teflón*[®] unidas a la pared interna del tubo externo del reactor con resina epoxi, como se muestra en la Figura 3.8. Tanto el ET como el CE han sido conectados a una fuente de alimentación modelo *ISO-TECH (Rs Components Ltd.)* en la que se puede fijar el potencial eléctrico que se desea aplicar y con la que se pueden registrar valores de intensidad de corriente.

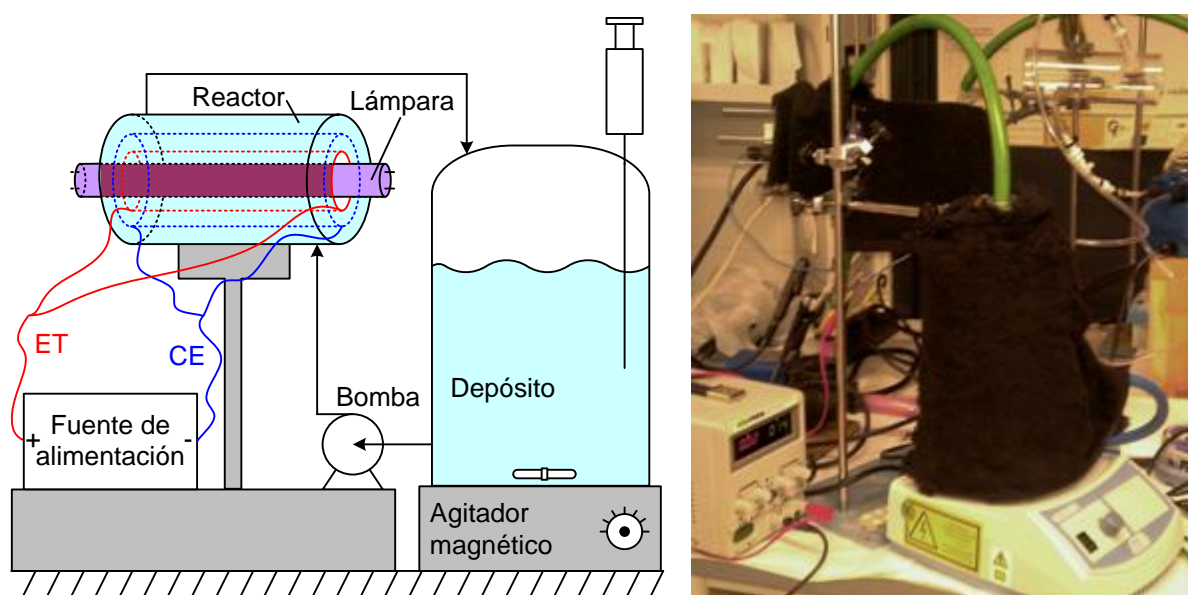


Figura 3.7. Esquema y fotografía del reactor fotoelectrocatalítico.

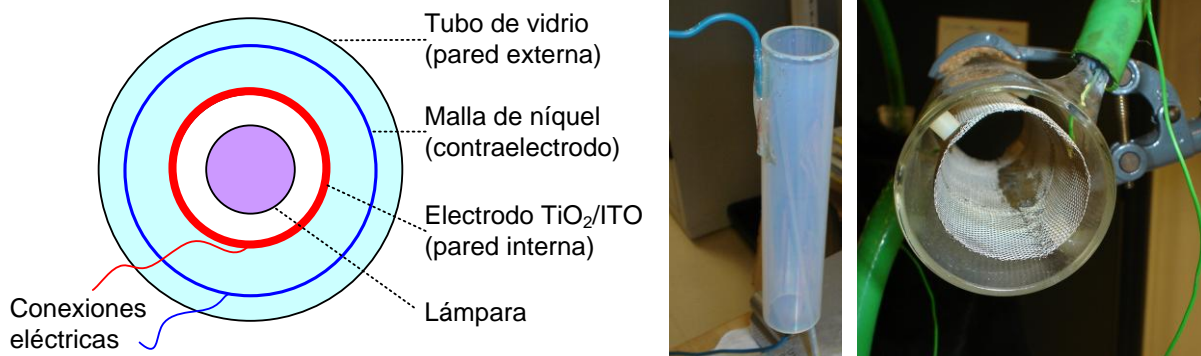


Figura 3.8. Esquema detallado del reactor fotoelectrocatalítico y fotografías de un electrodo de trabajo (centro) y del contraelectrodo (derecha).

Como diferencia a destacar de este sistema con respecto a la celda fotoelectrocatalítica, en este caso la iluminación se ha realizado desde la parte trasera del ET (incidiendo primeramente sobre el soporte conductor) a diferencia de cómo se ha hecho en la celda, en la que la iluminación ha tenido lugar por la parte frontal del ET (incidiendo en primer lugar sobre el catalizador). Esto podría dar lugar a diferencias entre ambos sistemas que deben ser tenidas en cuenta en el análisis de los resultados y en la comparación entre ambos tipos de sistemas experimentales con vistas a sacar conclusiones respecto del cambio de escala de los electrodos.

3.3. Caracterización de los catalizadores.

3.3.1. Difracción de rayos X.

Los difractogramas de rayos X (*XRD*, *X-Ray Diffraction*) se obtuvieron en un equipo *Philips X'PERT MPD* utilizando radiación monocromática CuK_α y un ángulo de barrido 2θ de 20 a 60° con un tamaño de paso de 0,02° y tiempo de adquisición de 2 s. La aplicación de esta técnica ha permitido determinar de forma cualitativa la presencia e intensidad de las fases cristalinas del dióxido de titanio, anatasa y rutilo. Esta técnica se ha utilizado en muestras con TiO_2 inmovilizado tanto en soporte de vidrio de borosilicato como de vidrio conductor, con el objetivo de evaluar posibles diferencias en la intensidad de la señal obtenida al incrementar el espesor de la capa de TiO_2 tras varios ciclos de recubrimiento por inmersión. Asimismo, se ha

utilizado para determinar las características cristalinas del TiO₂ formado en el tratamiento térmico de láminas de titanio metálico.

3.3.2. Microscopía electrónica de barrido.

La microscopía electrónica de barrido (*SEM, Scanning Electron Microscopy*) se ha utilizado con objeto de determinar el espesor de la capa de TiO₂ en los sistemas inmovilizados en función del número de recubrimientos realizados. Las microfotografías se han obtenido en un microscopio electrónico de barrido ambiental *Philips XL 30 ESEM* y en un microscopio electrónico de barrido de alta resolución *Nova Nano SEM230*. Las muestras se prepararon cortando una porción del material de vidrio al que previamente se le había inmovilizado el TiO₂ y aplicando sobre el catalizador una capa de cobre.

3.3.3. Espectrofotometría UV-Vis.

Esta técnica es fundamental para la predicción de la actividad fotocatalítica de las muestras de TiO₂ inmovilizado tanto en vidrio de borosilicato como en vidrio conductor en función del espesor de la capa de catalizador, ya que la absorción de radiación UV-A de dichas muestras está relacionada con su potencial actividad fotocatalítica. Los espectros de UV/Vis de las muestras se han obtenido en un espectrofotómetro *Varian Cary 500 Scan UV-VIS-NIR* en un rango de longitudes de onda de 300-500 nm, con una velocidad de paso de 0,5 nm.

3.3.4. Dispersión dinámica de luz.

La técnica de dispersión dinámica de luz (*DLS, Dynamic Light Scattering*) se utilizó para determinar el tamaño efectivo formado por los agregados de catalizador en suspensión. Para ello se utilizó un sistema de correlación digital modelo *BI-9000AT (Brookhaven Instruments Corporation)* que calcula el coeficiente de difusión de la partícula (*D*) y lo correlaciona con su tamaño a partir de la relación de *Stokes-Einstein* para partículas esféricas [154]. La preparación de la muestra consistió en la homogeneización de una suspensión de 0,1 g L⁻¹ de TiO₂. Para ello se mantuvo la agitación durante 15 min antes de tomar la primera muestra a medir. Se evaluó el tamaño de la partícula durante 4 h, tiempo aproximado de duración de los ensayos fotocatalíticos, para estudiar posibles cambios de tamaño a lo largo de un

experimento. Se evaluó también el efecto la composición química de la suspensión utilizando como matriz agua desionizada (AD) y agua residual sintética [155, 156] (Tabla 3.1) diluida a un valor de carbono orgánico total (*TOC, Total Organic Carbon*) de 15 mg L^{-1} para simular el efluente de salida del tratamiento secundario de una estación depuradora de aguas residuales urbanas. Su designación a lo largo del trabajo será ARS, siglas correspondientes a la denominación simplificada agua residual sintética. La conductividad de dichas aguas corresponde a $40 \text{ } \mu\text{S cm}^{-1}$.

Tabla 3.1. Composición de las aguas residuales sintéticas [155, 156].

Sustancia	Concentración (mg L^{-1})
Peptona	160
Extracto de carne	110
Urea	30
K_2HPO_4	28
NaCl	7
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	4
$\text{Mg}_2\text{SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	2

Estos experimentos se llevaron a cabo en los laboratorios del Departamento de Ingeniería Química y Ambiental de la Universidad de California en Riverside (EE.UU.) bajo la supervisión de la Dra. Sharon Walker.

3.3.5. Movilidad electroforética y potencial zeta.

Las medidas de movilidad electroforética (*EPM, Electrophoretic Mobility*) se basan en la determinación de la velocidad de las partículas hacia un electrodo cuando se aplica un campo eléctrico, mientras que los valores de potencial zeta (*ZP, Zeta Potential, ζ*) indican el potencial eléctrico en el plano entre la suspensión y la zona donde la suspensión y cualquier ión presente están fijos a la superficie de la partícula. De esta forma, el signo positivo o negativo de EPM o ZP indica la carga de la partícula, y la mayor o menor magnitud de estos parámetros indican si la carga superficial de la partícula es alta o baja.

La EPM del catalizador fue medida para una concentración del mismo de $0,1 \text{ g L}^{-1}$ en matrices con diferente composición química, agua desionizada y agua residual sintética. Al igual que en el caso anterior se homogeneizó la muestra mediante agitación durante 15 min

antes de tomar la muestra a medir. Se utilizó un equipo específico de medida de potenciales zeta, ZetaPALS (*Brookhaven Instruments Corporation*). Las medidas de EPM son convertidas por el equipo en valores de potencial zeta (ZP) usando la ecuación de *Smoluchowski* [154].

Estos experimentos se llevaron a cabo en los laboratorios del Departamento de Ingeniería Química y Ambiental de la Universidad de California en Riverside (EE.UU.) bajo la supervisión de la Dra. Sharon Walker.

3.3.6. Voltametría cíclica.

Para la caracterización electroquímica de los electrodos fotocatalíticos se utilizó principalmente la voltametría cíclica (*CV, Cyclic Voltammetry*). Esta técnica consiste en la aplicación de un barrido de potencial eléctrico al electrodo de trabajo tanto en el sentido directo como en el inverso, obteniendo un registro de intensidad de corriente (I) frente a potencial eléctrico aplicado (E). La forma de las curvas I - E obtenidas proporciona una valiosa información respecto del mecanismo del proceso, mientras que los valores absolutos de intensidad de fotocorriente proporcionan una idea de la actividad fotocatalítica potencial de los electrodos, ya que dicha medida corresponde los electrones útiles en el proceso fotocatalítico.

Estos ensayos se llevaron a cabo en la celda electroquímica descrita en el apartado 3.2.1 utilizando un potencióstato modelo *Eco-Chemie μ AUTOLAB Type III*. Si no se especifica otro valor, la velocidad de barrido utilizada fue de $0,05 \text{ V}\cdot\text{s}^{-1}$, repitiéndose el barrido el número de veces necesario para obtener una respuesta estable en la curva I - E .

Los límites del barrido de potencial se seleccionaron con el objetivo de evitar la corrosión del electrodo así como la oxidación/reducción del agua. Para el caso de los electrodos particulados, los límites fijados en base a experimentos preliminares, fueron de -0,6 y 1,5 V mientras que fueron -0,3 y 1,5 V para el electrodo obtenido por tratamiento térmico de titanio metálico.

La caracterización electroquímica de los electrodos de trabajo se realizó utilizando como electrolito Na_2SO_4 0,1 M, así como también añadiendo concentraciones diferentes de metanol (0,01; 0,1; y 1 M) para determinar la influencia de la presencia de un compuesto orgánico atrapador de huecos/radicales hidroxilo en la respuesta de los mismos.

3.3.7. Amperometría.

Esta técnica electroquímica permite obtener datos de intensidad de corriente en función del tiempo durante la aplicación de un potencial eléctrico constante sobre el electrodo de trabajo. Estos ensayos se llevaron a cabo de forma simultánea a las reacciones realizadas en la celda fotoelectrocatalítica, con el objetivo de correlacionar la actividad fotocatalítica de los electrodos con la intensidad de corriente registrada en el circuito eléctrico externo. El potencióstato y electrolitos utilizados fueron los mismos que los descritos para las voltametrías cíclicas.

3.4. Técnicas microbiológicas y de caracterización bacteriana.

3.4.1. Esterilización del material.

Uno de los aspectos importantes a tener en cuenta en la experimentación con microorganismos es la importancia de trabajar en condiciones de esterilidad. Para asegurar una atmósfera de trabajo estéril, tanto la manipulación del material microbiológico como el análisis de las muestras durante los ensayos fotocatalíticos se llevó a cabo en una cabina de seguridad biológica modelo *BIO II A (Telstar)*. La esterilización del material de trabajo (vidrio, plástico, etc), así como del agua, medios de cultivo y residuos generados se realizó en vapor de agua a 121°C utilizando un autoclave de 50 L de regulación electrónica modelo *Presoclave II (Selecta)*. Para esterilizar las superficies de la cabina de seguridad biológica se utilizó radiación UV-C mientras que para el resto del material no autoclavable (reactor, bomba, etc) y necesario para la manipulación (guantes, etc,) se utilizó etanol al 70 % v/v.

3.4.2. Cepas bacterianas utilizadas.

Las cepas bacteriana utilizadas en este trabajo fueron *Escherichia coli* K-12 (CECT 4624, ATCC 23631, Gram-negativa) y *Enterococcus faecalis* (CECT 5142, ATCC 11700, Gram-positiva) proporcionadas en su forma liofilizada por la Colección Española de Cultivos Tipo (CECT). Ambas especies, aunque de diferente estructura celular, son usadas comúnmente como microorganismo indicador de contaminación fecal. La Figura 3.9 muestra una micrografía de una preparación de ambas cepas diferenciadas por tinción Gram.

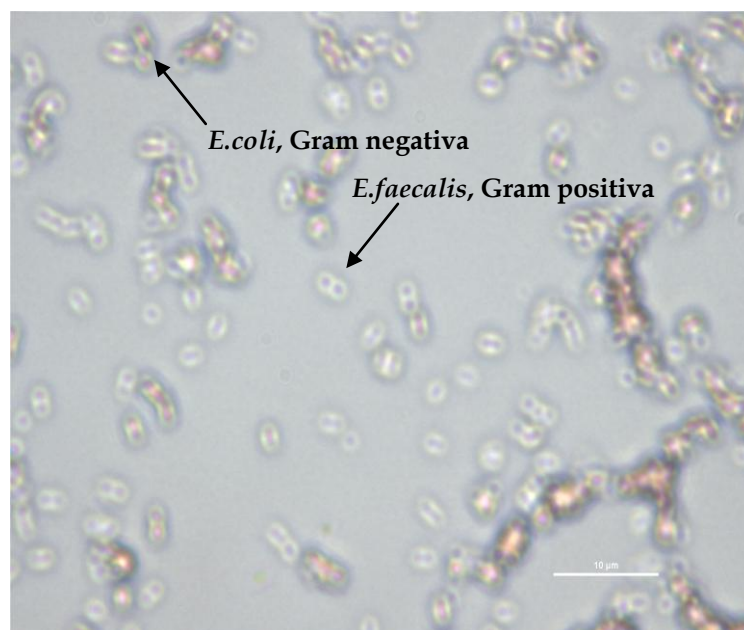


Figura 3.9. Micrografía de una preparación de *E. coli* y *E. faecalis*, diferenciadas por tinción Gram. *E. coli*: bacilo, coloreado de rosa; *E. faecalis*: coco, coloreado de azul/violeta.

3.4.3. Preparación de los cultivos.

El crecimiento de los microorganismos se ha llevado a cabo utilizando el medio de cultivo no selectivo *Luria Bertani (LB)* según *Miller* en dos variedades: *LB Broth (Scharlab)*, para la preparación de medio de cultivo líquido y *LB Agar (Scharlab)* para la preparación de placas Petri con medio de cultivo sólido.

Para obtener el cultivo madre de cada cepa, se reconstituyó el liófilo añadiendo unas gotas de medio de cultivo líquido estéril. La cepa rehidratada se añadió a 5 mL de medio líquido estéril, que se consideró el *pre-cultivo*. Éste se dejó en agitación (100 r.p.m.) durante 24 h a 37 °C, condiciones necesarias para que la bacteria crezca hasta su fase estacionaria. Al día siguiente se preparó un cultivo líquido añadiendo 2 mL del *pre-cultivo* a 200 mL de medio de cultivo líquido estéril. Este cultivo se dejó en agitación durante 24 h a 37 °C. Al día siguiente, el *cultivo bacteriano* obtenido se sembró en medio sólido en placas Petri, cultivándose 24 h a 37 °C para obtener el cultivo madre, conservado a 4 °C durante un mes. Por otro lado, se preparó un stock de viales con 500 µL de cultivo bacteriano en una solución estéril de glicerol al 15 % y se conservaron a -20 °C como *cepas de reserva*, de forma que a partir de estos viales se pueden preparar nuevas placas Petri con cultivo madre.

Los cultivos necesarios para llevar a cabo los ensayos se obtuvieron a partir del cultivo madre con 2 días de antelación antes de los experimentos. Para ello, se tomaba una colonia del cultivo sólido en placa Petri conservado a 4 °C y se inoculaba en 5 mL de medio de cultivo líquido estéril para obtener un *pre-cultivo*. Tras 24 h en agitación (100 r.p.m.) a 37 °C, 2 mL de este *pre-cultivo* se inoculaban en 200 mL de medio de cultivo líquido estéril y se mantenía 24 h más en agitación a 37 °C. La *suspensión bacteriana* obtenida se repartió en 4 viales de 50 mL los cuáles se centrifugaron a 3500 r.p.m. durante 25 min para separar la bacteria del medio de cultivo. El medio fue decantado y el pellet de cada vial resuspendido en 5 mL de agua desionizada o agua residual sintética. Este paso se repitió dos veces más para asegurar que el medio líquido era eliminado por completo, obteniendo finalmente 2 viales de 5 mL conteniendo la *solución bacteriana stock* a partir de la cuál se llevaron a cabo los ensayos. La concentración nominal de bacterias de esta suspensión es del orden de 10^9 - 10^{10} UFC (Unidades Formadoras de Colonias) mL⁻¹.

3.4.4. Microscopía óptica.

Esta técnica permite obtener imágenes de las células para la posterior cuantificación del tamaño de las células. En primer lugar se tomaron 5 µL de la *solución bacteriana stock* para ser visualizadas en un microscopio invertido modelo IX70 (*Olympus*) operando en modo contraste para la captura de las imágenes. Las imágenes fueron importadas a un programa de procesamiento de imágenes *SimplePCI* (*Precision Instruments, Inc.*) obteniendo datos del tamaño (µm) de cada bacteria.

3.4.5. Movilidad electroforética y potencial zeta.

Al igual que en el caso del catalizador, esta técnica permite obtener datos cuantitativos de la carga superficial de las bacterias. También puede dar idea de las características que debería presentar el catalizador para que la adhesión a éste se vea favorecida. Además permite detectar diferencias entre distintos tipos de bacterias.

En este caso, dicha caracterización también se llevó a cabo en un ZetaPALS (*Brookhaven Instruments Corporation*). La EPM de ambas cepas bacterianas se determinó diluyendo la *solución bacteriana stock* previamente obtenida hasta una densidad óptica de ~ 0,2 medida a

546 nm en un espectrofotómetro modelo *BioSpec-mini* (Shimadzu Corp.), correspondiente a una concentración inicial de bacteria de $\sim 2 \times 10^8$ UFC mL⁻¹.

Estos ensayos se llevaron a cabo en los laboratorios del Departamento de Ingeniería Química y Ambiental de la Universidad de California en Riverside (EE.UU.) bajo la supervisión de la Dra. Sharon Walker.

3.4.6. Valoración potenciométrica.

Esta técnica permite obtener información sobre la identificación y concentración de los grupos funcionales presentes en la pared celular de la bacteria (grupos carboxilo, fosfato, amino e hidroxilo) así como determinar la densidad de carga superficial y acidez relativa de la pared celular bacteriana. También permite establecer diferencias entre distintos tipos de bacterias.

La preparación de la muestra consistió en la dilución de 2 y 4 mL de la *solución bacteriana stock* para *E.coli* y *E.faecalis* respectivamente en 50 mL de agua desionizada o residual sintética, previamente desgasificada mediante purga con nitrógeno durante 1 h, correspondiendo a valores de concentración de $\sim 2 \times 10^9$ UFC mL⁻¹. A continuación el valor de pH de la solución se redujo a un valor de 4 con HCl 0,1 N para comenzar la medida.

Las valoraciones potenciométricas fueron realizadas utilizando un valorador modelo 794 *Basic Titrino* (Metrohm). Dichas medidas se llevaron a cabo en un rango de pH entre 4 y 10 añadiendo NaOH 0,1 N. Durante toda la valoración la muestra fue agitada y burbujeada con nitrógeno gas. La densidad de carga superficial y acidez relativa se determinaron a partir de la cantidad de NaOH consumida durante la valoración entre un rango de pH de 4 a 10 y aplicando posteriormente las ecuaciones 3.1 y 3.2 respectivamente.

$$\text{Densidad de carga } (\mu\text{C cm}^{-2}) = \frac{V_{\text{NaOH}} (\text{mL}) \cdot C_{\text{NaOH}} (\text{M}) \cdot F (\mu\text{C mmol}^{-1})}{V_{\text{muestra}} (\text{mL}) \cdot C_{\text{Bacteria}} (\text{UFC mL}^{-1}) \cdot A_{\text{Bacteria}} (\text{cm}^2 \text{ UFC}^{-1})} \quad (3.1)$$

$$\text{Acidez (meq } 10^8 \text{CFU}^{-1}) = \frac{V_{\text{NaOH}} (\text{mL}) \cdot C_{\text{NaOH}} (\text{M})}{V_{\text{muestra}} (\text{mL}) \cdot C_{\text{Bacteria}} (\text{UFC mL}^{-1})} \cdot 10^8 \quad (3.2)$$

dónde V_{NaOH} es el volumen de disolución consumido en la valoración, C_{NaOH} su concentración, $V_{muestra}$ es el volumen de muestra valorado, $C_{Bacteria}$ su concentración en bacterias, $A_{Bacteria}$ el área superficial de una célula bacteriana estimada partir de las dimensiones calculadas por microscopía y F la constante de Faraday ($9,6485 \cdot 10^7 \mu C \text{ mmol}^{-1}$).

Por otra parte, los datos obtenidos se importaron al software *FITEQL4*, que ajusta las curvas de valoración potenciométrica con las constantes de disociación (pK_a) de los principales grupos funcionales (carboxilo, fosfato, amino e hidroxilo) permitiendo cuantificar la especiación química de la superficie celular a partir de la concentración de protones correspondiente a cada grupo funcional identificado [157, 158].

Estos ensayos se llevaron a cabo en los laboratorios del Departamento de Ingeniería Química y Ambiental de la Universidad de California en Riverside (EE.UU.) bajo la supervisión de la Dra. Sharon Walker.

3.4.7. Hidrofobicidad.

Estos ensayos permiten obtener datos cuantitativos del carácter más o menos hidrófobo de las bacterias e indirectamente de su mayor o menor carga superficial. También puede dar idea de las características que debería presentar el catalizador para que su adhesión a éste se vea favorecida. La hidrofobicidad de ambas cepas se cuantificó mediante el test de adhesión a hidrocarburos (*MATH, microbial adhesion to hydrocarbon*). Es un test de reparto de las células entre la suspensión (agua desionizada o agua residual sintética) y el n-dodecano [157]. Las muestras se prepararon transfiriendo 4 mL de la *solución bacteriana stock diluida* a tres viales y añadiendo seguidamente 1 mL de n-dodecano. A continuación se agitaron durante 2 min y tras 15 min de reposo para que tuviera lugar la separación de las fases se midió la absorbancia de la fase acuosa de cada vial a 546 nm en un espectrofotómetro modelo *BioSpec-mini (Shimadzu Corp.)*. La medida de hidrofobicidad relativa se da como porcentaje de células presentes en la fase no acuosa correspondiente al n-dodecano.

Estos ensayos se llevaron a cabo en los laboratorios del Departamento de Ingeniería Química y Ambiental de la Universidad de California en Riverside (EE.UU.) bajo la supervisión de la Dra. Sharon Walker.

3.4.8. Sustancias poliméricas extracelulares.

La determinación de las sustancias poliméricas extracelulares (*EPS*, *extrapolymeric substances*) permite cuantificar el contenido en proteínas y azúcares presente en las formas de resistencia desarrolladas por las bacterias en respuesta a una condición de estrés, en este caso en respuesta al tratamiento con ultrasonidos. Puesto que estas estructuras pueden favorecer la adhesión a sustratos así como con otras especies alrededor, su presencia o ausencia podría influir notablemente en la adhesión de la bacteria al catalizador.

La preparación de la muestra consistió en tomar 5 mL de la *solución bacteriana stock*, añadir 10 mL de una solución de formaldehído al 0,22 % y NaCl al 8,5 % y conservar a 4 °C durante 2-4 h. A continuación, esta suspensión se centrifugó a 3.700 g durante 15 min a 4 °C para concentrar el material celular y el pellet resultante se resuspendió en 10 mL agua desionizada. Este paso se repitió una vez más, sometiendo el pellet resuspendido en 10 mL de agua desionizada a 3 min de sonicación. Finalmente la suspensión se centrifugó y se decantó el sobrenadante. El pellet resultante se conservó a -80 °C durante al menos 15 min. A continuación se liofilizó la muestra durante 6 h y se resuspendió en 40 mL de agua desionizada. Finalmente se procedió a la determinación del análisis composicional del EPS.

El análisis de proteínas se realizó de acuerdo al método de *Lowry* [157]. Se añadieron 1,5 mL de cobre en medio alcalino (preparado añadiendo 1 mL de $\text{Na}_2\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6$ al 2 %, 1 mL de CuSO_4 al 1 %, y 98 mL de NaCO_3 al 2 % en NaOH 0,1 M) a 0,3 mL de la suspensión de EPS. Tras 10 min a temperatura ambiente, se añadieron 75 μL del reactivo de Folin-Ciocalteu para fenoles (ácido fosfomolibdotúngstico), que se reduce por medio de los grupos fenol presentes en la proteína a un complejo coloreado. La densidad óptica de las muestras se midió tras 30 min a temperatura ambiente a 500 nm en un espectrofotómetro modelo *BioSpec-mini* (*Shimadzu Corp.*) y se obtuvo la concentración de las mismas a partir de una recta de calibración con suero de albúmina bovina (*BSA*, *bovine serum albumin*).

El análisis de azúcares se realizó mediante el método *fenol-ácido sulfúrico* (*PSA*, *phenol-sulfuric acid*) [157]. Se añadieron 50 μL de fenol al 80 % (v/v), y 5 mL de ácido sulfúrico al 95,5 % a 2 mL de la suspensión de EPS. Esta mezcla se dejó reposar 10 min a temperatura ambiente de forma que el ácido sulfúrico, el fenol y las moléculas de azúcar liberaban calor, dando lugar a un cambio de color de la muestra. A continuación las muestras se agitaron durante 20 min y se dejaron reposar 4 h para permitir que el color se estabilizase. La densidad óptica de las muestras se midió a 488 nm en un espectrofotómetro modelo *BioSpec-mini*

(*Shimadzu Corp.*) y se obtuvo la concentración de las mismas a partir de una recta de calibración con goma xantana (*xanthan gum*).

Estos ensayos se llevaron a cabo en los laboratorios del Departamento de Ingeniería Química y Ambiental de la Universidad de California en Riverside (EE.UU.) bajo la supervisión de la Dra. Sharon Walker.

3.4.9. Ensayos de permeabilidad de la membrana por epifluorescencia.

El estado fisiológico de la bacteria fue examinado a través de un ensayo de permeabilidad de la pared celular de la bacteria durante experimentos fotocatalíticos para determinar el mecanismo de inactivación bacteriana. También se utilizó con catalizador en suspensión e inmovilizado en anillos Raschig para determinar posibles diferencias en el mecanismo de inactivación bacteriana como consecuencia de una diferente configuración del catalizador en el reactor fotocatalítico.

Se utilizaron dos compuestos que actúan con agentes intercalantes del ADN fijándose al ácido nucleico de la bacteria: 4,6-diamidino-2-fenilindol dihidrocloruro (*DAPI*, *diamino phenylindole*) y yoduro de propidio (*PI*, *propidium iodide*). DAPI se utiliza como marcador del ADN bacteriano pues se fija al ADN de todas las bacterias (viables y no viables) ya que es capaz de atravesar la membrana celular incluso no estando ésta dañada. Por el contrario, el PI es un indicador del estado de la membrana ya que no puede atravesarla a menos que haya sido dañada. En caso de que la membrana celular haya sido dañada, el PI entra a la célula y se une a los ácidos nucleicos de la misma [159, 160]. Por tanto, la combinación de ambos compuestos aporta información acerca de la integridad de la membrana celular y por tanto del estado fisiológico de las mismas, identificándose las células DAPI+ e IP- como células viables y las células DAPI+ e IP+ como células no viables.

La disolución stock de DAPI (*Sigma*) se preparó añadiendo 5 mg de DAPI en 5 mL de agua desionizada estéril (1 mg mL^{-1}), y 0,5 mL de glutaraldehído al 2,5 %. La disolución stock de PI se preparó añadiendo 25 mg de PI (*Sigma*) en 25 mL de agua desionizada estéril (1 mg mL^{-1}). Ambas disoluciones se conservaron a 4 °C en oscuridad.

Para realizar los ensayos, se añadió un volumen de 80 μL de cada una de las disoluciones stock de DAPI y PI a 4 mL de muestra, se mantuvo en oscuridad durante 10 min a temperatura ambiente y se filtró en filtros negros de policarbonato de 0,22 μm . Los filtros se colocaron en portas y se cubrieron para ser visualizados con aceite de inmersión en un

objetivo x100 en un microscopio modelo *4000B (Leica DMI)* equipado con un equipo de fluorescencia modelo *ebq-100mc-L* y una cámara digital modelo *Power Shot S80 (Canon)*. Se eligieron tres zonas representativas del filtro, tomando dos imágenes en cada una de ellas usando un filtro con excitación a 340-380 nm y supresión a 425 nm, y un filtro con excitación a 515-560 nm y supresión a 590 nm para visualizar células teñidas con DAPI y PI respectivamente. El recuento de las células se llevó a cabo con un software procesador de imágenes (*ImageJ 1.42*).

Estos experimentos se llevaron a cabo con la colaboración de la Dra. Natalia González Benítez del Departamento de Biología y Geología de la Universidad Rey Juan Carlos.

3.5. Ensayos actinométricos.

La determinación de la potencia de irradiación incidente en los reactores fotocatalíticos utilizados se ha realizado mediante la utilización de ferrioxalato potásico como disolución actinométrica siguiendo el protocolo estándar utilizado para este tipo de determinaciones [161, 162]. La disolución actinométrica, con una concentración 0,006 M, consiste en la mezcla de Fe^{3+} en forma de sulfato férrico ($1,47 \text{ g L}^{-1}$) y de ácido oxálico ($2,269 \text{ g L}^{-1}$) en 100 mL de ácido sulfúrico 1N. Para realizar los ensayos, esta disolución se carga en el depósito de la instalación de reacción, comenzando el experimento una vez que la lámpara ha sido encendida en el exterior con 15 min de antelación para estabilizar su emisión. La absorción de fotones por parte de la disolución produce la reducción de Fe^{3+} a Fe^{2+} con un valor de rendimiento cuántico conocido de 1,21. Para analizar la velocidad de la reacción se tomaron muestras a intervalos regulares de tiempo, realizándose el análisis de la concentración de Fe^{2+} formado mediante un método colorimétrico basado en la formación de un complejo coloreado por reacción con 1,10-fenantrolina. Para ello, a 0,25 mL de muestra se le añadían 2,5 mL de disolución tampón, 6,25 mL de H_2O y 1 mL de 1,10-fenantrolina, se mantenía en oscuridad durante 30 min y posteriormente se medía su absorbancia a 510 nm con un espectrofotómetro modelo *Libra S22 (Biochrom.)*, obteniéndose la concentración de Fe^{2+} a partir de una recta de calibrado con patrones de concentración conocida. La representación de la cantidad de Fe^{2+} formada en función del tiempo de reacción conduce a una línea recta cuya pendiente dividida por el rendimiento cuántico de la reacción corresponde a la potencia de radiación incidente en moles de fotones (Einstein) por unidad de tiempo.

3.6. Ensayos fotocatalíticos de inactivación bacteriana.

La preparación de las suspensiones bacterianas utilizadas en los ensayos de inactivación se realizó a partir de la *solución bacteriana stock* preparada según el procedimiento descrito en el apartado 3.4.3. Los ensayos realizados con concentraciones iniciales de bacteria en el orden de 10^6 UFC mL⁻¹ se prepararon diluyendo 1 mL de dicha solución en 1 L del agua a tratar, ya sea agua desionizada (AD), agua residual sintética (ARS) preparada según el procedimiento descrito en el apartado 3.3.4 o aguas con una composición específica. La preparación de suspensiones con concentraciones bacterianas inferiores se realizó mediante diluciones decimales seriadas de la *solución bacteriana stock*.

Una vez cargada la suspensión bacteriana en el depósito de la instalación de reacción, se conectaba la bomba de recirculación. Para los experimentos con catalizador en suspensión, éste se añadía también al depósito. En todos los casos, la suspensión se dejaba 15 min recirculando en el sistema para su homogeneización, mientras que la lámpara se encendía fuera del reactor para estabilizar su emisión antes de comenzar el experimento. Durante estos 15 minutos, así como en el transcurso de la reacción, el depósito y el reactor se mantenían tapados con una manta negra para evitar la influencia de fuentes externas de radiación.

El seguimiento de la inactivación bacteriana se realizó analizando la concentración de bacterias viable en las muestras tomadas durante la reacción. La cuantificación se llevaba a cabo mediante un procedimiento estándar de diluciones decimales seriadas esquematizado en la Figura 3.10.

Para cada muestra se sembraron 8 gotas de 10 µL de cada dilución decimal (d_0 , d_1 , d_2 y d_3) en placas de Petri con *Agar LB* y se incubaban a 37 °C durante 24 h. En aquellos experimentos con mezclas de *E.coli* y *E.faecalis* se utilizaron dos medios de cultivo selectivo, *Colinstant Chromogenic Agar* y *Slanetz & Bartley Agar*, para *E.coli* y *E.faecalis* respectivamente. Para tiempos de irradiación elevados en los que la concentración de bacterias viables era muy baja, se sembraron también mayores volúmenes de la muestra de reacción sin diluir (100 µL, d_{-1} y 1 mL, d_{-2}), con lo que el límite de detección bacteriana alcanzado fue de 1 UFC mL⁻¹.

Transcurridas las 24 horas de incubación, se procedió al recuento manual de colonias con ayuda de una lupa como se muestra en la Figura 3.11. Los valores finales de concentración bacteriana en las muestras se obtuvieron a través del tratamiento estadístico de los datos de

recuento, obteniendo el valor promedio de las 8 gotas sembradas de aquella dilución que presentaba entre 20 y 200 colonias y el error a través del intervalo de confianza al 95 %.

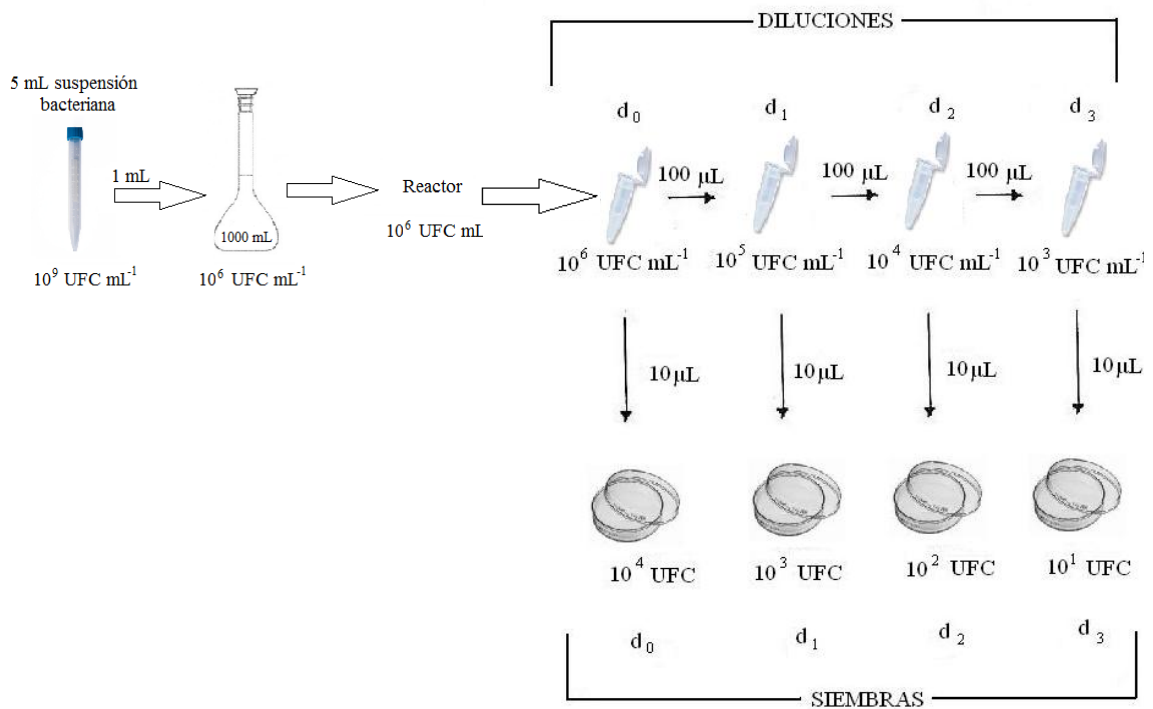


Figura 3.10. Esquema de diluciones decimales seriadas utilizado en el seguimiento de los experimentos de inactivación bacteriana.

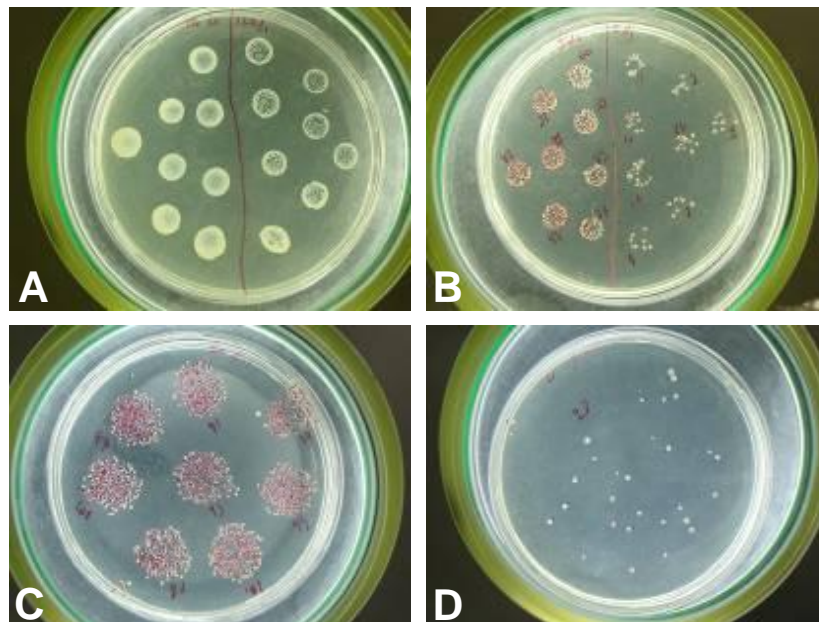


Figura 3.11. Recuento en placa de colonias de *Escherichia coli* a diferentes diluciones: d₀ y d₁ (A), d₂ y d₃ (B), d₁ (C) y d₂ (D).

3.7. Ensayos de fotocatalíticos de oxidación de contaminantes químicos.

3.7.1. Azul de metileno.

Los ensayos fotocatalíticos de degradación de azul de metileno se llevaron a cabo con el objetivo de determinar si los resultados fotocatalíticos de inactivación bacteriana siguen el mismo comportamiento que la oxidación de un contaminante orgánico y por tanto, los resultados obtenidos con contaminantes químicos pueden extrapolarse a resultados de eficacia fotocatalítica de desinfección. La concentración inicial utilizada fue de 20 μM , siguiéndose la evolución del mismo durante la reacción colorimétricamente a través del descenso en la absorbancia de las muestras a 664 nm, utilizando un espectrofotómetro modelo *Libra S22* (*Biochrom.*). En el caso de los ensayos realizados con catalizador en suspensión, este se retiraba antes de la medición mediante centrifugación a 3.500 r.p.m. durante 30 min.

3.7.2. Metanol / formaldehído.

Este compuesto se utilizó para llevar a cabo el estudio comparativo de la degradación de un contaminante químico que, a diferencia del azul de metileno, no presenta absorción en el intervalo UV-A/visible usado en los experimentos fotocatalíticos, estando su mecanismo de degradación claramente asociado al consumo de los radicales hidroxilo generados en la superficie del catalizador. Según el mecanismo de reacción aceptado [163,164], la reacción de oxidación de metanol da lugar a la formación cuantitativa de formaldehído, por lo que la eficacia de la reacción se determinó a partir de la velocidad de formación de formaldehído medida por el método de *Nash* [164]. Este método se basa en la reacción de formaldehído con acetilacetona y fosfato amónico para formar un producto coloreado con un máximo de absorción a 412 nm, medida tras 60 min a 25 °C. El análisis se llevó a cabo mediante la adición de 1,5 mL de una disolución tampón de fosfato amónico 0,18 M (pH = 6,0) a 1,5 mL de muestra. A continuación se añadían 30 μL de acetilacetona, se agitaba y se dejaba reposar a 25° C el tiempo fijado en oscuridad. La determinación del compuesto formado se realizó en un espectrofotómetro modelo *Libra S22* (*Biochrom.*). Para determinar la velocidad de formación de formaldehído a partir de la oxidación fotocatalítica del metanol se utilizó éste en 3 concentraciones iniciales diferentes: 0,01; 0,1 y 1 M.

3.7.3. Fármacos.

Finalmente, para llevar a cabo los ensayos de inactivación bacteriana y degradación simultánea de contaminantes emergentes, se seleccionaron varios fármacos correspondientes a diferentes familias presentes habitualmente en aguas naturales y residuales [165]: i) 4-acetamidoantipirina (4-AAA) (medicamento anti-inflamatorio no esteroideos, AINE); ii) hidroclorotiazida (HCTZ) (medicamento cardiovascular); iii) sulfametoxazol (SMX) (antibiótico); y iv) diclofenaco (DCF) (AINE). Para realizar los experimentos se preparó una mezcla de todos los compuestos, siendo la concentración inicial de cada uno de $20 \mu\text{g L}^{-1}$.

Para determinar la evolución de la concentración de estos compuestos a lo largo de la reacción se utilizó un cromatografo de líquidos acoplado con espectrómetro de masas de triple cuádruplo (LC-MS/MS), modelo *Varian 325*, equipado con un interfaz de ionización por electrospray (*vESI, vortex electrospray ionization interface*) y una columna *Pursuit XRs Ultra 2.8 C18* $100 \times 2,0$ mm. La fase móvil consistió en una solución tampón de agua con ácido fórmico y su sal de amonio (fase móvil A) y methanol (fase móvil B) con el siguiente gradiente: 0 min 95 % A; 0,10 min 70 % A; 5 min 55 % A; 9 min 5 % A; 11:01 min 95% A mantenida durante 6 minutos con un caudal de $250 \mu\text{L min}^{-1}$. Los potenciales de ionización usados para la ionización de cada compuesto fueron: i) 30 V para 4-AAA; ii) -128 V para HCTZ; y iii) 40 V para SMX y DCF. La especificidad de las transiciones precursor \rightarrow producto junto con la correspondiente energía de colisión en el cuadrupolo 2 ($Q2$) (entre paréntesis) que se utilizaron para la identificación y cuantificación de cada fármaco fueron: i) $246,0 \rightarrow 228,0$ (12 V) y $246,0 \rightarrow 83,0$ (22 V) para 4-AAA; ii) $295,7 \rightarrow 268,5$ (18,5 V) y $295,7 \rightarrow 204,5$ (22,5 V) para HCTZ; iii) $254,0 \rightarrow 92,0$ (24 V) y $254,0 \rightarrow 156$ (16 V) para SMX; y iv) $296,0 \rightarrow 214,0$ (32 V) y $296,0 \rightarrow 250,0$ (12 V) para DCF.

3.8. Ensayos de adhesión.

Los experimentos de adhesión permitieron obtener información sobre la influencia de la composición química del agua sobre el contacto bacteria-catalizador, así como las condiciones en las que dicho contacto pudiera verse favorecido, por ejemplo entre tipos de bacteria con diferente estructura celular (*E.coli* y *E.faecalis*) o distintos tipos de reactores fotocatalíticos (de pared o de lecho fijo).

Los experimentos de adhesión se llevaron a cabo mediante el flujo de una suspensión bacteriana a través de los sistemas fotocatalíticos con TiO_2 inmovilizado, utilizando un caudal de $0,025 \text{ L min}^{-1}$. El volumen vacío de cada reactor disponible para el fluido es de 0,121 y 0,189 L para el reactor de lecho fijo y de pared catalítica respectivamente. A diferencia de los experimentos fotocatalíticos en el reactor de lecho fijo y de pared en los que el tiempo de residencia es de 4,5 s, en este caso los tiempos de residencia en cada sistema son de 5 min en el reactor de lecho fijo y de 7,5 min en el reactor de pared catalítica.

Los ensayos se realizaron partiendo de una concentración inicial de bacterias de $\sim 10^8 \text{ UFC mL}^{-1}$, preparada tomando 2 y 9 mL para *E.coli* y *E.faecalis* de la *solución bacteriana stock* descrita en el apartado 3.4.3. Esta suspensión bacteriana fue bombeada a través del reactor durante un tiempo equivalente a 6 veces el tiempo de residencia. Después, la suspensión de entrada al reactor se cambió por una suspensión libre de bacteria con una matriz de igual composición química. La salida del reactor se encuentra conectada a un espectrofotómetro modelo 8453 (*Hewlett-Packard*) para medir en continuo la absorbancia a 546 nm en intervalos de cada 13 s, obteniéndose las correspondientes curvas de rotura [166]. Los experimentos se realizaron en agua desionizada y agua residual sintética. Previamente a los experimentos de adhesión con bacterias, se llevaron a cabo experimentos de control con un compuesto trazador de adsorción despreciable en el sistema para obtener curvas de rotura en las que la adhesión es nula. Para ello se preparó una suspensión de KNO_3 0,01 M que se bombeó al reactor y los valores de absorbancia fueron registrados a 248 nm. El desplazamiento temporal de las curvas de rotura de los experimentos con bacterias respecto de las curvas del trazador permite determinar la adhesión de las bacterias sobre el sistema catalítico.

Estos experimentos se llevaron a cabo en los laboratorios del Departamento de Ingeniería Química y Ambiental de la Universidad de California en Riverside (EE.UU.) bajo la supervisión de la Dra. Sharon Walker.

CAPÍTULO 4: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

4.1. Inactivación fotocatalítica bacteriana: Aspectos generales.

4.1.1. Mecanismo de inactivación fotocatalítica bacteriana.

La Figura 4.1 muestra el perfil típico obtenido durante experimentos fotocatalíticos de inactivación bacteriana.

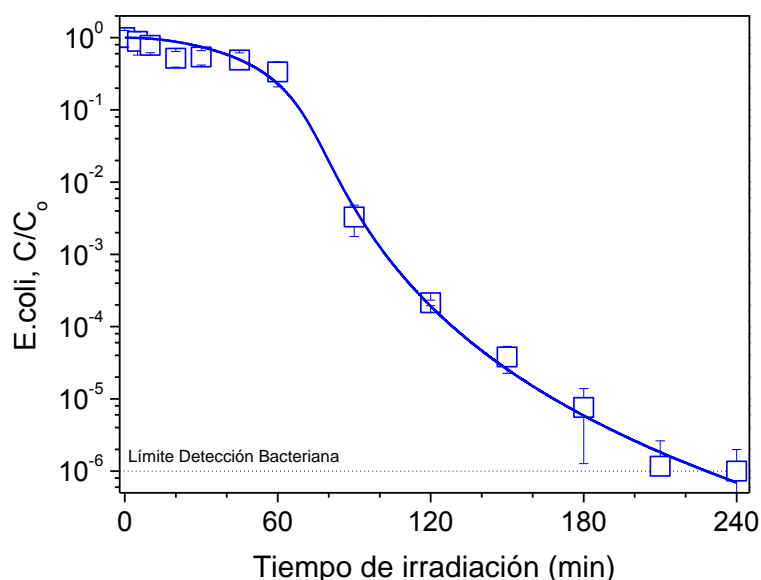


Figura 4.1. Evolución de unidades formadoras de colonias (UFC) durante un experimento fotocatalítico de inactivación de *E. coli* en agua residual sintética (ARS). Concentración de TiO_2 (P25 *Degussa*): $0,1 \text{ g L}^{-1}$. Potencia de irradiación: $2,77 \times 10^{-6} \text{ Einstein s}^{-1}$. Barras de error calculadas a partir de ocho recuentos independientes. Curva calculada usando el modelo cinético representado por las ecuaciones 4.8 y 4.9.

De acuerdo con los resultados observados por otros autores [97, 112, 114, 119, 123], se observan tres zonas claramente diferenciadas. Primero, se observa un retraso inicial al principio de la reacción, denominado “hombro”, pudiendo llevar a la conclusión de que un corto periodo de irradiación no da lugar a un descenso en el número de bacterias viables. La razón de este aparente retraso está relacionada con la resistencia de la bacteria a un alto

número de ataques de especies oxidantes sobre la membrana celular antes de ser irreversiblemente inactivada. En la segunda zona de la curva se observa un descenso logarítmico de primer orden de la concentración de bacterias viables, indicativo de que se ha alcanzado un número suficiente de ataques sucesivos de los $\cdot\text{OH}$ necesarios para producir daños irreversibles en las células. La tercera zona de la curva de inactivación corresponde a una deceleración del proceso al final de la reacción, denominado “cola”. Esta zona tiene lugar debido a la competencia de compuestos orgánicos e inorgánicos liberados como consecuencia de la lisis celular con las bacterias aún viables por los radicales hidroxilo.

Este mecanismo de inactivación bacteriana basado en daños a la pared celular de la bacteria como consecuencia de ataques sucesivos de los radicales hidroxilo y otras especies oxidantes (ROS), que dan lugar a la lisis celular y por tanto a la salida de constituyentes intracelulares al exterior [26, 38, 60, 96, 111, 112, 134, 167] es el más aceptado. Varios grupos de investigación han obtenido evidencias de estos daños usando una amplia variedad de técnicas como espectroscopía infraroja transformada de Fourier (*ATR-FTIR*) y microscopía de fuerza atómica (*AFM*) para observar tanto cambios morfológicos en la célula [167] como la formación de subproductos de peroxidación resultantes de los daños a la membrana celular [168]; electroforesis [169] para seguir las proteínas y el ensayo o-nitrofenil- β -D-galactósido (*ONPG*) [96] para detectar enzimas; espectroscopía de emisión atómica en plasma de acoplamiento inductivo de plasma (*ICP-AES*) [170] para monitorizar la fuga de iones Ca^{2+} y Mg^{2+} del interior celular y microscopía electrónica de barrido (*SEM*) para observar cambios morfológicos en la membrana celular [149, 170]. Un método directo para confirmar los daños a la membrana celular es el uso de ensayos de permeabilidad de la membrana seguidos por microscopía de epifluorescencia utilizados para determinar el estado fisiológico de la bacteria [149, 159, 160].

Con este objetivo se han utilizado dos tintes fluorescentes que se unen específicamente al ADN bacteriano según el procedimiento descrito en el apartado 3.4.9. El 4,6-diamidino-2-fenilindol dihidrocloruro (DAPI) se une al ADN de todas las bacterias ya que es capaz de atravesar membranas celulares no dañadas mientras que el yoduro de propidio (PI) se une sólo al ADN de aquellas bacterias cuya membrana celular está dañada. La Figura 4. muestra la evolución de la inactivación fotocatalítica de *E.coli* seguida por microscopía de epifluorescencia tras la tinción con DAPI/PI de las muestras. Bajo excitación UV las células

teñidas con DAPI aparecen de color azul fluorescente mientras que las células teñidas con DAPI/PI aparecen rojo fluorescente. Puesto que el DAPI es capaz de atravesar membranas celulares dañadas y no dañadas mientras que el PI solo atraviesa membranas dañadas, la evolución de la integridad de la membrana bacteriana puede ser seguida fácilmente durante la reacción a través de la proporción entre células rojas y azules cuantificadas con la ayuda de un procesador de imágenes. Como se observa en la Figura 4., el número de células rojas aumenta durante la reacción, confirmando el aumento en la permeabilidad de la membrana producida a consecuencia de la acumulación de daños debido a sucesivos ataques de los radicales hidroxilo.

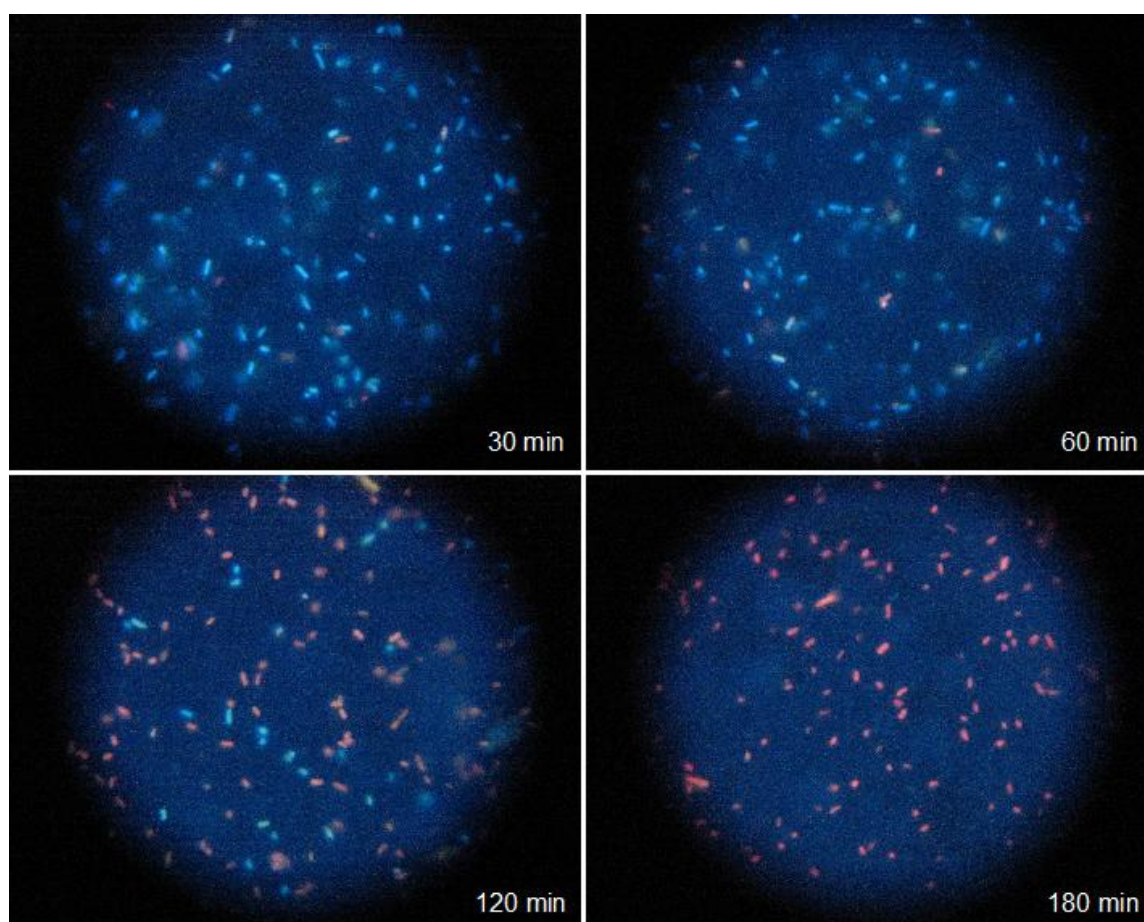


Figura 4.2. Imágenes de microscopía de epifluorescencia tomadas bajo excitación UV tras la tinción con tintes DAPI/PI de las muestras tomadas a partir de un experimento fotocatalítico de inactivación de *E.coli*. Concentración de TiO_2 (P25 *Degussa*): $0,1 \text{ g L}^{-1}$. Potencia de irradiación: $2,77 \times 10^{-6} \text{ Einstein s}^{-1}$. Matriz: agua residual sintética (ARS).

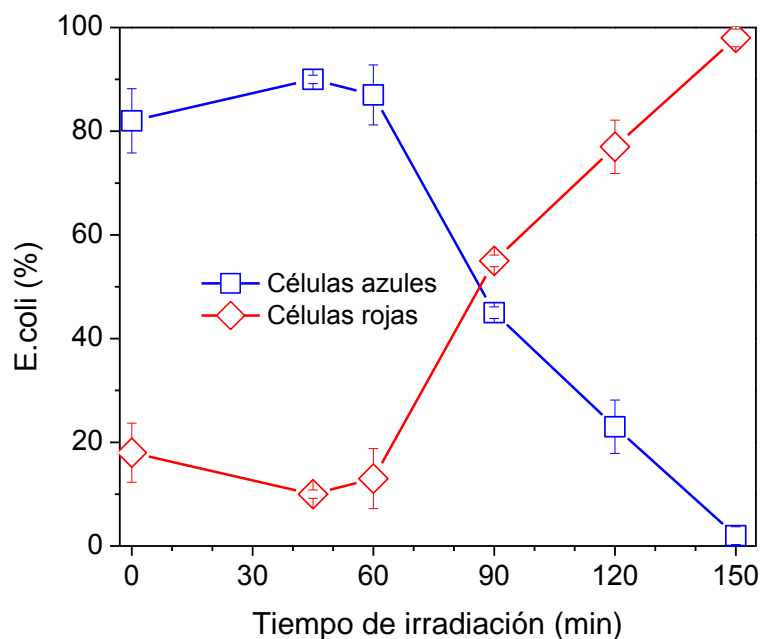


Figura 4.3. Resultados cuantitativos del ensayo de permeabilidad DAPI/PI de un experimento fotocatalítico de inactivación de *E. coli* en agua residual sintética (ARS). Concentración de TiO_2 (P25 Degussa): $0,1 \text{ g L}^{-1}$. Potencia de irradiación: $2,77 \times 10^{-6} \text{ Einstein s}^{-1}$. Valores determinados a través del procesamiento automático de imágenes utilizando el programa *ImageJ 1.42*. Barras de error calculadas a partir de tres imágenes independientes.

Estos resultados pueden considerarse complementarios a la cuantificación de unidades formadoras de colonia (UFC) crecidas en placas Petri con medio de cultivo, es decir, bacterias viables (Figura 4.). Se puede observar que tanto la curva de la evolución de bacteria viables con el tiempo de irradiación (Figura 4.) como la curva de células azules no dañadas (puesto que las dañadas aparecen de color rojo al estar teñidas con PI) (Figura 4.) siguen tendencias similares. Esto indica que las células con membranas dañadas son dañadas irreversiblemente y no son capaces de crecer. Aunque ambos métodos ofrecen resultados similares aparentemente, la técnica de microscopía de epifluorescencia tras tinción DAPI/PI ofrece la ventaja de obtener información sobre el mecanismo de inactivación fotocatalítica bacteriana en tiempos relativamente cortos, sin necesidad de una incubación durante 24 h. Sin embargo, la sensibilidad de este método para la cuantificación de bacterias no es muy elevada. A diferencia de la microscopía por epifluorescencia, el cultivo en placa permite la cuantificación de bacterias hasta el límite de detección bacteriana (hasta 4 órdenes de magnitud más).

4.1.2. Modelado cinético de la inactivación fotocatalítica de bacterias.

El modelo cinético de desinfección fotocatalítica más utilizado en bibliografía para interpretar los datos experimentales es el de Chick-Watson (ecuación 4.1) [112, 119].

$$\text{Log} \frac{C}{C_0} = -k [c]^n t = -k' t \quad (4.1)$$

dónde C/C_0 es la fracción de bacterias supervivientes; k es la constante cinética de desinfección bacteriana; c es la concentración de agente desinfectante para cada tiempo de reacción, t , y n expresa el orden de la reacción. Puesto que la cantidad de catalizador utilizada y de luz UV-A suministrada es constante, se puede suponer que la concentración de agente desinfectante, es decir, el número de radicales hidroxilo, se mantiene constante. Sin embargo este ajuste no consigue reproducir el tiempo de demora inicial y las colas finales (Figura 4.1). Tampoco lo consiguen las dos versiones de la ecuación de Hom (ecuación 4.2.), que con su parámetro h , sólo permite reproducir el retardo inicial ($h > 1$) o la cola final ($h < 1$) (Figura 4.1) [112, 119].

$$\text{Log} \frac{C}{C_0} = -k' t^h \quad (4.2)$$

Para poder describir simultáneamente la existencia de un hombro y una cola es necesario utilizar ecuaciones con al menos tres parámetros independientes, como por ejemplo la ecuación de Hom modificada (ecuación 4.3) (Figura 4.1):

$$\text{Log} \frac{C}{C_0} = -k_1 [1 - \text{Exp}(-k_2 t)]^{k_3} \quad (4.3)$$

$$k_1 = \left(\frac{m}{n k} \right)^m k' \quad (4.4)$$

$$k_2 = \frac{n k'}{m} \quad (4.5)$$

$$k_3 = m \quad (4.6)$$

dónde m y n son parámetros del modelo que permanecen constantes; k es la constante cinética de reacción y k' es la constante de desactivación del agente desinfectante. La presencia de k_1 permite reproducir la cola final, k_2 ajusta el proceso de inactivación bacteriana en sí mismo y k_3 permite introducir el hombro o demora inicial.

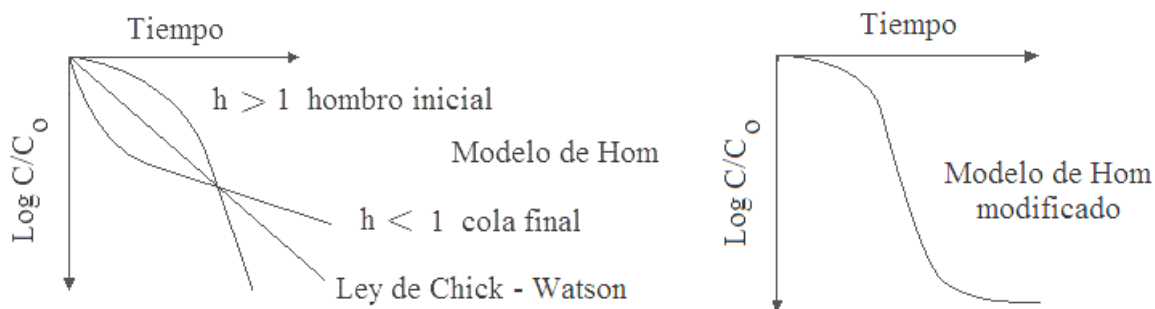
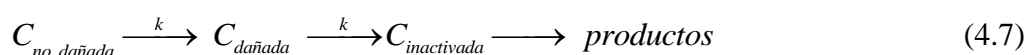


Figura 4.1. Ley de Chick-Watson y sus desviaciones modelables a través del modelo de Hom y de Hom modificado.

Sin embargo, el uso de este tipo de ecuaciones empíricas sólo es útil para ajustar los datos experimentales de inactivación en un gráfico, ya que la falta de significado físico de los parámetros hace difícil la comparación entre diferentes condiciones experimentales o reactores utilizados. Además no es útil para la extrapolación de los resultados fuera de las condiciones e instalaciones ensayadas. Por esta razón, es necesario utilizar un modelo cinético con una base mecánica que de significado físico a los parámetros. En un trabajo previo, Marugán y col. [171] propusieron un modelo cinético de inactivación fotocatalítica asumiendo un mecanismo de reacciones en serie debido a los diferentes estados fisiológicos de la bacteria en diferentes etapas del ataque sucesivo de radicales hidroxilo.



dónde $C_{no\ dañada}$ representa la concentración de bacteria no dañada, $C_{dañada}$ es la concentración de bacteria en todos los niveles intermedios de daño antes de que tenga lugar el daño irreversible o lisis celular; y $C_{inactivada}$ es la concentración de bacteria inactivada (daño irreversible). Las ecuaciones cinéticas que describen la evolución de las especies de bacteria viables son las siguientes:

$$\frac{dC_{no\ dañada}}{dt} = -k \frac{KC_{no\ dañada}^n}{1 + KC_{no\ dañada}^n + KC_{dañada}^n} \quad (4.8)$$

$$\frac{dC_{dañada}}{dt} = k \frac{KC_{no\ dañada}^n - KC_{dañada}^n}{1 + KC_{no\ dañada}^n + KC_{dañada}^n} \quad (4.9)$$

correspondiendo los tres parámetros cinéticos a:

- i) k , la constante cinética que representa la velocidad de reacción de las especies oxidantes (ROS) con la bacteria. Esta constante es el parámetro considerado por la ecuación logarítmica de primer orden de Chick-Watson.
- ii) K , la constante de pseudo-adsorción (o interacción) que representa la interacción bacteria-catalizador. Esta constante es equivalente a la constante de equilibrio de adsorción que aparece en el modelo cinético heterogéneo de Langmuir-Hinshelwood (ecuaciones 2.20 y 2.21). Sin embargo, ya que el tamaño de los microorganismos ($1,26 \pm 0,06 \mu\text{m}$) es mayor que el tamaño medio de los aglomerados de partículas de dióxido de titanio ($480 \pm 43 \text{ nm}$ en agua desionizada, AD; y $693 \pm 170 \text{ nm}$ en agua residual sintética, ARS), esta constante no representa estrictamente un fenómeno de adsorción sino un proceso más general de interacción.
- iii) n , el coeficiente de inhibición, que tiene en cuenta la inhibición producida por la competencia por las especies oxidantes al aumentar la concentración de los productos liberados al medio debido a la lisis celular. Este efecto es especialmente importante al final de la reacción, siendo necesaria la introducción de este coeficiente para ajustar los datos experimentales que dan lugar a formas de “cola”.

La resolución de las ecuaciones 4.8 y 4.9 permite calcular la concentración de bacteria viable ($C_{no\ dañada} + C_{dañada}$). Como puede verse en la Figura 4., la línea continua que representa la concentración de bacteria viable que predice este modelo cinético ajusta satisfactoriamente los datos experimentales de inactivación fotocatalítica. Además, el significado físico de los parámetros cinéticos permite la comparación de resultados realizados en diferentes condiciones experimentales como se observará en resultados posteriores. Por tanto, las líneas de ajuste de los puntos experimentales de las curvas de inactivación mostradas en adelante se ajustarán siguiendo el modelo cinético correspondiente a las ecuaciones 4.8 y 4.9.

Las investigaciones actuales en relación al modelado cinético están orientadas hacia el desarrollo de un modelo cinético intrínseco teniendo en cuenta el efecto de la absorción de radiación de forma explícita. Este tipo de modelo sería completamente independiente de la

configuración del reactor experimental y de las condiciones de operación y por tanto, podría utilizarse con carácter predictivo para llevar a cabo el diseño y cambio de escala de reactores fotocatalíticos [172].

Si se comparan los resultados experimentales de inactivación de *E.coli* con los de oxidación de un compuesto químico como es el azul de metileno (AM) obtenidos bajo las mismas condiciones experimentales se pueden destacar algunas diferencias importantes entre ambos procesos fotocatalíticos (Figura 4.2). Los experimentos de degradación fotocatalítica de contaminantes orgánicos se representan normalmente en una escala lineal y se ajustan fácilmente mediante una cinética de pseudo-primero orden. También podría considerarse que una conversión de un 90 % sería aceptable en muchos casos. Por el contrario, los experimentos de inactivación fotocatalítica de bacterias se representan generalmente en una escala logarítmica, ya que normalmente los datos de inactivación se explican en términos de descenso de órdenes de magnitud o número de unidades logarítmicas.

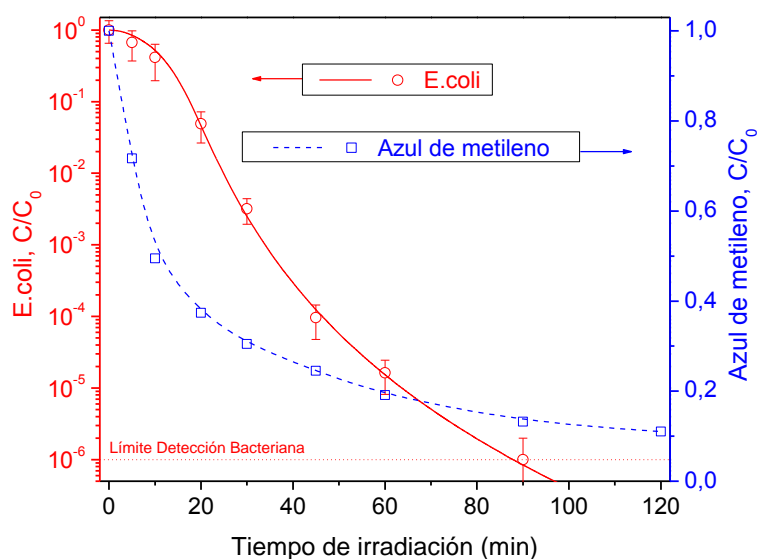


Figura 4.2. Resultados fotocatalíticos experimentales de la inactivación de *E.coli* y la oxidación de azul de metileno (AM). Concentración de TiO_2 : $0,1 \text{ g L}^{-1}$. Potencia de irradiación: $2,77 \times 10^{-6} \text{ Einstein s}^{-1}$. Matriz: agua desionizada (AD).

Por otra parte, la concentración de bacteria referida en forma de unidades formadoras de colonias (UFC) es muy baja en términos de concentración molar. Por ejemplo, la

concentración inicial de bacteria utilizada (10^6 UFC mL⁻¹), corresponde a una concentración molar de $1,66 \times 10^{-17}$ M, casi despreciable en comparación con la concentración inicial del azul de metileno de $2,0 \times 10^{-5}$ M. Sin embargo, en términos de riesgo biológico para humanos, las tecnologías de desinfección deben reducir la concentración de microorganismos por debajo del límite de detección bacteriana (próximo a cero), no siendo válidas conversiones del 90 %, que corresponderían tan sólo a un descenso de un orden de magnitud.

Otra diferencia entre los microorganismos y compuestos químicos orgánicos, que también hace necesario alcanzar valores de conversión más elevados en el caso de la inactivación microbiana, es que mientras que la destrucción de una molécula es irreversible, los microorganismos pueden recrecer tras el periodo de irradiación en caso de que la desinfección no sea completa [97, 99, 100] puesto que en este caso, cuando la irradiación termina, los mecanismos de reparación de la bacteria hacen factible su crecimiento. Además, la bacteria podría estar en un estado no cultivable debido al estrés sufrido por la luz pero tras un periodo de oscuridad, la bacteria podría vencer ese estrés y volver a su estado cultivable [124]. Además, los compuestos orgánicos e inorgánicos liberados tras la lisis celular podrían servir como nutrientes facilitando el crecimiento de la bacteria. En consecuencia, un 90 % de conversión sería inaceptable en experimentos de desinfección, siendo necesario alcanzar conversiones de 99,9999 % (correspondiente a un descenso de 6 órdenes de magnitud) para asegurar una desinfección efectiva y evitar la posibilidad de crecimiento bacteriano de un agua con concentración inicial de 10^6 UFC mL⁻¹.

Respecto a la forma de las curvas mostradas en la Figura 4.2, se puede observar que mientras que la concentración de AM desciende desde el principio (observándose la máxima velocidad de oxidación desde el comienzo de la reacción), la curva de inactivación de *E.coli* muestra una forma más compleja. Esto se debe a que mientras que una modificación de la estructura del compuesto químico orgánico da lugar a su degradación (idealmente un único ataque de un radical hidroxilo), la inactivación del microorganismo requiere de una cierta cantidad de daños acumulados, siendo el número de radicales hidroxilo requerido para la inactivación de una única bacteria del orden de 10^9 [119].

4.2. Sistemas fotocatalíticos en suspensión.

4.2.1. Experimentos no fotocatalíticos de referencia.

Previamente al análisis de los resultados fotocatalíticos, se han llevado a cabo experimentos de referencia para determinar la contribución de cada factor (agitación, catalizador y radiación) por separado a la eficiencia global del proceso de inactivación. Las Figuras 4.6 y 4.7 muestran el efecto de la agitación (en oscuridad y en ausencia de catalizador), de la presencia de partículas de TiO_2 (en oscuridad) y de la radiación UV-A (en ausencia de catalizador) en la viabilidad de *E.coli* en agua desionizada (AD) y agua residual sintética (ARS) respectivamente.

Tras 4 h de oscuridad en AD, no se observa inactivación de *E.coli*. Sin embargo, cuando se introduce la agitación a la suspensión, la concentración de bacteria viable desciende ligeramente. Por el contrario, no se observa inactivación en ARS. Estos resultados parecen coincidir con Sichel y col. [121] que observaron un mayor descenso en la viabilidad de *E.coli* al combinar agitación y agua desionizada en comparación con la reducción de viabilidad observada cuando ambos factores se aplican individualmente. Estos autores sugirieron que la mayor reducción de concentración viable de bacteria es consecuencia de un efecto mecano-osmótico sobre *E.coli* cuando ambas condiciones de estrés se aplican de forma simultánea.

La presencia de partículas de TiO_2 en suspensión da lugar a una reducción de la concentración de bacteria viable de dos órdenes de magnitud en agua desionizada. Por el contrario, cuando el catalizador se encuentra inmovilizado sobre vidrio no se observa inactivación. Esta diferencia entre ambos sistemas ha sido explicada previamente por otros autores que apuntaban hacia el efecto negativo de las partículas de catalizador en la viabilidad de *E.coli* [123]. Sin embargo, hay que tener en cuenta que no se observa inactivación equivalente en ARS a pesar de existir partículas de TiO_2 en la suspensión. Por tanto, las diferencias observadas en la inactivación de *E.coli* entre ambos tipos de agua sugieren que el estrés osmótico al que se ve expuesta la bacteria en agua desionizada debe tenerse en cuenta. Varios autores han señalado que la falta de iones en agua desionizada da lugar a cambios en la permeabilidad de la membrana celular debido a la fuga de iones Ca^{2+} y Mg^{2+} desde la célula hacia la suspensión para compensar el balance entre la suspensión y el interior de la célula [60, 112, 121]. Esto debilitaría la pared celular de la bacteria [132] y podría favorecer la entrada de partículas más pequeñas de TiO_2 al interior de la bacteria, afectando a su viabilidad [123].

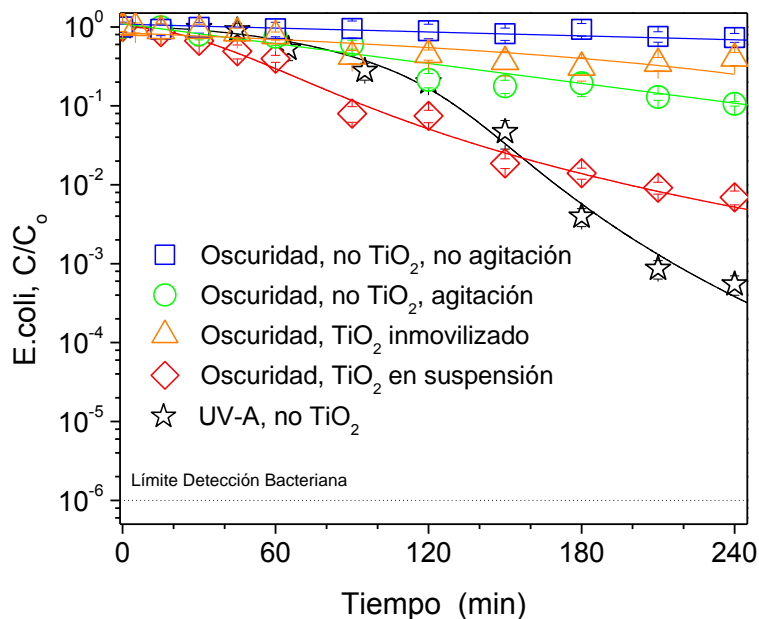


Figura 4.3. Inactivación no fotocatalítica de *E.coli* bajo diferentes condiciones de estrés en agua desionizada (AD). Concentración TiO_2 : $0,1 \text{ g L}^{-1}$. Potencia de irradiación: $2,77 \times 10^{-6} \text{ Einstein s}^{-1}$. Barras de error calculadas a partir de ocho recuentos independientes. Curvas calculadas usando el modelo cinético representado por las ecuaciones 4.8 y 4.9.

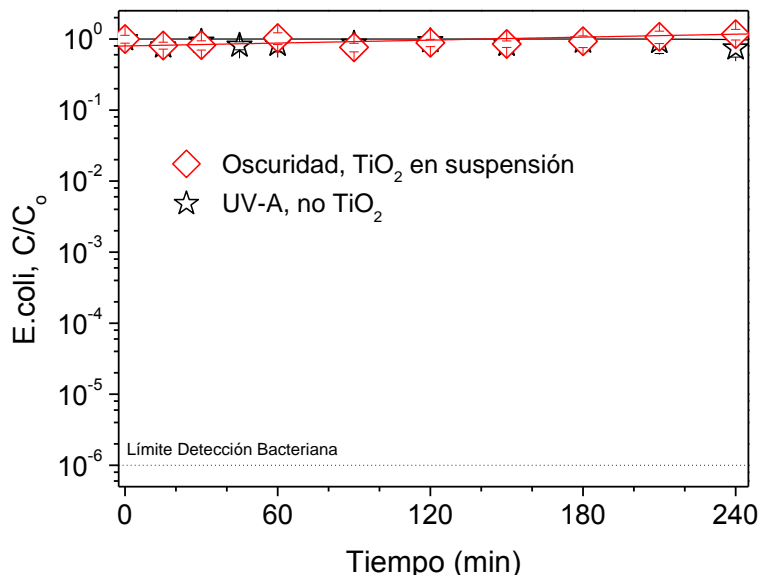


Figura 4.4. Inactivación no fotocatalítica de *E.coli* bajo diferentes condiciones de estrés en agua residual sintética (ARS). Concentración TiO_2 : $0,1 \text{ g L}^{-1}$. Potencia de irradiación: $2,77 \times 10^{-6} \text{ Einstein s}^{-1}$. Barras de error calculadas a partir de ocho recuentos independientes. Curvas calculadas usando el modelo cinético representado por las ecuaciones 4.8 y 4.9.

La luz UV-A da lugar a un descenso de la concentración de bacteria viable de 4 órdenes de magnitud en AD. A pesar de que el mecanismo de inactivación bacteriana debido a la luz UV-A no está muy claro todavía, éste parece estar relacionado con la absorción de luz UV-A por los compuestos intracelulares de la bacteria, dando lugar a la producción interna de especies oxidantes (ROS), responsables de los daños celulares [97, 112, 133, 134]. Sin embargo, tampoco en este caso se observa inactivación de *E.coli* en ARS. Puesto que este tipo de aguas no absorbe radiación en la longitud de onda de interés, esto podría sugerir que el mecanismo de reparación de *E.coli* de este tipo de daños podría llegar a ser ineficiente cuando la bacteria está afectada adicionalmente por estrés osmótico en agua desionizada.

En resumen, estos experimentos de referencia llevan a la conclusión de que la bacteria es resistente a condiciones de estrés individuales (estrés osmótico, mecánico o por radiación). Sin embargo, ésta es muy sensible cuando dos de ellos se combinan, especialmente en soluciones hipotónicas. Estos efectos no se observan en experimentos equivalentes de degradación de contaminantes químicos como el azul de metileno en los que no existe degradación fotolítica o adsorción significativa (Figura 4.5).

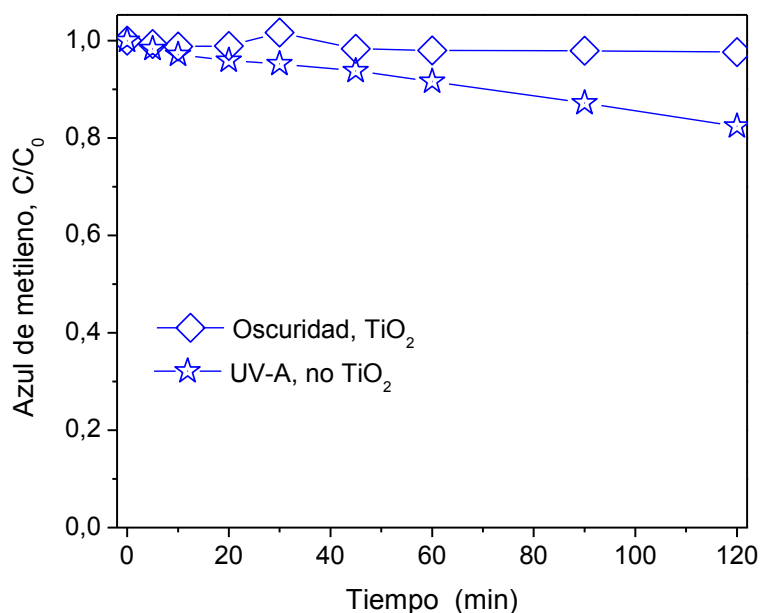


Figura 4.5. Degradación fotolítica y adsorción de azul de metileno en agua desionizada (AD).
Concentración TiO₂: 0,1 g L⁻¹. Potencia de irradiación: $2,77 \times 10^{-6}$ Einstein s⁻¹.

4.2.2. Optimización de la concentración de catalizador.

Las Figuras 4.9 y 4.10 muestran la inactivación fotocatalítica de *E.coli* en función de la concentración de TiO_2 en AD y en ARS, respectivamente. La eficacia del proceso es mayor según la concentración del catalizador aumenta para ambos tipos de agua puesto que se alcanza el límite de detección en un menor tiempo de irradiación. Este efecto se debe a que una mayor concentración de TiO_2 implica una mayor absorción de fotones, dando lugar a una mayor tasa de generación de radicales hidroxilo y por tanto, a una inactivación fotocatalítica de bacteria más rápida. Para todos los valores de concentración de TiO_2 estudiados, la inactivación de *E.coli* requiere un tiempo de irradiación mayor en ARS, confirmando la fuerte influencia de la composición química del agua en la eficacia del proceso. Este hecho es debido al papel de las sustancias presentes en agua como atraparoras de radicales hidroxilo junto con la menor resistencia de la bacteria en AD.

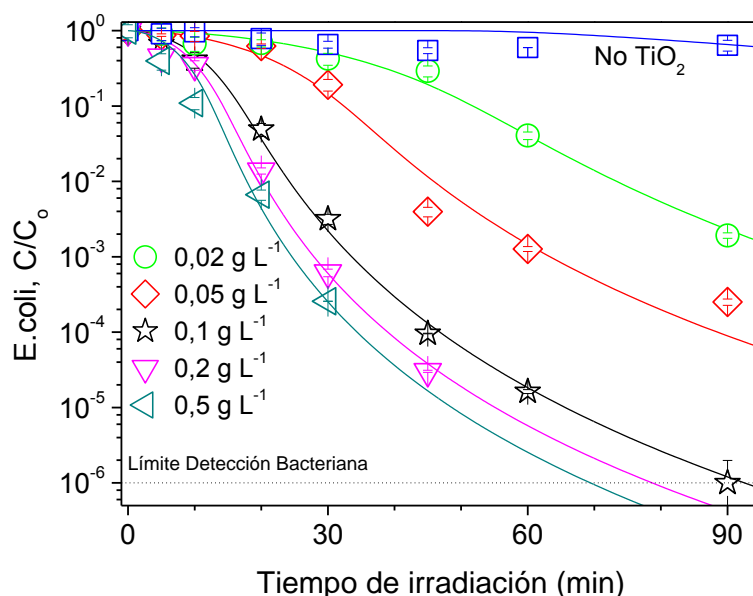


Figura 4.6. Influencia de la concentración de TiO_2 en la inactivación fotocatalítica de *E.coli* en agua desionizada (AD). Potencia de irradiación: $2,77 \times 10^{-6} \text{ Einstein s}^{-1}$. Barras de error calculadas a partir de ocho recuentos independientes. Curvas calculadas usando el modelo cinético representado por las ecuaciones 4.8 y 4.9.

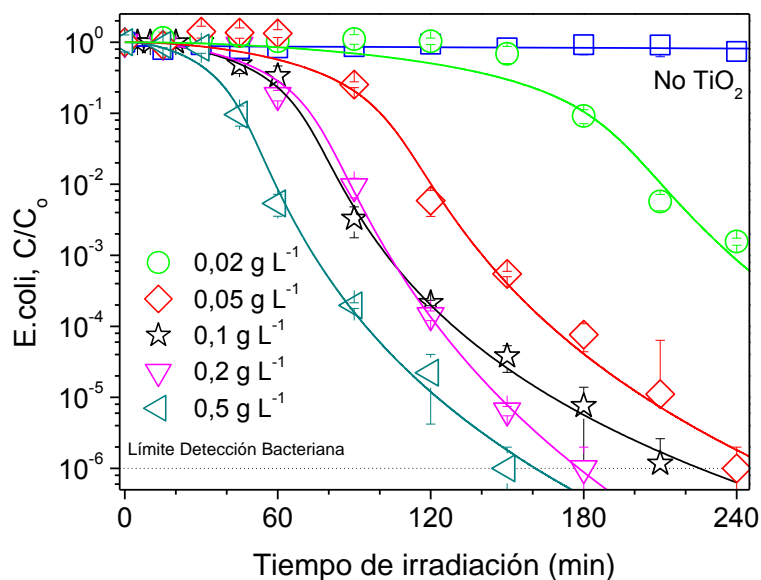


Figura 4.7. Influencia de la concentración de TiO_2 en la inactivación fotocatalítica de *E. coli* en agua residual sintética (ARS). Potencia de irradiación: $2,77 \times 10^{-6}$ Einstein s^{-1} . Barras de error calculadas a partir de ocho recuentos independientes. Curvas calculadas usando el modelo cinético representado por las ecuaciones 4.8 y 4.9.

La Figura 4.8 muestra la dependencia de la constante cinética de inactivación con la concentración de catalizador. Se observa una dependencia lineal para valores de concentración de TiO_2 por debajo de $0,1 \text{ g L}^{-1}$, correspondiente a una zona de óptima utilización del catalizador. Por encima de este valor, la concentración de catalizador no da lugar a actividades significativamente más elevadas, de acuerdo a otros grupos de investigación [60, 97, 112, 117-119]. De hecho se alcanza un valor de constante cinética de inactivación bacteriana asintótico para las concentraciones de catalizador estudiadas más elevadas, correspondiendo a una absorción máxima de fotones en el sistema.

Por otra parte, algunos autores han encontrado diferencias en el efecto de la concentración de TiO_2 en el proceso fotocatalítico de inactivación bacteriana en comparación con el de degradación de contaminantes orgánicos [117]. Por el contrario, estos resultados sugieren una dependencia similar de la eficacia de ambos procesos con la concentración de catalizador, como muestra la Figura 4.8. Ambas curvas muestran una tendencia similar con una concentración óptima de TiO_2 próxima a $0,1 \text{ g L}^{-1}$, puesto que valores de concentración de TiO_2 superiores no mejoran considerablemente la actividad. Por ello, se utilizará un valor de $0,1 \text{ g L}^{-1}$ de concentración TiO_2 como valor de concentración de catalizador óptimo para el

proceso, utilizándose en experimentos de inactivación bacteriana y degradación de contaminantes orgánicos mostrados posteriormente.

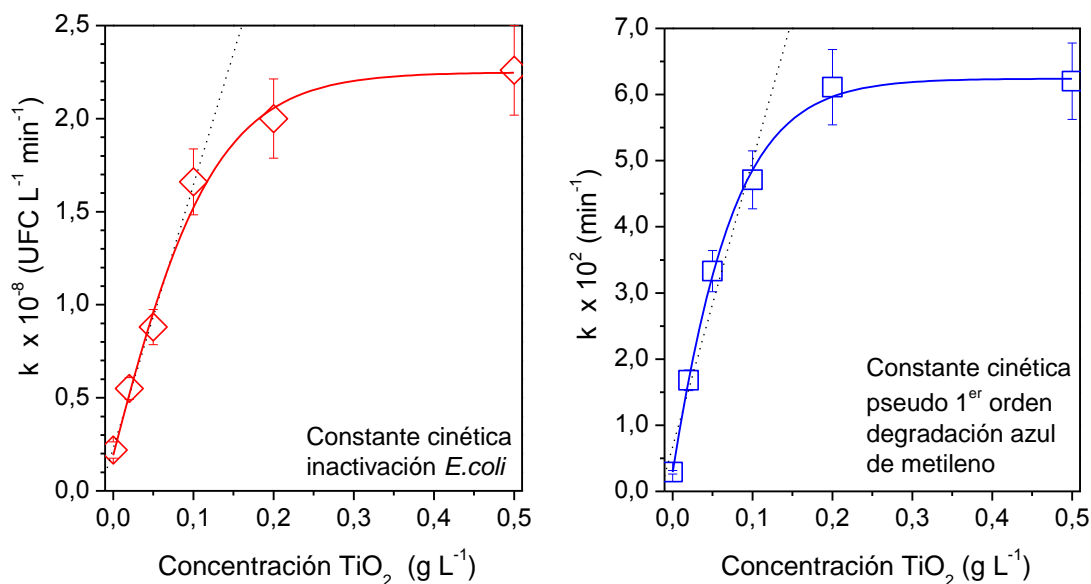


Figura 4.8. Comparación de la dependencia de las constantes cinéticas de inactivación de *E.coli* y de degradación de azul de metileno (AM) con la concentración de TiO_2 en agua desionizada (AD). Potencia de irradiación: $2,77 \times 10^{-6}$ Einstein s^{-1} . Barras de error calculadas a partir de experimentos duplicados.

En resumen, la concentración de catalizador óptima no parece estar influenciada por aspectos microbiológicos y sólo parece depender de la potencia de irradiación y la geometría del reactor ya que ambos parámetros influyen en la cantidad de catalizador requerida para alcanzar la máxima absorción de fotones, y en consecuencia, una mayor tasa de generación de $\cdot\text{OH}$. Por tanto, se puede considerar la absorción de fotones como etapa limitante de la cinética del proceso.

4.2.3. Efecto de la potencia de irradiación.

Previamente a la realización de los experimentos fotocatalíticos de inactivación bacteriana, se llevaron a cabo ensayos actinométricos para determinar la potencia de irradiación que llega al sistema fotocatalítico. Puesto que además se utilizaron filtros neutros de distinta opacidad (25 y 50 % de cobertura negra) para reducir la cantidad de radiación UV-

A que llega al sistema, también se realizaron dichos ensayos para calcular la potencia de irradiación en cada caso. La Figura 4.9 muestra los resultados obtenidos, de forma que la potencia de irradiación que llega al sistema corresponde a $2,77 \times 10^{-6}$; $1,66 \times 10^{-6}$; y $8,00 \times 10^{-7}$ Einstein s^{-1} para 0, 25 y 50 % de opacidad del filtro respectivamente.

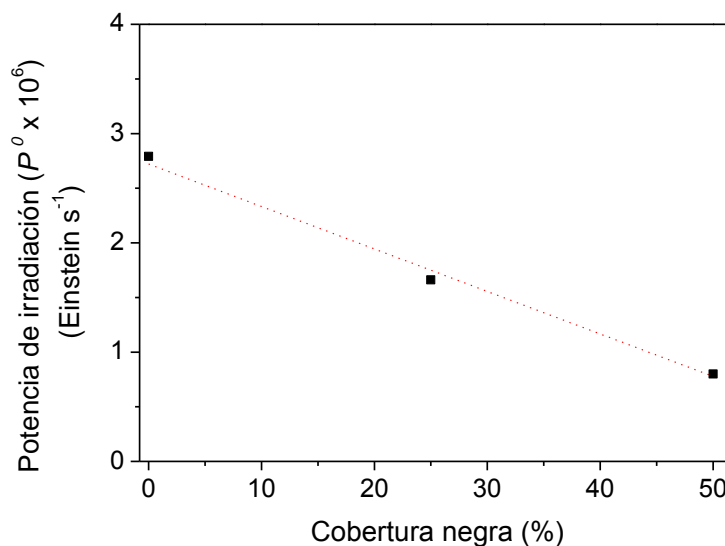


Figura 4.9. Potencia de radiación (P^0) UV-A incidente recibida por el reactor fotocatalítico en función de la cobertura del filtro neutro obtenida mediante la utilización de ferrioxalato potásico como disolución actinométrica.

Las Figuras 4.13 y 4.14 muestran los resultados obtenidos en la inactivación fotocatalítica de *E.coli* con diferente potencia de irradiación en AD y en ARS respectivamente. Como era de esperar, para una concentración fija de catalizador, la eficacia del proceso aumenta al aumentar la potencia de irradiación, de acuerdo con otros grupos de investigación [60, 97, 114-119]. Además, se observa un aumento del retraso inicial en las curvas de inactivación o un mayor tiempo de irradiación requerido para alcanzar la segunda etapa de inactivación logarítmica cuando la potencia de irradiación disminuye.

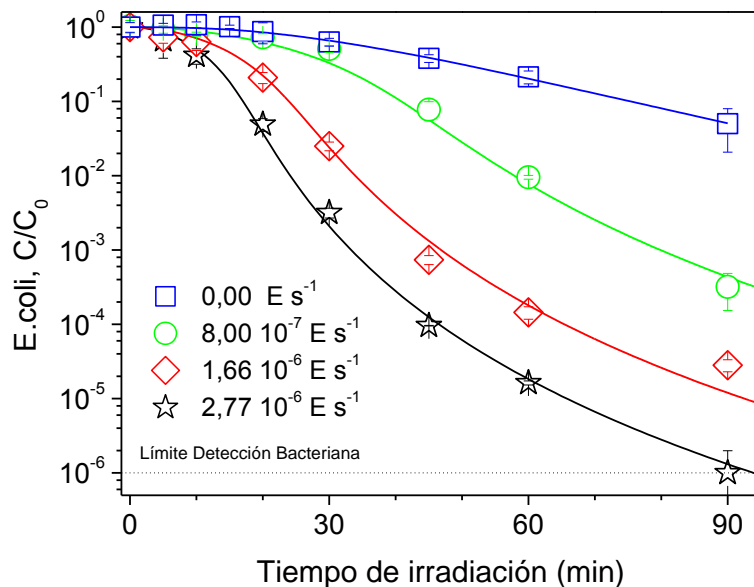


Figura 4.10. Influencia de la potencia de irradiación en la inactivación fotocatalítica de *E. coli* en agua desionizada (AD). Concentración TiO_2 : $0,1 \text{ g L}^{-1}$. Barras de error calculadas a partir de ocho recuentos independientes. Curvas calculadas usando el modelo cinético representado por las ecuaciones 4.8 y 4.9.

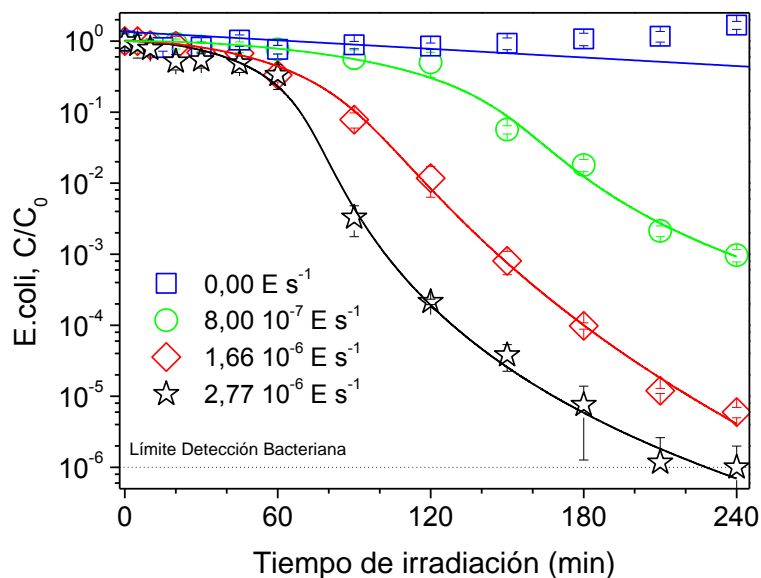


Figura 4.11. Influencia de la potencia de irradiación en la inactivación fotocatalítica de *E. coli* en agua residual sintética (ARS). Concentración TiO_2 : $0,1 \text{ g L}^{-1}$. Barras de error calculadas a partir de ocho recuentos independientes. Curvas calculadas usando el modelo cinético representado por las ecuaciones 4.8 y 4.9.

Considerando que el número de daños acumulados necesarios para inactivar a la bacteria es constante y que el número de fotones disponibles disminuye (y por tanto también lo hace la cantidad de radicales $\cdot\text{OH}$), un mayor tiempo de irradiación es requerido para producir un daño irreversible a la bacteria. Por tanto, según aumenta la potencia de irradiación, más fotones por unidad de tiempo serán absorbidos, dando lugar a una mayor velocidad de generación de radicales hidroxilo y en consecuencia, a tiempos de irradiación menores hasta alcanzar el nivel de daño requerido para que tenga lugar la inactivación irreversible de los microorganismos. A pesar de que el efecto de la potencia de irradiación sobre la inactivación de *E.coli* en AD es comparable a lo observado en ARS, el tiempo de irradiación es dependiente de la composición química del agua. De nuevo, los experimentos llevados a cabo en ARS requieren tiempos de irradiación más largos en comparación con los experimentos realizados en AD bajo las mismas condiciones experimentales.

La Figura 4.12 compara el efecto de la potencia de irradiación en la eficacia del proceso fotocatalítico de inactivación de *E.coli* y de degradación de azul de metileno.

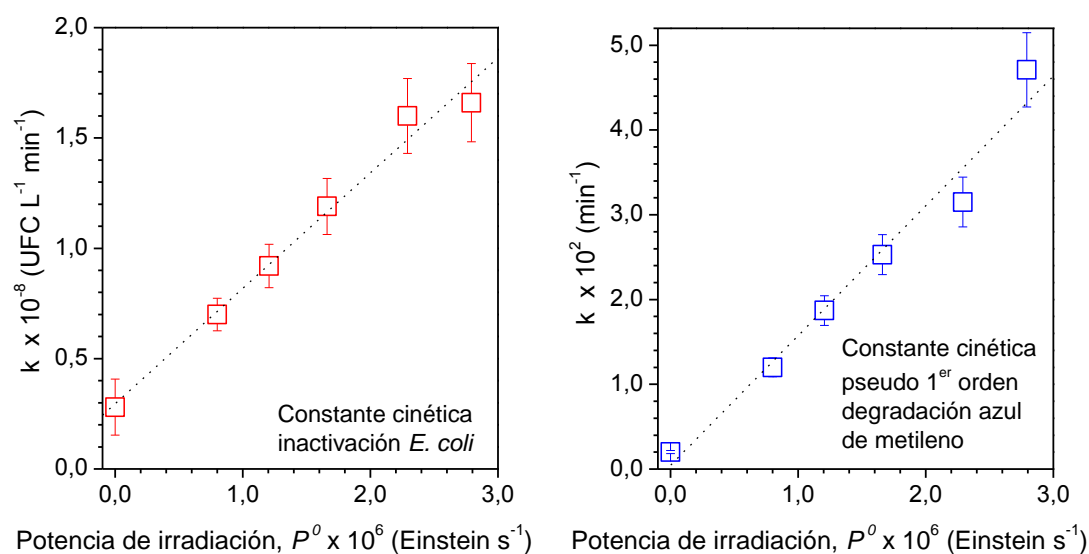


Figura 4.12. Comparación de la dependencia de las constantes cinéticas de inactivación de *E.coli* y de degradación de azul de metileno (AM) con la potencia de irradiación en agua desionizada (AD). Concentración TiO_2 : $0,1 \text{ g L}^{-1}$. Barras de error calculadas a partir de experimentos duplicados.

En ambos casos se observa un aumento lineal de la constante cinética con la potencia de irradiación. Esta dependencia lineal corresponde a una zona óptima de utilización de la luz, ya que para una potencia de irradiación más elevada, los procesos de recombinación de los portadores de carga se verían favorecidos, dando lugar a un proceso de segundo orden que limita la eficacia del mismo [34, 52, 119, 173].

En consecuencia, ya que se ha observado un comportamiento similar tanto del proceso de inactivación de microorganismos como de degradación de compuestos orgánicos en función de variables como la concentración de catalizador y de la potencia de irradiación, se podría esperar una correlación entre la actividad de ambos procesos respecto a otras variables como sugirieron Chen y col. [118]. Sin embargo, se debe tener en cuenta que tanto la concentración de catalizador como la potencia de irradiación son parámetros operacionales del proceso fotocatalítico que parecen ser los únicos responsables de la formación de radicales hidroxilo al activar el catalizador con radiación UV-A, siendo este proceso independiente del tipo de contaminante a eliminar.

4.2.4. Influencia de la composición química del agua.

Como se ha observado en los apartados anteriores, la concentración de bacteria viable se reduce 6 órdenes de magnitud tras dos horas de irradiación en AD, mientras que cuando se tratan ARS son necesarias 4 horas de irradiación para obtener la misma reducción en la concentración de bacteria viable. La causa más aceptada para explicar esta reducción en la eficacia del proceso fotocatalítico es la competencia por los radicales hidroxilo entre la bacteria y los iones y materia orgánica presentes en el agua [60, 98, 112, 115, 119, 125-127]. Además, los efectos osmóticos deben considerarse, ya que el estrés osmótico que sufre la bacteria en agua desionizada parece debilitar la pared celular, viéndose favorecida la inactivación bacteriana. Puesto que la composición del agua parece tener una fuerte influencia en la eficacia del proceso, no pudiéndose extrapolar los resultados obtenidos en agua desionizada a sistemas reales como efluentes de depuradora, este factor se ha estudiado en profundidad.

La Figura 4.13 muestra los resultados de experimentos fotocatalíticos de inactivación llevados a cabo en presencia de diferentes especies tanto inorgánicas como orgánicas

comúnmente presentes en agua para comprender el efecto de cada sustancia individualmente. Adicionalmente, se han estudiado posibles efectos aditivos o compensatorios de la mezcla de todas las sustancias estudiadas individualmente en la eficacia del proceso, comparándose finalmente con ARS.

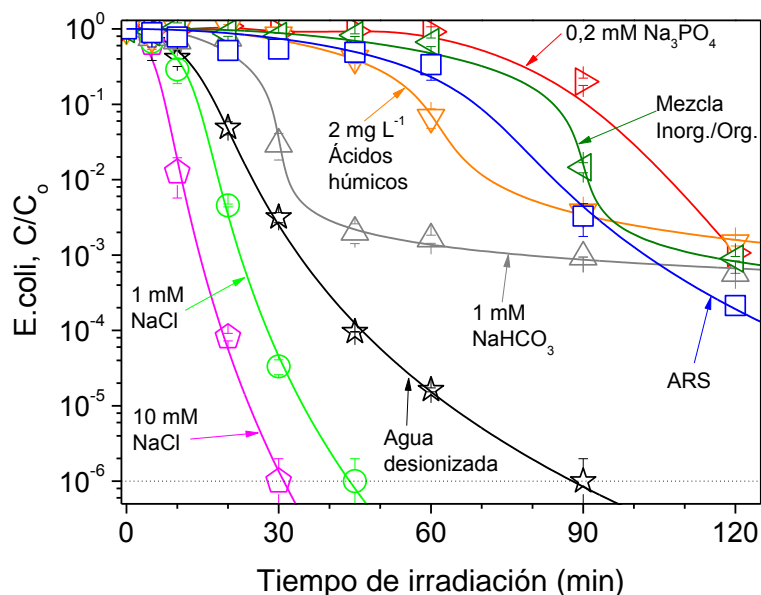


Figura 4.13. Influencia de la composición del agua en la inactivación fotocatalítica de *E.coli*. Concentración TiO_2 : $0,1 \text{ g L}^{-1}$; potencia de irradiación: $2,77 \times 10^{-6} \text{ Einstein s}^{-1}$. Mezcla inorgánica/orgánica: NaHCO_3 1 mM , Na_3PO_4 $0,2 \text{ mM}$, NaCl 10 mM y ácidos húmicos 2 mg L^{-1} . Barras de error calculadas a partir de ocho recuentos independientes. Curvas calculadas usando el modelo cinético representado por las ecuaciones 4.8 y 4.9.

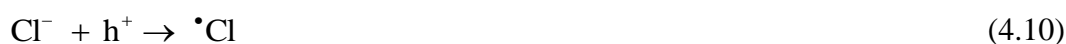
Cloruros (Cl^-).

A partir de los resultados obtenidos, el anión Cl^- parece acelerar la inactivación de la bacteria en el intervalo de concentraciones estudiado, siendo el efecto más pronunciado a concentraciones del anión cloruro más elevadas. Este comportamiento coincide con otros resultados publicados en bibliografía [98, 125, 171], en los que se ofrecen diversas hipótesis para explicar este comportamiento:

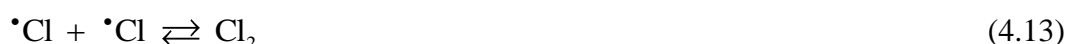
- i) Una primera explicación al aumento de la velocidad de inactivación como consecuencia de la presencia de anión Cl^- podría basarse en cambios en la permeabilidad de la célula. Sin embargo, otros autores no han observado efectos en la concentración viable de

bacteria en experimentos fotolíticas con soluciones de cloro, sugiriendo que la mera presencia de cloro en el agua no afecta a la viabilidad de la bacteria [132].

- ii) Otra posibilidad implica que el anión Cl^- reacciona con los huecos dando lugar a especies de cloro de alto potencial oxidante como el radical $\cdot\text{Cl}$ así como el anión radicalico dicloruro, $\cdot\text{Cl}_2^-$, según las reacciones 4.10 y 4.11:



- iii) El anión $\cdot\text{Cl}_2^-$ aparte de ser reactivo con las bacterias, puede dar lugar a una reacción de desproporción en agua (reacción 4.12). También puede tener lugar la recombinación de dos radicales cloruro $\cdot\text{Cl}$ (reacción 4.13). Ambas reacciones dan lugar a la formación de cloro molecular, que podría actuar como desinfectante, acelerando la eficiencia del proceso de inactivación.



- iv) La presencia de altas concentraciones del anión cloruro parece aumentar la adsorción de la bacteria en el catalizador en comparación con otras especies iónicas [129].

Por el contrario, otros autores han mostrado el efecto opuesto [98, 115], con una reducción significativa de la actividad del proceso en presencia de cloruros. La concentración parece tener un papel importante en la actividad del proceso, de forma que sólo a bajas concentraciones de estos aniones, la competencia por los radicales hidroxilo y por los sitios activos del catalizador entre el anión y la bacteria parece ser predominante, reduciendo la eficacia del proceso fotocatalítico.

Bicarbonatos (HCO_3^-).

Concentraciones del anión bicarbonato de 1 mM dan lugar a un efecto inhibitor significativo del proceso de inactivación bacteriana, disminuyendo significativamente la eficacia del mismo. Este comportamiento también coincide con resultados publicados en la bibliografía [98, 125, 171], que atribuyen el efecto inhibitor del anión HCO_3^- a tres hipótesis:

- i) El anión HCO_3^- puede reaccionar con los huecos presentes en la superficie del TiO_2 (reacción 4.14), dando lugar a una reducción de la velocidad de inactivación.



- ii) El anión HCO_3^- , puede reaccionar también con el radical hidroxilo, produciendo un anión radicalico $\cdot^-\text{CO}_3$ (reacción 4.15), menos reactivo, reduciendo también la velocidad de inactivación.



- iii) El anión HCO_3^- presenta capacidad para absorber luz UV-A, reduciendo su disponibilidad para ser absorbida por el TiO_2 . Como consecuencia, se generan menos especies oxidantes y se reduce la velocidad del proceso.

Fosfatos (PO_4^{3-}).

Se observa un efecto inhibitor del anión fosfato mucho más acentuado que el producido por el anión bicarbonato. Otros estudios encontrados en bibliografía [98, 125, 171] justifican este comportamiento basándose en las siguientes hipótesis:

- i) El anión PO_4^{3-} se adsorbe fuertemente sobre la superficie del catalizador, a diferencia del anión bicarbonato, desactivándolo totalmente e impidiendo así la generación de radicales $\cdot\text{OH}$, que ataquen a la bacteria. Por ello, su efecto inhibitor es mayor.
- ii) El anión PO_4^{3-} absorbe luz UV-A, reduciendo la disponibilidad de ésta para ser absorbida por el catalizador y generar radicales $\cdot\text{OH}$.
- iii) El anión fosfato puede servir además como nutriente para los microorganismos, pudiendo favorecerse el crecimiento bacteriano en aguas con cantidades limitadas de este anión.

Materia orgánica (ácidos húmicos).

Los resultados muestran que concentraciones de ácidos húmicos de 2 mg L^{-1} reducen significativamente la eficacia del proceso fotocatalítico. El efecto inhibitor de los ácidos húmicos se debe posiblemente a su competencia con las bacterias por radicales $\cdot\text{OH}$ [100], así como a su capacidad de absorción de luz UV-A/visible por el hecho de presentar color,

impidiendo la interacción de ésta con el catalizador para generar especies oxidantes, e incluso el hecho de poder ser utilizados como nutrientes por las bacterias.

En resumen, bicarbonatos, fosfatos y ácidos húmicos dan lugar a un importante descenso de la eficacia del proceso fotocatalítico de inactivación bacteriana. Como ha sido previamente observado por otros estudios [98, 112, 119, 125, 127, 171], estas sustancias eliminan el estrés osmótico que tiene lugar en agua desionizada y también pueden actuar como atraparoras de radicales hidroxilo, reduciendo la disponibilidad de éstos para atacar a la bacteria. Además, los fosfatos y ácidos húmicos podrían ser usados por la bacteria como nutrientes e incluso absorber fotones [98,1 07], reduciendo el número de fotones UV-A disponibles para activar el catalizador y generar $\cdot\text{OH}$. Destacar también el notable efecto de inhibición del proceso de inactivación en presencia de fosfatos (en menor concentración que otras sustancias estudiadas), que podría estar relacionado con su mayor adsorción en la superficie del catalizador, obstaculizando la interacción bacteria-catalizador.

Mezcla de especies iónicas y materia orgánica.

La mezcla de todas las especies anteriores, al igual que el agua residual sintética (ARS), condujo a la inhibición del proceso fotocatalítico en comparación con la eficacia del mismo en agua desionizada (AD). De hecho, ambos experimentos muestran resultados similares en cuanto a eficacia del proceso. Sin embargo, se observa que los efectos negativos de especies como los fosfatos, bicarbonatos y ácidos húmicos se contrarrestan con los efectos positivos de los cloruros.

Puesto que muchas de las hipótesis dadas para explicar el efecto de la composición química del agua en el proceso fotocatalítico de inactivación de bacterias se han basado en aspectos microbiológicos, se han llevado a cabo experimentos de degradación de azul de metileno en condiciones experimentales similares. El objetivo es distinguir la contribución de los aspectos físicoquímicos y de los aspectos microbiológicos sobre la eficacia global del proceso. Los resultados se comparan en la Figura 4.14, dónde se representa la actividad relativa tomando como referencia experimentos en AD.

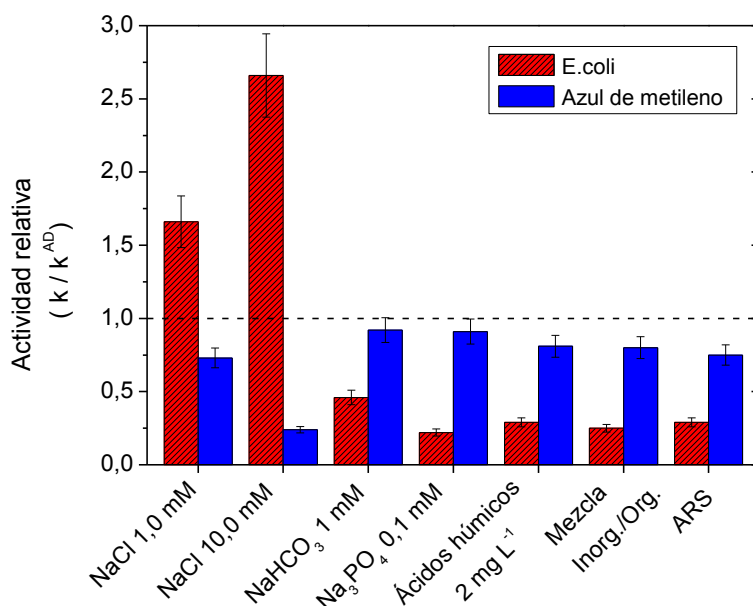


Figura 4.14. Comparación de la dependencia de las constantes cinéticas de inactivación de *E.coli* y de degradación de azul de metileno (AM) con la composición química del agua en terminus relativos respecto al agua desionizada (AD). Concentración TiO₂: 0,1 g L⁻¹; potencia de irradiación: $2,77 \times 10^{-6}$ Einstein s⁻¹. Mezcla inorgánica/orgánica: NaHCO₃ 1 mM, Na₃PO₄ 0,2 mM, NaCl 10 mM y ácidos húmicos 2 mg L⁻¹. Barras de error calculadas a partir de experimentos duplicados.

En general, se observa que los procesos de inactivación de microorganismos son más sensibles a la presencia tanto de materia inorgánica como orgánica. La presencia bicarbonatos, ácidos húmicos y fosfatos no afectan significativamente a la eficacia del proceso de degradación de azul de metileno, mientras que dan lugar a un importante descenso de la eficacia del proceso fotocatalítico de inactivación de *E.coli*. En presencia de fosfatos, este efecto es incluso más pronunciado ya que concentraciones mucho más bajas dan lugar a una reducción más drástica de la velocidad de inactivación.

Tradicionalmente, se ha aceptado que la presencia de especies iónicas inorgánicas lleva asociado un efecto negativo tanto en la eficacia fotocatalítica de inactivación de microorganismos [98, 112, 119, 125, 127, 171] como de oxidación de compuestos orgánicos [112, 174-176] debido al efecto de estas sustancias como atraparoras de radicales hidroxilo. Además, como se ha mencionado anteriormente, la posible formación de una capa inorgánica en la superficie del TiO₂ obstaculizaría la adsorción tanto del contaminante orgánico como de

la bacteria y la capacidad de absorción de fotones de los ácidos húmicos y fosfatos reduciría la radiación disponible para activar el catalizador y generar radicales hidroxilo responsables de la oxidación de los contaminantes. Es importante destacar que todas las hipótesis consideradas anteriormente están basadas en aspectos físico-químicos de los procesos fotocatalíticos, y en consecuencia deberían dar lugar a una influencia similar en la eficacia fotocatalítica de eliminación de ambos tipos de contaminantes. Considerando que el efecto de inhibición de la eficacia fotocatalítica es mayor en el caso de inactivación de microorganismos es necesario considerar factores adicionales:

- i) Li y Logan [128] observaron un aumento de la repulsión bacteria-TiO₂ como consecuencia de la formación de una capa cargada negativamente en la superficie del catalizador en presencia de aniones como bicarbonatos y fosfatos. Al estar también la pared celular de la bacteria cargada negativamente, se reduce la interacción con la bacteria y en consecuencia también la velocidad de inactivación. Gogniat y col. [129], también observaron que la presencia de fosfatos reduce la interacción de la bacteria con el catalizador. Además, de acuerdo a Cohen-Yaniv y col. [113], el pH básico generado por los bicarbonatos y fosfatos podría reducir la adsorción de la bacteria en el catalizador y obstaculizar la inactivación bacteriana. Por el contrario, un pH básico favorece la adsorción del azul de metileno en el catalizador, mejorando el proceso de oxidación fotocatalítica y reduciendo el efecto de estos aniones como atrapadores de radicales hidroxilo [176]. Estos resultados señalan la importancia de la adsorción del contaminante en la superficie del catalizador, ya que el ataque de los radicales $\cdot\text{OH}$ ocurre solamente si existe interacción contaminante-catalizador.
- ii) Los aspectos puramente microbiológicos deben ser también considerados. El estrés osmótico debido a la falta de iones del agua desionizada da lugar a la fuga de iones calcio y magnesio de la pared celular y en consecuencia a la pérdida de permeabilidad de la pared celular bacteriana. Por tanto, las células son más estables en soluciones tamponadas, requiriendo un mayor número de ataques de radicales hidroxilo para ser inactivadas, lo que conduce a tiempos de irradiación mayores [127, 131, 132]. Además, el elevado efecto de inhibición de los fosfatos en el proceso de inactivación bacteriana en comparación con el de degradación de azul de metileno sugiere que estos aniones podrían servir como nutrientes para la bacteria, aumentando su resistencia al tratamiento fotocatalítico.

Es también significativo el comportamiento notablemente opuesto en presencia de aniones cloruro al comparar ambos procesos fotocatalíticos, de inactivación bacteriana y de degradación de azul de metileno. Mientras que la eficacia fotocatalítica de inactivación es claramente mejorada en presencia de cloruros, la eficacia de degradación del azul de metileno se reduce drásticamente. Esto sugiere que las especies de cloro formadas tienen un elevado efecto atrapador de radicales hidroxilo pero también elevado poder desinfectante, que no afecta a la oxidación de compuestos químicos pero sí a la inactivación de microorganismos.

Finalmente, como se ha mencionado anteriormente, tanto en la mezcla de materia inorgánica y orgánica como en ARS, los efectos positivos de los cloruros parecen compensar los efectos de inhibición del resto de aniones y materia orgánica en el proceso fotocatalítico de inactivación de *E.coli*. En el caso del azul de metileno, los efectos de inhibición tampoco parecen ser aditivos, probablemente porque el aumento del pH sobre el punto cero de carga del titanio producido por la presencia de fosfatos y bicarbonatos en agua, favorece la adsorción de este colorante catiónico sobre la superficie del catalizador, cargada negativamente.

En conclusión, el efecto de las especies presentes en agua en la eficacia de los procesos de oxidación fotocatalítica de contaminantes químicos no puede ser extrapolado a los procesos de inactivación de microorganismos. Éstos parecen ser mucho más sensibles a la composición química del agua y la influencia de aspectos microbiológicos propios de organismos vivos en los mismos, los hace más complejos.

4.2.5. Concentración inicial de bacteria.

Se han llevado a cabo experimentos fotocatalíticos de inactivación bacteriana variando la concentración inicial de bacteria en un rango de 10^3 a 10^6 UFC mL⁻¹. Los resultados, tanto en AD como en ARS, se muestran en las Figuras 4.18 y 4.19 respectivamente.

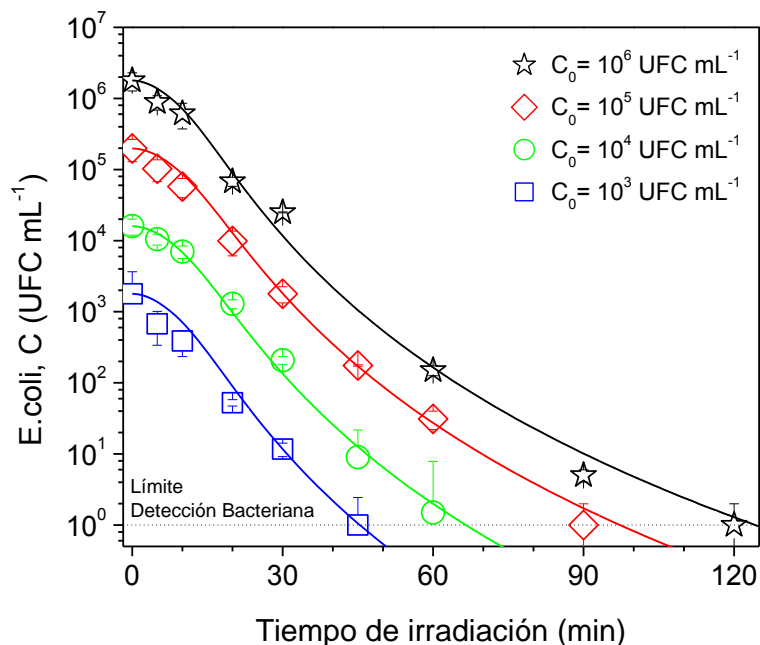


Figura 4.15. Influencia de la concentración inicial en la inactivación fotocatalítica de *E.coli* en agua desionizada (AD). Concentración TiO_2 : $0,1 \text{ g L}^{-1}$. Potencia de irradiación: $2,77 \times 10^{-6} \text{ Einstein s}^{-1}$. Barras de error calculadas a partir de ocho recuentos independientes. Curvas calculadas usando el modelo cinético representado por las ecuaciones 4.8 y 4.9.

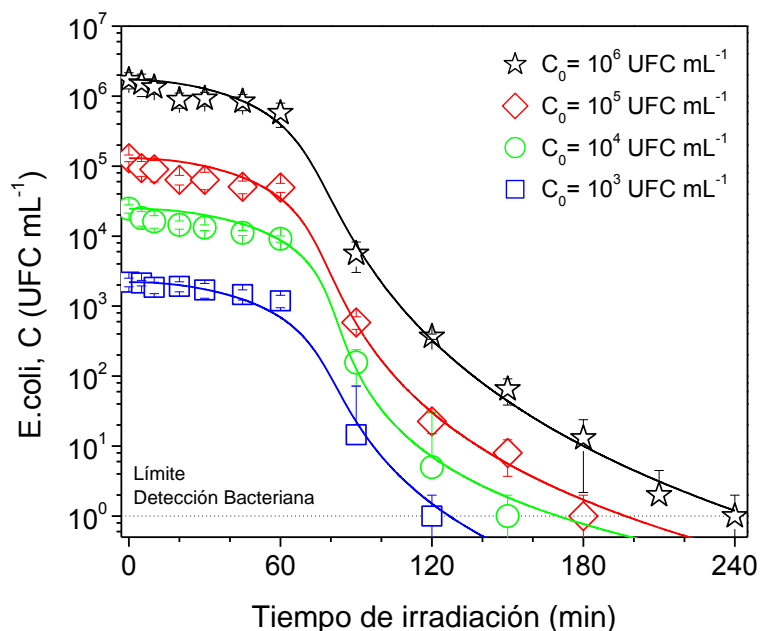


Figura 4.16. Influencia de la concentración inicial en la inactivación fotocatalítica de *E.coli* en agua residual sintética (ARS). Concentración TiO_2 : $0,1 \text{ g L}^{-1}$. Potencia de irradiación: $2,77 \times 10^{-6} \text{ Einstein s}^{-1}$. Barras de error calculadas a partir de ocho recuentos independientes. Curvas calculadas usando el modelo cinético representado por las ecuaciones 4.8 y 4.9.

Como era de esperar, se observa que se requiere un tiempo de irradiación mayor para reducir la concentración viable de bacteria hasta el límite de detección al aumentar la concentración inicial de bacterias. Estos resultados están de acuerdo con lo publicado por otros grupos de investigación [60, 100, 113, 115, 118, 122-124] y se justifica por el aumento en la cantidad de bacterias para la misma cantidad de $\cdot\text{OH}$. El mismo comportamiento se observa tanto en AD como en ARS, a diferencia de lo mostrado por Kerr y col. [177] que observaron diferentes tendencias en el proceso de inactivación utilizando diferentes concentraciones iniciales de bacteria en función de la composición del agua.

Cabe destacar también que otros grupos de investigación [100, 113, 115, 118, 122-124] han observado un aumento lineal de la constante cinética del proceso de inactivación, k , con la concentración inicial de bacteria. Sin embargo, en este caso, el aumento en el tiempo de irradiación requerido para alcanzar una inactivación completa (límite de detección bacteriana) no es lineal con la concentración. Es decir, una concentración inicial diez veces superior solo requiere un aumento del tiempo de irradiación requerido para alcanzar la inactivación completa de $\sim 25\%$. La Figura 4.17 muestra los experimentos representados en términos relativos respecto a la concentración inicial de bacteria. Se observa que todos ellos solapan, indicando valores similares de k (pendiente de las curvas de inactivación). Por tanto, se requieren tiempos de irradiación similares para conseguir un descenso de la concentración de bacteria viable de tres órdenes de magnitud independientemente del valor de la concentración inicial desde 10^3 a 10^6 UFC mL⁻¹. Estos resultados coinciden con los de otros investigadores [60], que observaron la independencia de la constante cinética de inactivación (k) entre concentraciones iniciales de bacteria entre 10^3 y 10^{10} UFC mL⁻¹.

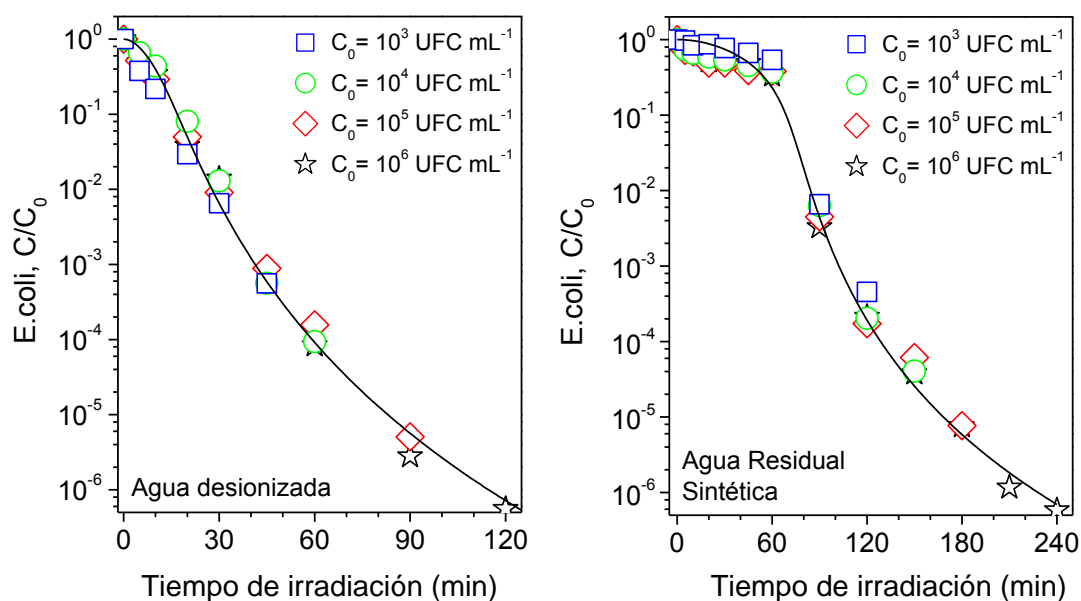


Figura 4.17. Influencia de la concentración inicial de bacteria en la inactivación fotocatalítica relativa de *E. coli* en agua desionizada (AD) y agua residual sintética (ARS). Concentración TiO₂: 0,1 g L⁻¹; potencia de irradiación: $2,77 \times 10^6$ Einstein s⁻¹. Curvas calculadas usando el modelo cinético representado por las ecuaciones 4.8 y 4.9.

4.2.6. Tipo de microorganismo.

Algunos autores [178] han señalado que las diferencias en la composición química de la pared celular de la bacteria, hidrofobicidad y carga electrostática entre diferentes tipos de bacterias pueden dar lugar a diferente resistencia de la bacteria al ataque de los radicales hidroxilo. De hecho, Demidova y Hamblin [179] observaron una mayor resistencia al ataque de especies oxidantes de las bacterias Gram-negativas frente a bacterias Gram-positivas debido a diferencias en la composición química de su pared celular y mecanismos de protección. Otros grupos [25, 128, 180] observaron que esas diferencias podrían influir en la adhesión de la bacteria al catalizador y por tanto una mayor adhesión, daría lugar a una mayor velocidad de inactivación. Incluso, Sinton y col. [181] observaron resultados diferentes entre ambas bacterias en función de la composición química del agua así como en función de los diferentes mecanismos de defensa desarrollados. Además de este grupo, otros autores han señalado que las capacidades de algunos grupos de bacterias de desarrollar formas de resistencia frente a condiciones de estrés e incluso las diferencias entre estas formas pueden hacerlas más resistentes al proceso fotocatalítico de inactivación [106] pero también mejorar su adhesión al catalizador, lo que mejoraría el proceso de inactivación al verse favorecido el contacto

bacteria-catalizador [180]. De hecho, varios autores [113, 128, 182] han observado una mayor adhesión de *E.coli* a la superficie del TiO₂ inmovilizado, favoreciendo la interacción bacteria-catalizador y en consecuencia su inactivación. Esto podría deberse a diferencias en estructura y composición química entre ambas bacterias, así como a las características más o menos hidrofóbicas del catalizador y la bacteria.

Como se ha mencionado anteriormente, el mecanismo de inactivación más aceptado está basado en el ataque de los radicales hidroxilo a la pared celular como paso necesario para dar lugar a la lisis celular [38, 111, 112]. Sin embargo, otros grupos de investigación también han sugerido la posibilidad de que existan mecanismos de inactivación diferentes para bacterias Gram-negativas y Gram-positivas [183-185]. Existe además controversia [183] en cuanto a la influencia de las características de la estructura celular de bacterias Gram-negativas y Gram-positivas en la respuesta al ataque de los radicales hidroxilo, asumiendo un mecanismo de inactivación basado en la rotura de la estructura celular para dar lugar a la lisis bacteriana. Estas diferencias radican principalmente en el mayor grosor de la pared celular de las bacterias Gram-positivas que podría compensarse con la mayor complejidad de la estructura celular de las bacterias Gram-negativas. Por una parte, varios grupos de investigación [106, 110, 124, 184] han observado que las bacterias Gram-positivas son más resistentes al tratamiento fotocatalítico que las bacterias Gram-negativas debido que las primeras tienen una pared celular más gruesa. Por tanto, es necesario un mayor número de ataques de radicales hidroxilo para que tenga lugar la lisis celular. Chung y col. [184] y Shaomin y col. [167] observaron un mecanismo de inactivación fotocatalítico similar tanto para bacterias Gram-negativas como Gram-positivas, aunque la pared celular de *E.coli*, más fina que la de *E.faecalis* ofreció una menor protección ante las especies oxidantes. Por otra parte, otros grupos han observado también una mayor resistencia al tratamiento fotocatalítico de las bacterias Gram-negativas debido a una estructura celular más compleja por la presencia de una membrana externa adicional que podría ofrecer protección ante agentes desinfectantes [135, 136, 186, 187].

Caracterización bacteriana.

Puesto que posibles diferencias entre distintos tipos de bacterias como hidrofobicidad, carga electrostática o composición química de su envoltura celular, así como el desarrollo de

formas de resistencia ante situaciones de estrés y su composición pueden dar lugar a una respuesta diferente ante un mismo proceso fotocatalítico de inactivación, se ha llevado a cabo una caracterización de estos aspectos en *Escherichia coli*, bacteria Gram-negativa y en *Enterococcus faecalis*, bacteria Gram-positiva. Los resultados se muestran en las Tablas 4.1 y 4.2.

En cuanto a los datos de caracterización bacteriana mostrados en la Tabla 4.1, no se observan diferencias significativas entre los dos tipos de bacterias. Tampoco existen diferencias notables entre las dos matrices acuosas utilizadas. En este caso, el ARS no presenta alta carga iónica y por tanto, al no ser una suspensión muy concentrada, la carga de la bacteria no se ve modificada como consecuencia de la adsorción de iones presentes en el medio [25].

Tabla 4.1. Caracterización bacteriana en función de la composición química de la suspensión: hidrofobicidad, carga superficial y de la envoltura celular.

Bacteria	Suspensión	^a Hidrofobicidad relativa (%)	^b Potencial zeta (mV)	^c Densidad carga superficial ($\mu\text{C cm}^{-2}$)	^d Acidez ($\text{meq}/10^8 \text{ cél.} \times 10^{-5}$)
<i>E.coli</i>	^e AD	37,7 ± 8,65	-56,93 ± 0,89	216 ± 29,5	1,06 ± 0,07
<i>E.coli</i>	^f ARS	38,1 ± 9,91	-53,50 ± 0,82	211 ± 43,8	1,06 ± 0,03
<i>E.faecalis</i>	AD	48,1 ± 15,1	-49,43 ± 3,19	249 ± 34,7	1,21 ± 0,09
<i>E.faecalis</i>	ARS	42,4 ± 8,43	-49,64 ± 0,96	162 ± 11,8	0,95 ± 0,05

^aEl test de adhesión bacteriana a hidrocarburos es una medida de la hidrofobicidad de la célula que se determina a partir de la fracción de células repartidas entre el n-dodecano y la suspensión acuosa estudiada. ^bEl potencial zeta indica el signo y magnitud de la carga superficial de la bacteria. ^cLa densidad de carga superficial y ^dacidez hacen referencia no sólo a la superficie sino también a la envoltura celular externa en conjunto y fueron determinadas a partir de valoraciones potenciométricas en un rango de pH entre 4 y 10. ^eAD, agua desionizada. ^fARS, agua residual sintética. Errores obtenidos a partir de experimentos por triplicado.

El pH de ambas suspensiones es superior a 4 y puesto que el punto isoeléctrico de las paredes celulares de ambas bacterias se encuentra entre 2 y 4 [25], se esperarían cargas negativas rodeando a las bacterias, como se confirma con los resultados de potencial zeta. Se

observan valores negativos de potencial zeta para ambas bacterias en las dos suspensiones que indican que ambas bacterias están cargadas negativamente. Además, se observan valores similares tanto para las dos bacterias como en las dos suspensiones indicando una carga electrostática superficial bacteriana similar. Destacar que los valores obtenidos de potencial zeta coinciden con los observados por otros grupos en presencia de materia orgánica (500 mg L⁻¹ de carbono orgánico disuelto) [188].

La densidad de carga superficial de la bacteria también determina el carácter hidrófobo de la bacteria, de forma que valores de potencial zeta bajos son indicativos del carácter hidrófobo de la bacteria debido a la ausencia prácticamente de carga [25]. En este caso, ambas bacterias están cargadas negativamente de acuerdo a los valores de potencial zeta mostrando un carácter hidrofílico tanto en AD como en ARS. Valores similares han sido observados también por Kim y col. [189]. Tampoco se observan diferencias considerables ni en cuanto a densidad de carga ni en la relación de sitios ácido-base en la envoltura celular de ambas bacterias.

Tabla 4.2. Concentración de grupos carboxilo/fosfórico/fosfodiéster (1), fosfórico (2) y amino/hidroxilo (3) en unidades de 10⁻¹⁵ mol/célula para *E.coli* y *E.faecalis*. Presencia de azúcares y proteínas en las estructuras poliméricas extracelulares desarrolladas por ambas bacterias ante situaciones de estrés. Matriz: agua desionizada (AD).

Bacteria	^a pk ₁ (C ₁)	^a pk ₂ (C ₂)	^a pk ₃ (C ₃)	^b Azúcares mg/10 ¹⁰ cél.	^c Proteínas mg/10 ¹⁰ cél.
<i>E.coli</i>	4,15 (0,036)	6,99 (0,098)	^d –	0,43 ± 0,18	42,0 ± 8,1
<i>E.faecalis</i>	4,50 (0,023)	6,46 (0,049)	9,57 (0,033)	0,61 ± 0,07	47,1 ± 10,9

^aValor de las constantes de disociación en función del pH de la solución (pk_a) y la concentración de sitios de unión a un protón correspondiente a un determinado grupo funcional ionizable presentes en la envoltura externa de la bacteria. Datos obtenidos a partir de valoraciones potenciométricas en un rango de pH entre 4 y 10. Datos procesados con el software FITEQL4. ^bDeterminados mediante el ensayo basado en goma xantana. ^cDeterminadas mediante el ensayo basado en suero de albúmina bovina. ^dNo detectado. Errores obtenidos a partir de experimentos por triplicado.

La Tabla 4.2 muestra la composición de los grupos funcionales orgánicos presentes en la bacteria así como su concentración. Los grupos funcionales orgánicos presentes en la pared celular de la bacteria son ionizables dependiendo del pH de la solución. Su ionización da lugar a la presencia de carga electrostática en la superficie de la bacteria [25]. En este caso, en

ambas bacterias se observa el predominio de grupos carboxilo y fosfatos, correspondientes a los sitios 1 y 2. Por tanto, estos grupos aniónicos superan a los grupos amino, catiónicos, en torno a un pH entre 5 y 7, correspondiente al de las suspensiones. Esto daría lugar a una carga superficial de ambas bacterias negativa, que se correlaciona con lo observado en los valores obtenidos de potencial zeta. Estos resultados también fueron observados por Hong y Brown [158] y Portinga y col. [180]. Kim y col. [189] también observaron en la envoltura exterior de *E.coli* una composición mayoritaria en grupos carboxilo, fosfóricos y fosfodiéster, predominantes en los lipopolisacáridos, fosfolípidos y proteínas presentes en envoltura celular. En el caso de bacterias Gram-positivas, éstos grupos funcionales están asociados fundamentalmente al peptidoglicano, ácidos teicoicos y teicurónicos [158]. Sin embargo, también se han observado diferencias con respecto a otros grupos debidos al tipo de cepa, fase de crecimiento de la bacteria o medio nutriente utilizado [189]. En cuanto a los grupos amino/hidroxilo, éstos sólo se han identificado, aunque en menor concentración que los grupos carboxilo y fosfóricos, en *E.faecalis*. Los grupos amino se han identificado en mayor cantidad en las bacterias Gram-positivas, sin embargo, también están presentes aunque en menor proporción en las proteínas de las bacterias Gram-negativas. Además, las bacterias Gram-negativas presentan gran cantidad de grupos hidroxilo en los lipopolisacáridos y fosfolípidos de su membrana externa [158]. Por tanto, este dato que parece apuntar hacia alguna diferencia entre las dos bacterias estudiadas no sería significativo. Incluso Kim y col. [189] han señalado la sensibilidad de estos grupos en función de cada cepa. Además, estos grupos pueden ser detectados en un rango de pK_3 entre 9,1 y 10,89 [158]; sin embargo, el rango de pH analizado fue entre 4 y 10. Por tanto, los datos obtenidos en este caso pueden contener mayor error al no analizar valores mayores de pH o encontrarse en el límite de medida del equipo.

En ambos tipos de bacterias se detectaron formas de resistencia desarrolladas por las bacterias ante una situación de estrés, en este caso el tratamiento con ultrasonidos. Las diferencias en la composición de polisacáridos y proteínas de estas formas de resistencia pueden afectar a la densidad de carga superficial e hidrofobicidad de la bacteria [157], y en consecuencia a la adhesión bacteria-catalizador y a la mayor o menor resistencia ante ataques de $\cdot\text{OH}$. Sin embargo, de nuevo en este caso, el contenido en azúcares y proteínas es similar para ambas bacterias.

En resumen, aunque no parecen observarse diferencias significativas en relación a la hidrofobicidad, carga en la superficie y en el conjunto de la envoltura celular, grupos funcionales presentes en la misma y formas de resistencia, es necesario tener en cuenta las diferencias existentes en la estructura celular de ambas bacterias y su posible efecto sobre la eficiencia del proceso de inactivación fotocatalítica.

Experimentos fotocatalíticos.

Previamente al estudio fotocatalítico de inactivación de dos tipos de bacteria se analizaron posibles diferencias en su comportamiento ante diferentes condiciones de estrés no fotocatalítico: agitación y presencia de partículas de TiO_2 en suspensión en oscuridad, y luz UV-A en ausencia de catalizador. Los resultados obtenidos se muestran en la Figura 4.18 tanto en agua desionizada (AD) como en agua residual sintética (ARS).

En cuanto a los experimentos en AD, no se observa inactivación de *E.coli* ni de *E.faecalis* cuando se encuentran en oscuridad. Sin embargo, cuando el sistema está agitado se observa un descenso considerable de concentración de *E.coli* viable, mientras que no se produce ningún efecto en *E.faecalis*. Por tanto, *E.coli* parece ser más sensible que *E.faecalis* a daños mecánicos producidos por la agitación. La presencia de partículas de TiO_2 en la suspensión agitada sin irradiación da lugar a un mayor aumento de la reducción de concentración de *E.coli* viable, mientras que de nuevo, la concentración viable de *E.faecalis* no se ve afectada. En el experimento de luz UV-A en ausencia de catalizador, de nuevo *E.coli* parece más sensible que *E.faecalis*, teniendo lugar una reducción de la concentración viable de *E.coli* de cinco órdenes de magnitud mientras que la concentración de *E.faecalis* sólo se reduce en 3 órdenes de magnitud, observando además un mayor retraso u “hombro” inicial en su curva de inactivación.

En cambio, no se observó inactivación significativa de ninguna de las dos bacterias en los ensayos realizados en ARS, no existiendo diferencias en el comportamiento de ambas bacterias. Por tanto, la mayor sensibilidad de *E.coli* en comparación con *E.faecalis* ante diferentes condiciones de estrés en agua desionizada puede deberse al mayor efecto de estrés osmótico sufrido por la primera. *E.coli* puede inactivarse más fácilmente al presentar un mayor debilitamiento de su pared celular en condiciones de estrés osmótico como consecuencia de presentar una pared celular menos gruesa que *E.faecalis*. Estos resultados

confirman de nuevo la influencia de la composición química del agua en procesos de inactivación bacteriana.

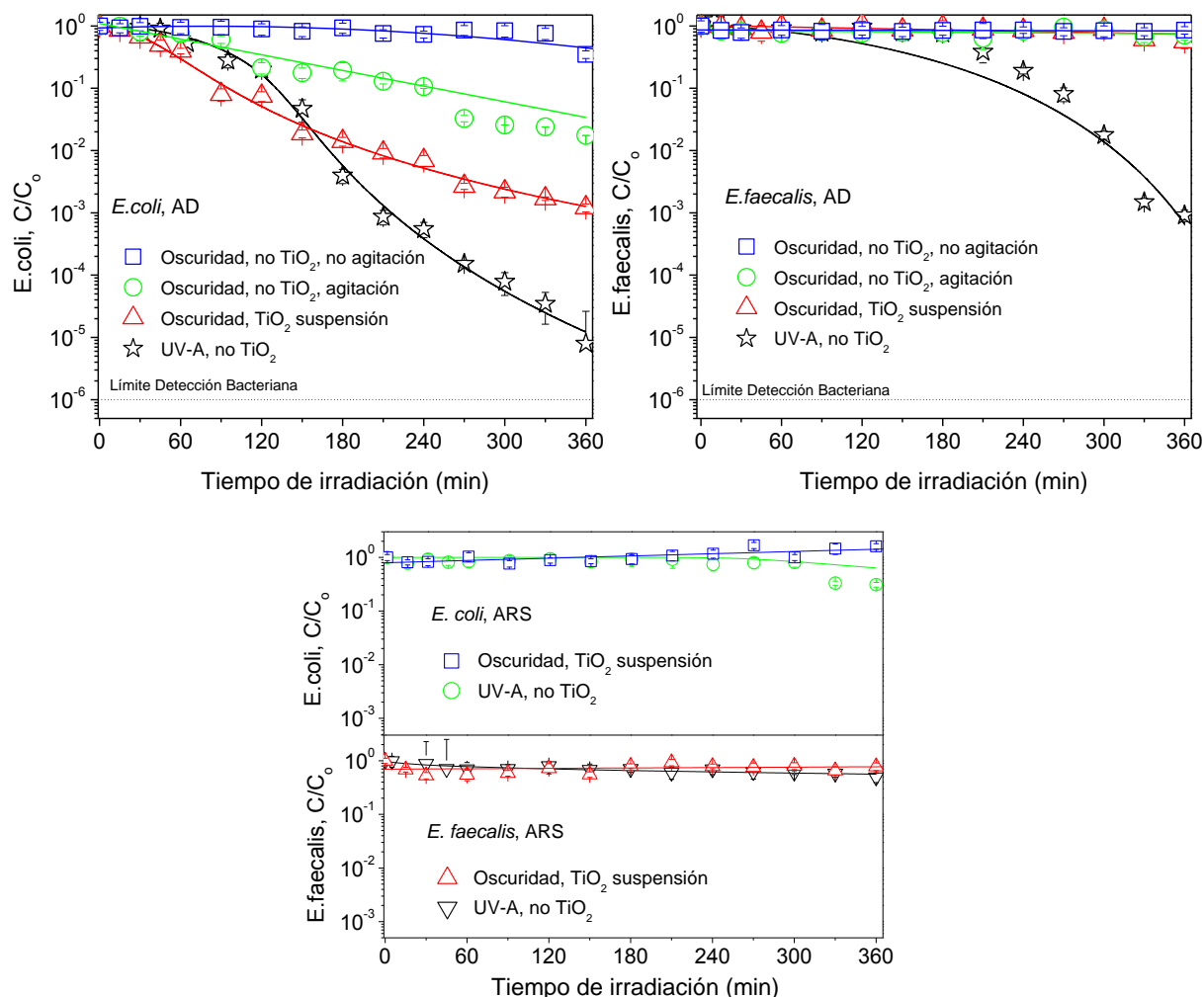


Figura 4.18. Inactivación no fotocatalítica de *E. coli* y *E. faecalis* bajo diferentes condiciones de estrés en agua desionizada (AD) (superior) y en agua residual sintética (ARS) (inferior). Concentración TiO₂: 0,1 g L⁻¹; potencia de irradiación: $2,77 \times 10^{-6}$ Einstein s⁻¹. Barras de error calculadas a partir de ocho recuentos independientes. Curvas calculadas usando el modelo cinético representado por las ecuaciones 4.8 y 4.9.

La Figura 4.19 muestra la comparación entre la inactivación fotocatalítica de *E. coli* y *E. faecalis* en AD y en ARS. Ambos tipos de microorganismos se inactivan eficazmente, consiguiendo en ambas bacterias una reducción de seis órdenes de magnitud de la concentración de bacteria viable y alcanzando un valor por debajo del límite de detección tras 2 y 4 h de irradiación en AD y en ARS respectivamente.

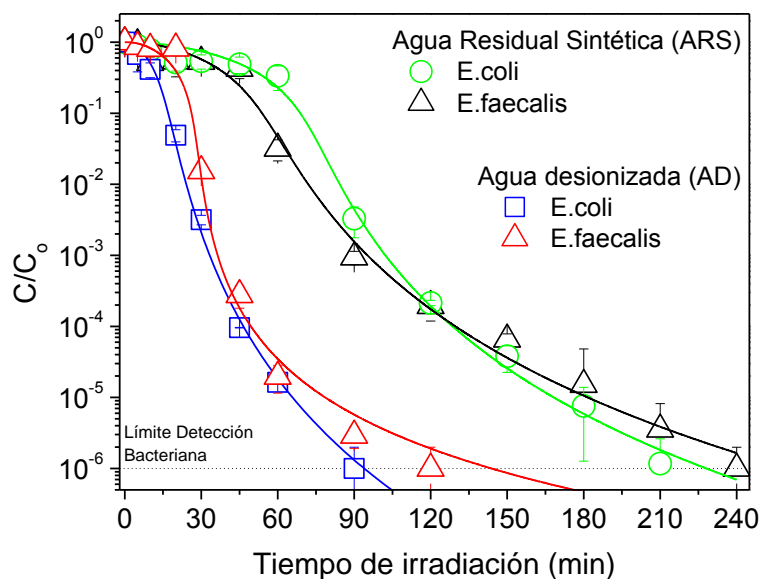


Figura 4.19. Inactivación fotocatalítica de *E.coli* y *E.faecalis* en agua desionizada (AD) y agua residual sintética (ARS). Concentración TiO_2 : $0,1 \text{ g L}^{-1}$; potencia de irradiación: $2,77 \times 10^{-6} \text{ Einstein s}^{-1}$. Barras de error calculadas a partir de ocho recuentos independientes. Curvas calculadas usando el modelo cinético representado por las ecuaciones 4.8 y 4.9.

A pesar de las diferencias entre ambas bacterias observadas en los experimentos de referencia en AD, éstas no se observan en los experimentos fotocatalíticos, ya que tanto los perfiles de inactivación como el tiempo de irradiación requerido para alcanzar la inactivación completa son similares, coincidiendo con lo observado por otros grupos [130, 190].

Como se ha mencionado anteriormente, puesto que existe una clara controversia en cuanto a la eficacia fotocatalítica en función del tipo de microorganismo, se han llevado a cabo experimentos adicionales bajo diferentes condiciones experimentales de concentración de catalizador, potencia de irradiación y concentración inicial de bacteria en ARS para confirmar los resultados mostrados en la Figura 4.19.

La Figura 4.20 muestra la comparación de la inactivación de ambos tipos de bacteria al aumentar la concentración de TiO_2 . Se observa una tendencia similar para ambos microorganismos, con una mejora en la eficacia del proceso al aumentar la concentración de

TiO₂, alcanzando la máxima eficacia del proceso con valores de catalizador entre 0,1 y 0,2 g L⁻¹.

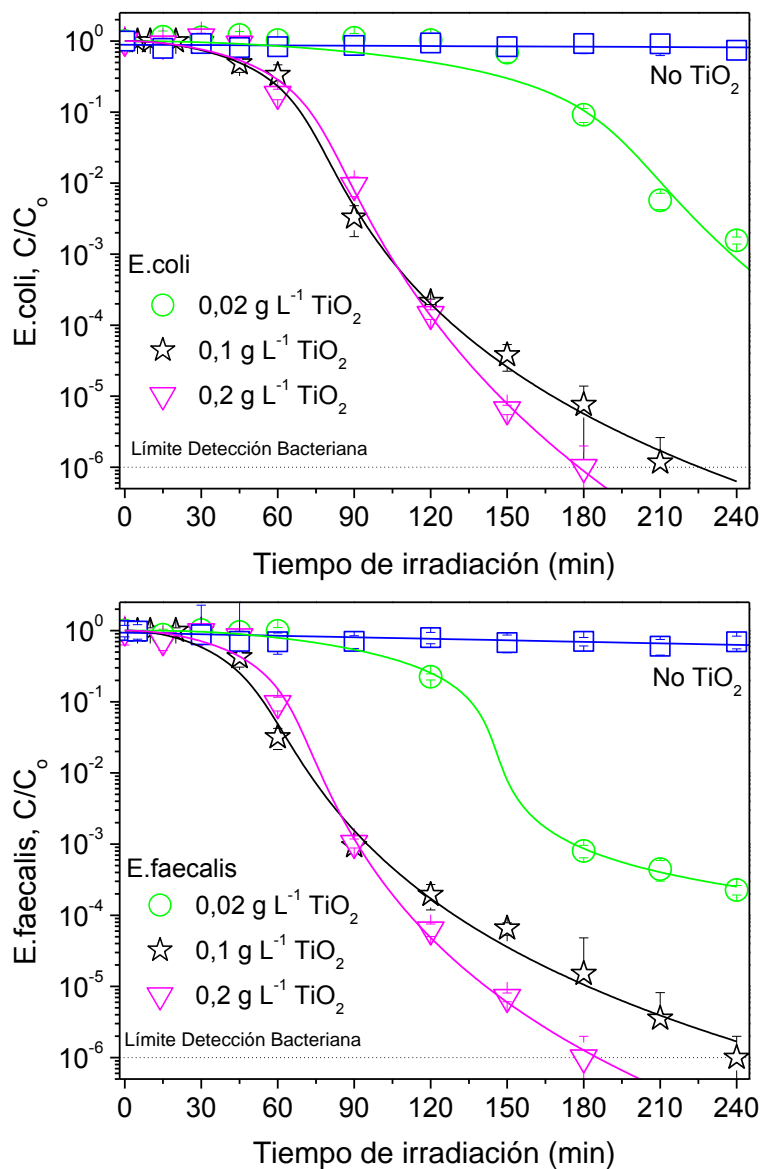


Figura 4.20. Influencia de la concentración de TiO₂ en la inactivación fotocatalítica de *E. coli* (superior) y *E. faecalis* (inferior) en agua residual sintética (ARS). Potencia de irradiación: $2,77 \times 10^{-6}$ Einstein s⁻¹. Barras de error calculadas a partir de ocho recuentos independientes. Curvas calculadas usando el modelo cinético representado por las ecuaciones 4.8 y 4.9.

La Figura 4.21 representa el efecto de la potencia de irradiación sobre la inactivación fotocatalítica de *E.coli* y *E.faecalis*. Se observa un claro aumento de la eficacia del proceso al aumentar la potencia de irradiación, siendo esta tendencia similar en ambos tipos de bacteria.

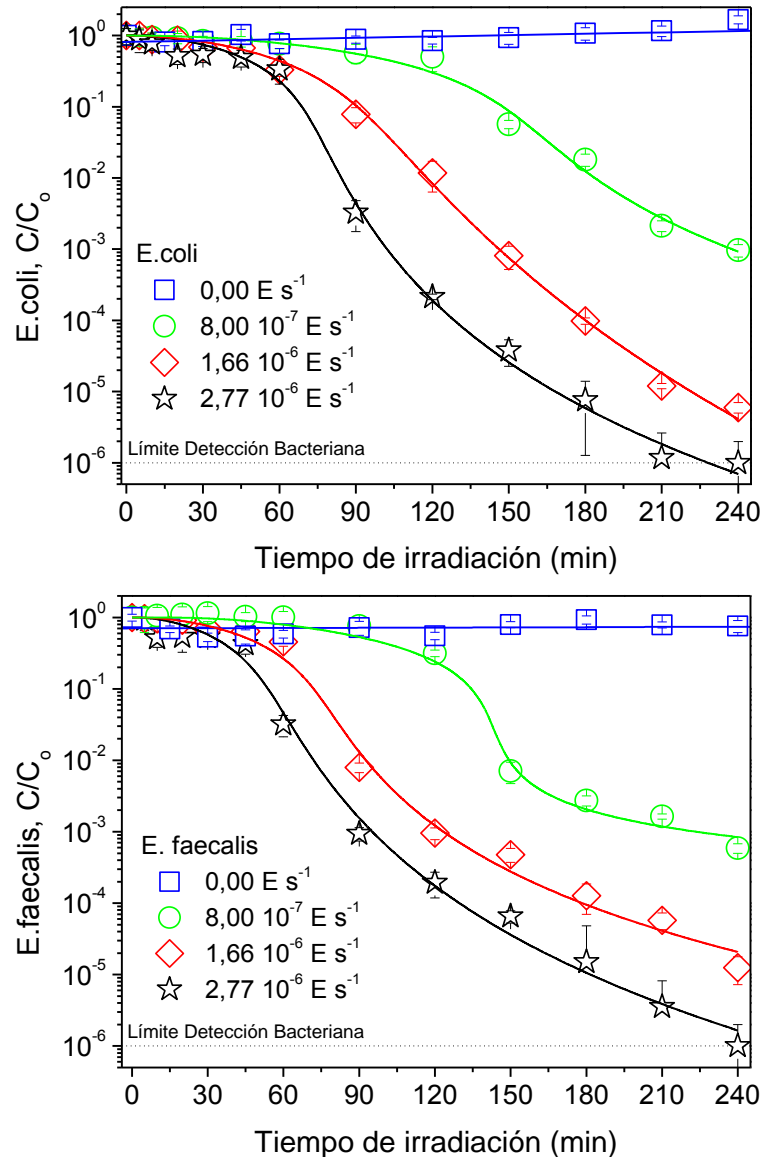


Figura 4.21. Influencia de la potencia de irradiación en la inactivación fotocatalítica de *E.coli* (superior) y *E.faecalis* (inferior) en agua residual sintética (ARS). Concentración TiO_2 : $0,1 \text{ g L}^{-1}$. Barras de error calculadas a partir de ocho recuentos independientes. Curvas calculadas usando el modelo cinético representado por las ecuaciones 4.8 y 4.9.

Finalmente, la Figura 4.22 muestra la eficacia fotocatalítica del proceso de inactivación de *E.coli* y *E.faecalis* para diferentes valores de concentración inicial.

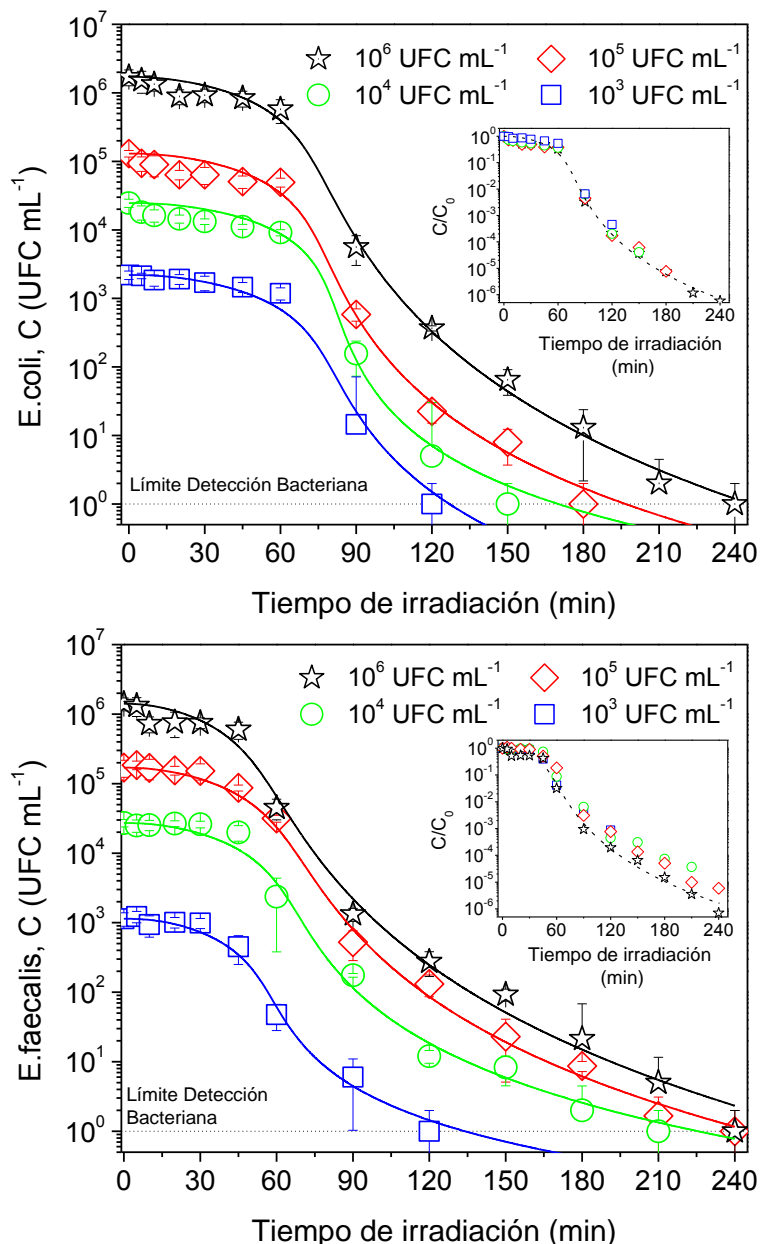


Figura 4.22. Influencia de la concentración inicial de bacteria en la inactivación fotocatalítica de *E.coli* (superior) y *E.faecalis* (inferior) en agua residual sintética (ARS). Concentración TiO₂: 0,1 g L⁻¹; potencia de irradiación: $2,77 \times 10^{-6}$ Einstein s⁻¹. Barras de error calculadas a partir de ocho recuentos independientes. Curvas calculadas usando el modelo cinético representado por las ecuaciones 4.8 y 4.9. Insertados aparecen los resultados en términos relativos de C/C₀.

Ambos tipos de bacterias son inactivados con éxito por debajo del límite de detección para todos los valores de concentración inicial estudiados. Además, se observan valores similares

de constante cinética del proceso k , (pendiente de las curvas de inactivación, Figura 4.22 insertado), siguiendo en ambos casos la misma cinética de inactivación en términos de C/C_0 .

En conclusión, parece no existir diferencias significativas entre los procesos fotocatalíticos de inactivación de bacterias Gram-negativas y Gram-positivas. En este caso se pone de manifiesto de nuevo que tanto la concentración de catalizador como la potencia de irradiación son factores responsables de la tasa de absorción de luz UV-A y de la generación de radicales hidroxilo, no afectando a esta etapa el tipo de contaminante a eliminar. Además, la inactivación de ambos microorganismos es muy similar para velocidades de generación de $\cdot\text{OH}$ equivalentes, lo que podría indicar que el mecanismo de inactivación es similar a pesar de las diferencias en la estructura celular.

Finalmente se llevaron a cabo experimentos fotocatalíticos de inactivación con mezclas de *E.coli* y *E.faecalis* en ARS (Figura 4.23)

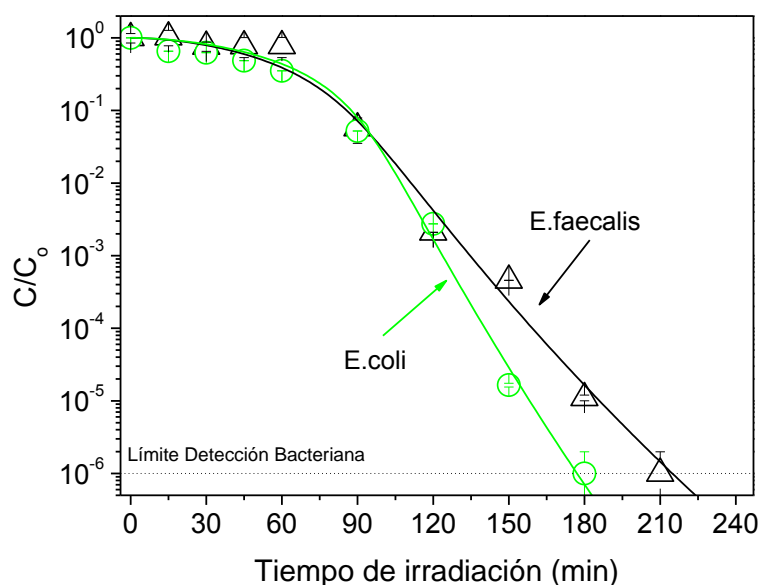


Figura 4.23. Inactivación fotocatalítica de una mezcla de concentraciones iguales de *E.coli* y *E.faecalis* en agua residual sintética (ARS). Concentración TiO_2 : $0,1 \text{ g L}^{-1}$; potencia de irradiación: $2,77 \times 10^{-6} \text{ Einstein s}^{-1}$. Barras de error calculadas a partir de ocho recuentos independientes. Curvas calculadas usando el modelo cinético representado por las ecuaciones 4.8 y 4.9.

Aunque las curvas de inactivación de ambas bacterias sugieren que *E.coli* parece ser más sensible al tratamiento fotocatalítico, especialmente a tiempos de irradiación más largos, estas diferencias no deben ser consideradas importantes puesto que ambos microorganismos han sido cuantificados en medios de cultivo selectivo, con la limitación que conlleva el proceso de diferenciación selectiva del crecimiento de cada tipo de bacteria. Por tanto, se confirma la ausencia de una inactivación preferente entre ambas bacterias.

En conclusión, otros grupos han observado diferencias en cuanto a la eficacia del proceso fotocatalítico en la inactivación de bacterias Gram-negativas y Gram-positivas basadas principalmente en la estructura celular, composición química de la pared celular, carga electrostática, y otras propiedades que influyen en la interacción bacteria-catalizador como hidrofobicidad o formas de resistencia. Sin embargo, estos resultados sólo apuntan a diferencias en cuanto a la estructura celular las cuáles no parecen ser significativas en la eficacia del proceso, ni en agua desionizada ni en agua residual sintética.

Por tanto, los resultados obtenidos en los experimentos fotocatalíticos con TiO_2 en suspensión usando *E.coli* como bacteria modelo podrían ser extrapolados razonablemente a otras familias de bacteria, no sólo Gram-negativas sino también Gram-positivas, siendo el uso de *E.coli* como microorganismo indicador adecuado para seguir la evolución del proceso fotocatalítico de inactivación bacteriana.

4.3. Sistemas fotocatalíticos inmovilizados.

4.3.1. Caracterización físicoquímica.

Difracción de rayos X.

La Figura 4.24 muestra los difractogramas obtenidos tras el análisis de difracción de rayos X de las fases cristalinas del TiO_2 presentes en la capa de TiO_2 inmovilizada sobre una lámina de vidrio de borosilicato obtenida a partir de varios ciclos de recubrimiento por inmersión con TiO_2 P25 (1 y 3 recubrimientos). Estos datos se asumen equivalentes a los materiales de TiO_2 inmovilizado sobre la pared interna del reactor y sobre los anillos Raschig del reactor de lecho fijo. En ambos casos se observa la presencia de anatasa y rutilo, fases cristalinas del TiO_2 , en la proporción esperada para el catalizador comercial utilizado, 80 y 20 % de anatasa y rutilo

respectivamente. Cuando el número de recubrimientos de TiO₂ inmovilizado sobre vidrio es de 3, el pico correspondiente a la fase anatasa observado en un ángulo de 25,4 ° presenta una mayor intensidad, claramente relacionada con la mayor masa de TiO₂ incorporado.

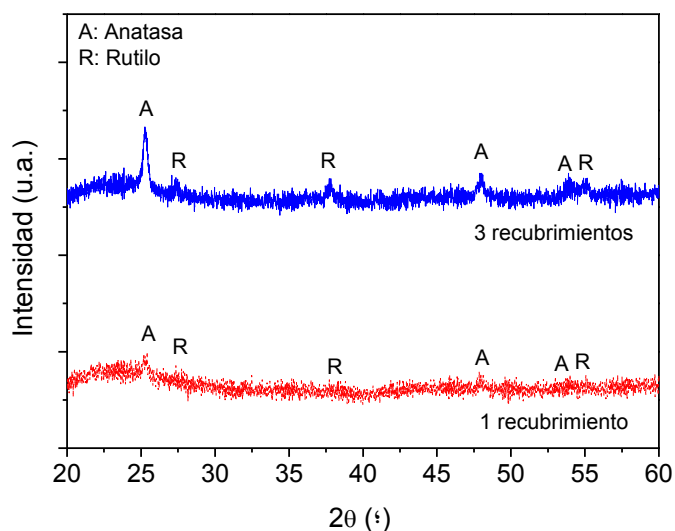


Figura 4.24. Difractograma de rayos X de las fases cristalinas obtenidas por inmovilización de TiO₂ P25 sobre una lámina de vidrio de borosilicato.

Microscopía electrónica de barrido.

La Figura 4.25, Figura 4.26, y Figura 4.27 muestran el espesor de la capa de TiO₂ inmovilizada sobre una lámina de vidrio de borosilicato tras 1, 2 y 3 ciclos de recubrimiento por inmersión con TiO₂ P25 *Degussa*. A partir de este análisis se ha cuantificado el espesor incorporado en cada caso, de forma que éste aumenta al aumentar el número de recubrimientos de TiO₂ de la siguiente forma: $0,44 \pm 0,15$; $0,69 \pm 0,13$; y $1,28 \pm 0,12$ μm para 1, 2 y 3 recubrimientos. La textura y superficie de la de TiO₂ incorporada mostrada en la Figura 4.27 derecha es porosa aunque presenta cierta heterogeneidad.

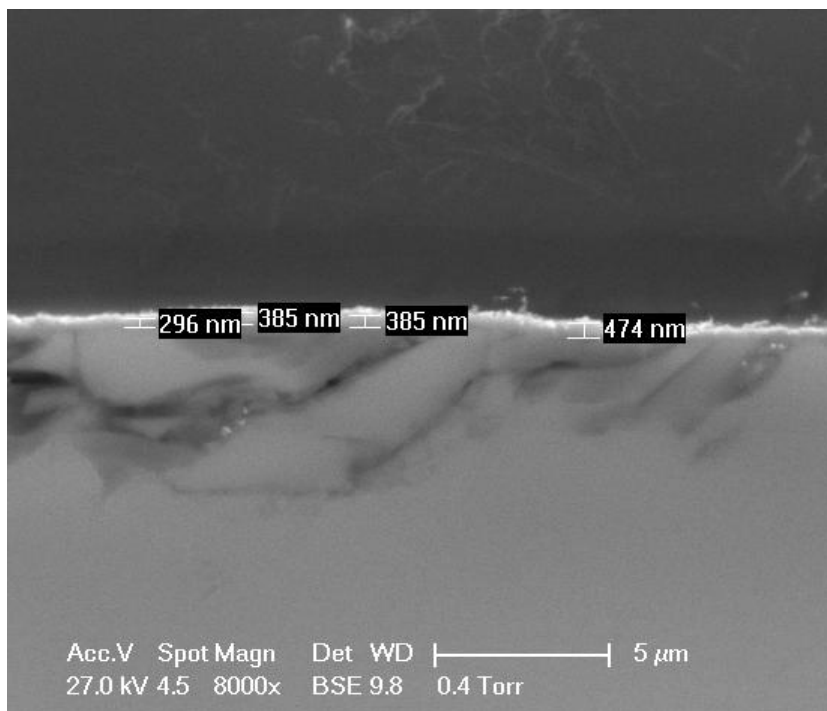


Figura 4.25. Micrografía SEM mostrando el espesor de la capa de TiO₂ inmovilizada sobre una lámina de vidrio de borosilicato sometida a 1 ciclo de recubrimiento con TiO₂ P25.

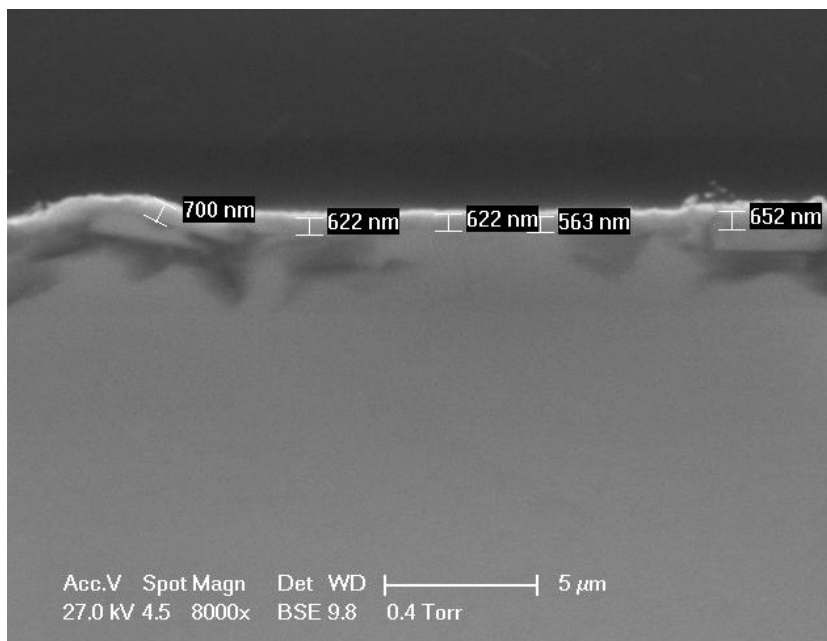


Figura 4.26. Micrografía SEM mostrando el espesor de la capa de TiO₂ inmovilizada sobre una lámina de vidrio de borosilicato sometida a 2 ciclos de recubrimiento con TiO₂ P25.

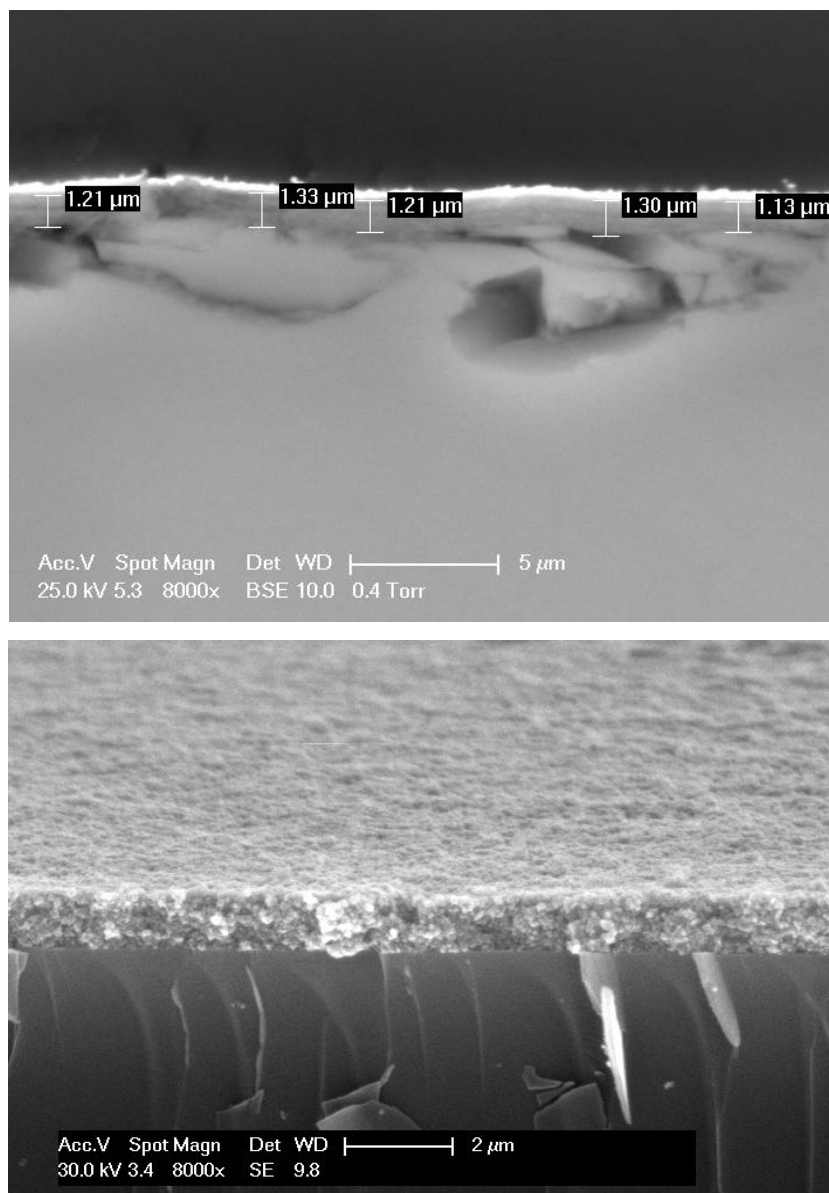


Figura 4.27. Micrografía SEM mostrando el espesor de la capa de TiO_2 inmovilizada sobre una lámina de vidrio de borosilicato sometida a 3 ciclos de recubrimiento con TiO_2 P25 (superior) y detalle de la textura de la capa de TiO_2 (inferior).

La masa de TiO_2 incorporado a la lámina de vidrio es de 0,0017; 0,0030; y 0,0060 g para 1, 2 y 3 recubrimientos respectivamente. Teniendo en cuenta que las dimensiones de la lámina son de 76 x 26 mm, la densidad aparente de la capa de TiO_2 (estimando el volumen a partir del espesor medio de la capa) es de 1,91; 2,19; y 2,37 g cm^{-3} para 1, 2 y 3 recubrimientos. Teniendo en cuenta que la densidad de la fase anatasa cristalina es 3,9 g cm^{-3} , los resultados de densidad aparente anteriores indican que la capa de TiO_2 presenta cierta porosidad y que el tratamiento térmico realizado entre cada recubrimiento da lugar a un aumento en la densidad

de la capa, reduciendo el volumen de porosidad. Estos datos se asumen equivalentes a los materiales de TiO_2 inmovilizado sobre la pared interna del reactor y sobre los anillos Raschig del reactor de lecho fijo.

Espectrofotometría UV-Vis.

En cuanto a las propiedades ópticas de los materiales, la Figura 4.28 muestra el espectro de absorción UV-Vis de la capa de TiO_2 inmovilizada sobre una lámina de vidrio de borosilicato tras 1, 2 y 3 ciclos de recubrimiento por inmersión con TiO_2 P25.

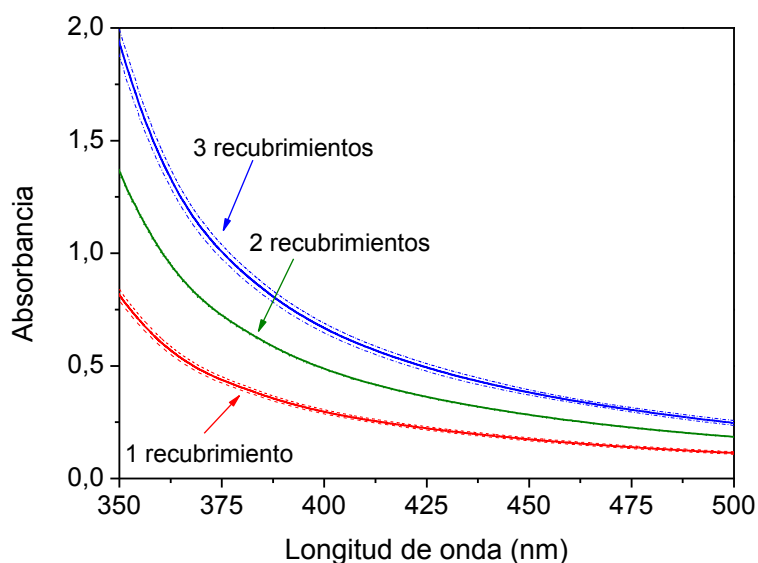


Figura 4.28. Espectro de absorción UV-A de la capa de TiO_2 obtenida por inmovilización de TiO_2 P25 sobre una lámina de vidrio de borosilicato. Las líneas discontinuas muestran el intervalo de variabilidad obtenido con diferentes muestras.

Según aumenta el número de recubrimientos, también lo hace la absorbancia de la capa de TiO_2 alcanzándose valores de tan solo un 1 % de transmitancia (absorbancia de 2) para el material de 3 recubrimientos de TiO_2 por debajo de 390 nm. Este aumento concuerda con la información aportada por el análisis de microscopía electrónica de barrido en la que se observó que el espesor de la capa de TiO_2 aumenta al incrementar la cantidad de catalizador incorporada.

En conclusión, el aumento en el número de recubrimientos por encima de 3 no modificaría sustancialmente la absorción de los materiales en el rango de longitudes de onda

de UV-A de interés, sino que daría lugar a valores más bajos de transmisión debido al aumento en la dispersión producida por la capa particulada. Por tanto, 3 ciclos de recubrimiento con TiO_2 serían suficientes para maximizar la absorción del catalizador, no siendo útil un aumento en la cantidad de titanio en la capa. Estos datos se asumen equivalentes a los materiales de TiO_2 inmovilizado sobre la pared interna del reactor y sobre los anillos Raschig del reactor de lecho fijo.

4.3.2. Reactor de pared catalítica.

La Figura 4.29 muestra los resultados experimentales de inactivación fotocatalítica de *E.coli* en agua desionizada (AD) en función del número de recubrimientos de TiO_2 soportado sobre la pared interna del reactor. Se observa que tanto para 1, 2, 3 y 4 recubrimientos de TiO_2 se consigue reducir la concentración de bacteria viable en 6 órdenes de magnitud tras un tiempo de irradiación entre 140 y 160 min. Además, en ambos casos el perfil de inactivación bacteriana es similar. Sin embargo, se observa una reducción significativa de la eficacia del proceso de inactivación fotocatalítica al utilizar 5 recubrimientos de TiO_2 .

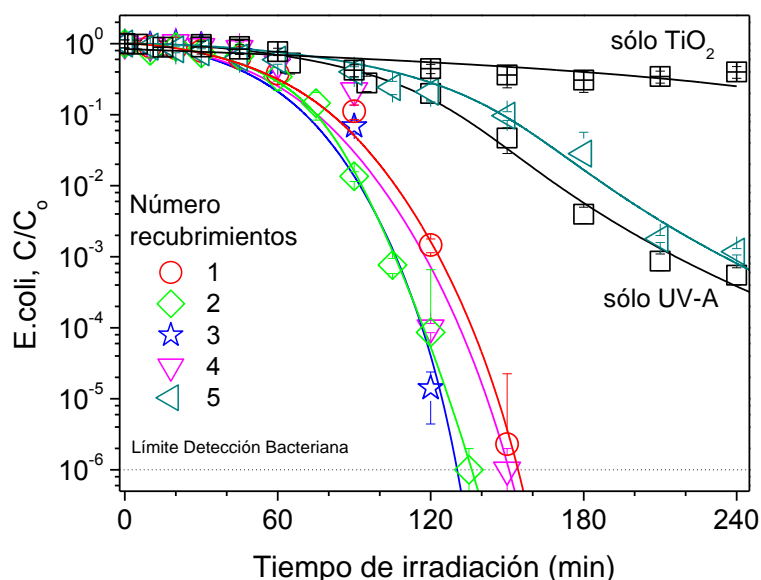


Figura 4.29. Inactivación fotocatalítica de *E.coli* en agua desionizada (AD) en el reactor de pared catalítica en función del número de recubrimientos de TiO_2 . Potencia de irradiación: $2,77 \times 10^{-6} \text{ Einstein s}^{-1}$. Experimento de referencia sólo con TiO_2 : 3 recubrimientos. Barras de error calculadas a partir de ocho recuentos independientes. Curvas calculadas usando el modelo cinético representado por las ecuaciones 4.8 y 4.9.

Puesto que los datos obtenidos a partir del análisis de los materiales por espectrofotometría UV-Vis mostraron un incremento de absorción de radiación UV-A de 1 a 3 recubrimientos de TiO_2 , se hubiera esperado una mayor actividad fotocatalítica al aumentar el número de recubrimientos.

Por otro lado, los datos obtenidos a partir del análisis de microscopía electrónica de barrido mostraron un aumento tanto en el espesor de la capa de catalizador con el número de recubrimientos de TiO_2 como en la densidad aparente del mismo. Por tanto, parece existir cierta reducción de la porosidad de la capa de catalizador a medida que se incrementa el número de recubrimientos. En el caso de los procesos de inactivación fotocatalítica bacteriana, esta reducción de la porosidad podría explicar que no se observe un aumento de la velocidad de inactivación de 1 a 3 recubrimientos de TiO_2 como hubiera sido lo esperable a partir de la información obtenida del espectro de absorción UV-Vis. Una reducción de la porosidad podría reducir la superficie activa del catalizador disponible para la interacción de la bacteria con el catalizador.

El hecho de que el tamaño de los microorganismos sea varios órdenes de magnitud superior a un compuesto químico y a las partículas de catalizador podría dar lugar a diferencias en el comportamiento de actividad fotocatalítica esperado. Cuando el TiO_2 está en suspensión, esta diferencia no parece ser tan importante como se observó en el apartado 4.2.2 en que el mismo valor de concentración de catalizador en suspensión optimiza el proceso de inactivación de bacterias y el de oxidación de contaminantes químicos. En este caso, los microorganismos en vez de ser adsorbidos en la superficie del catalizador como ocurre con un compuesto químico, son rodeados por las partículas de catalizador que interaccionan con la pared celular [191]. Sin embargo, cuando se utilizan catalizadores inmovilizados, esta diferencia de tamaño puede llegar a ser crítica ya que las moléculas pueden difundir al interior de la estructura porosa, mientras el contacto entre la bacteria y el catalizador puede estar restringido a la parte exterior de la superficie del TiO_2 . Este efecto ha sido observado en estudios previos [171] donde se obtuvieron bajas actividades en procesos de desinfección utilizando materiales porosos $\text{TiO}_2/\text{SiO}_2$ que habían mostrado alta actividad para la oxidación fotocatalítica de compuestos químicos como cianuros [192], alcoholes [193] o ácido dicloroacético [194].

Por tanto, el diseño de sistemas inmovilizados para la inactivación fotocatalítica de la bacteria debería tener en cuenta posibles diferencias respecto a los resultados de oxidación fotocatalítica de contaminantes químicos debido a la diferencia de tamaño de ambos tipos de contaminantes. Por ello, se han realizado experimentos para determinar la eficacia fotocatalítica en la oxidación de metanol 0,1 M en AD en términos de formación de formaldehído en función del número de recubrimientos de TiO_2 , como muestra la Figura 4.30.

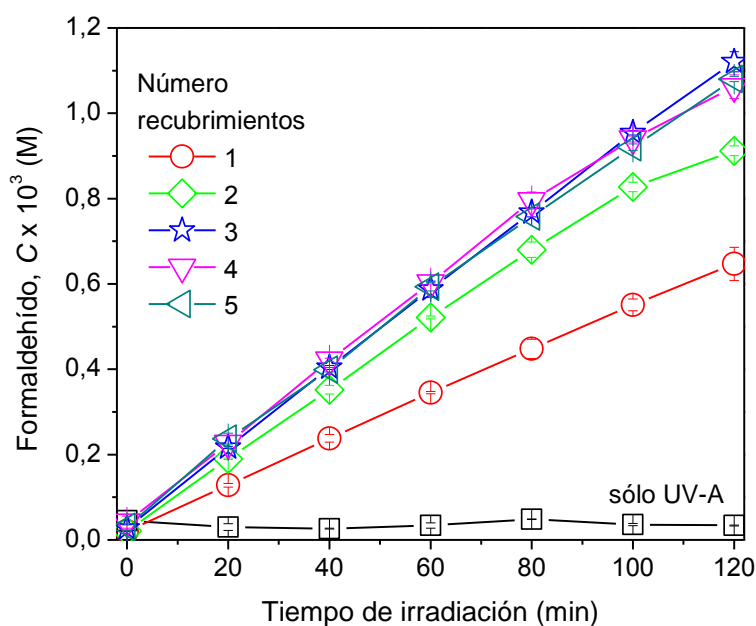


Figura 4.30. Formación de formaldehído a partir de la oxidación fotocatalítica de metanol 0,1 M en agua desionizada (AD) en el reactor de pared catalítica en función del número de recubrimientos de TiO_2 . Potencia de irradiación: $2,77 \times 10^{-6}$ Einstein s^{-1} . Barras de error calculadas a partir de dos análisis independientes.

Existe un incremento de actividad fotocatalítica en la oxidación de metanol puesto que se observa un aumento en la formación de formaldehído de 1 a 3 recubrimientos de TiO_2 . Estos resultados concuerdan con los datos obtenidos del análisis de espectrofotometría UV-Vis, de forma que al aumentar el espesor de la capa de TiO_2 de 1 a 3 recubrimientos, aumenta la absorción de radiación UV-Vis del material. Por otro lado, también hay que considerar la posibilidad de que el incremento de actividad se vea favorecido por la posibilidad de que el metanol difunda al interior de la capa porosa de TiO_2 . Por tanto, un contaminante químico

puede disponer de mayor superficie de interacción con el catalizador, no sólo la superficie externa del mismo como en el caso de microorganismos.

La Figura 4.31 muestra la dependencia de la constante cinética de inactivación de *E.coli* con el número de recubrimientos de TiO₂. Se observa una actividad similar entre 1 y 4 recubrimientos como se ha mencionado anteriormente. De forma que aumentos en el número de recubrimientos por encima de 1 no dan lugar a incrementos significativos en la eficacia del proceso. Destacar el descenso significativo de la eficacia del proceso al aumentar el número de recubrimientos de 4 a 5. Si se compara con los resultados de oxidación fotocatalítica de metanol en términos de velocidad de formación de formaldehído, mostrados también en la Figura 4.31, se observan diferencias importantes. Existe una dependencia lineal de la eficacia del proceso para aumentos en el número de recubrimientos de catalizador hasta 2. Por encima de este valor, el aumento en el número de recubrimientos no da lugar a actividades más elevadas de forma significativa. Esto puede ser debido a que las diferencias de absorción de radiación UV-A entre 2 y 3 recubrimientos no son tan significativas, como se deriva de los resultados de caracterización por espectrofotometría UV-Vis. En consecuencia, incrementos en el número de recubrimientos de 2 a 3 no parecen afectar notablemente a la actividad fotocatalítica y por tanto se puede asumir que con 2 recubrimientos de TiO₂ se optimiza la cantidad de radiación UV-A absorbida en el caso de la degradación de un compuesto químico, siendo éste el número de recubrimientos elegido para realizar el resto de experimentos cuando se utilice la configuración de reactor de pared. Aunque en los procesos de inactivación bacteriana, la absorción de radiación UV-A parece optimizarse con un recubrimiento, también en este caso se utilizarán 2 recubrimientos para asegurar que el proceso no se pueda ver limitado por la absorción de radiación UV-A.

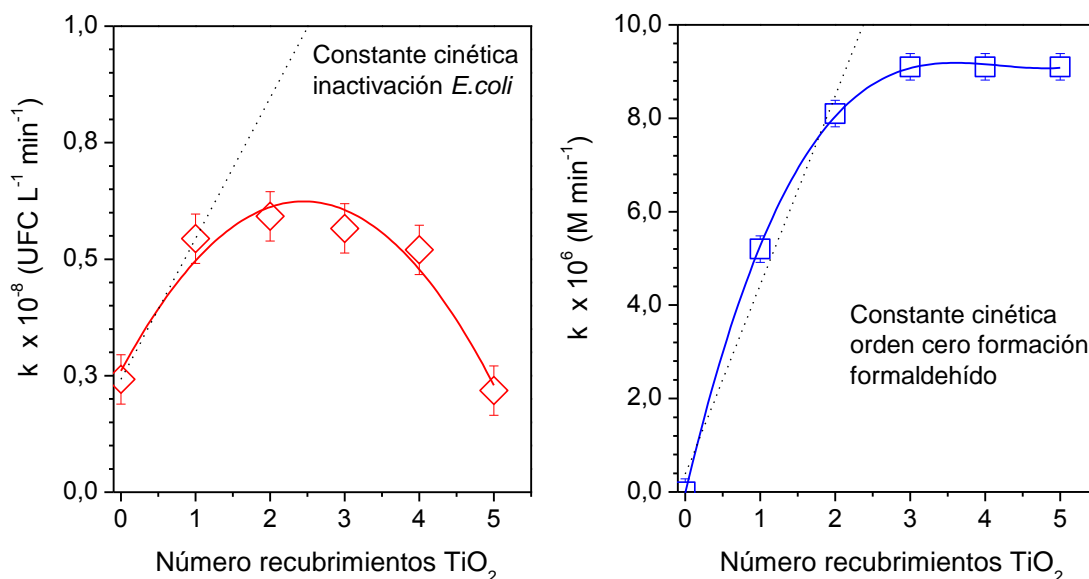


Figura 4.31. Comparación de la dependencia de las constantes cinéticas de inactivación fotocatalítica de *E.coli* y de formación de formaldehído con el número de recubrimientos de TiO_2 en agua desionizada (AD). Potencia de irradiación: $2,77 \times 10^{-6} \text{ Einstein s}^{-1}$. Barras de error calculadas a partir de experimentos duplicados.

La Figura 4.32 muestra la eficacia del proceso de inactivación fotocatalítica de *E.coli* en agua residual sintética (ARS). A pesar de que es necesario un mayor tiempo de irradiación para alcanzar la inactivación completa en comparación con el requerido en AD, tras 240 minutos de tratamiento se consigue una reducción de concentración de bacteria viables de 6 órdenes de magnitud, correspondiente al límite de detección. Además, la Figura 4.32 muestra los resultados de actividad fotocatalítica de inactivación bacteriana en ARS tras tres ciclos sucesivos de reutilización del catalizador, observándose que no se producen pérdidas significativas de actividad del catalizador. Por tanto, el tratamiento fotocatalítico con TiO_2 inmovilizado permite alcanzar la inactivación bacteriana completa en aguas residuales sintéticas. Además, no existe una pérdida de actividad del catalizador inmovilizado en sucesivos ciclos de reutilización, posibilitando el tratamiento en continuo de aguas residuales depuradas.

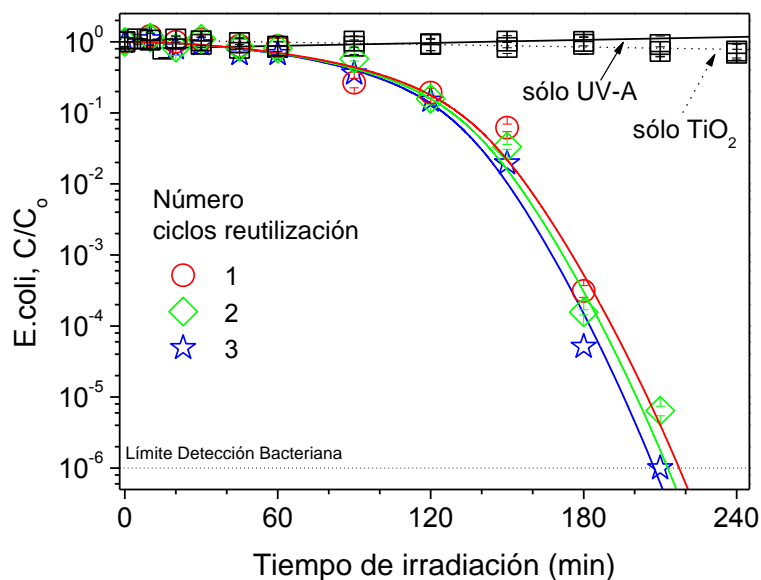


Figura 4.32. Inactivación fotocatalítica de *E. coli* en agua residual sintética (ARS) en el reactor de pared catalítica y estudio de desactivación del catalizador tras tres ciclos de reutilización. Potencia de irradiación: $2,77 \times 10^{-6}$ Einstein s^{-1} . Número de recubrimientos de TiO_2 : 2. Barras de error calculadas a partir de ocho recuentos independientes. Curvas calculadas usando el modelo cinético representado por las ecuaciones 4.8 y 4.9.

4.3.3. Reactor de lecho fijo.

Primeramente, se llevaron a cabo experimentos control de inactivación bacteriana no fotocatalítica. La Figura 4.33 muestra la evolución de la concentración de bacteria viable para varios experimentos de referencia en agua desionizada (AD). En presencia de TiO_2 inmovilizado en anillos Raschig en oscuridad no se observa que la viabilidad de la bacteria se vea afectada. En cambio, cuando se aplica radiación UV-A en ausencia de TiO_2 en AD se observa un descenso de tres órdenes de magnitud en la concentración de bacteria tras 240 min de irradiación, como se indicó anteriormente, en el apartado 4.2.1. Este efecto había sido explicado previamente como consecuencia de los daños al ADN bacteriano causado por radicales hidroxilo y otras especies oxidantes (ROS) formadas en el interior de la bacteria debido a la absorción de luz UV-A por compuestos presentes en la bacteria [112, 133]. Sin embargo, puesto que en agua residual sintética (ARS) no se observa ningún efecto negativo de la luz UV-A sobre la viabilidad de la bacteria, parece ser necesario un debilitamiento previo de la bacteria bajo condiciones de estrés osmótico para que estos daños al ADN sean efectivos y los mecanismos de reparación del mismo no tengan lugar.

Cuando se colocan anillos Raschig sin TiO_2 en el reactor, se observa una reducción de la concentración de bacteria tras 240 min de irradiación en AD de seis órdenes de magnitud. Esta mayor reducción de la concentración de bacteria viable en este caso podría ser debida a la combinación de diferentes condiciones de estrés a los que la bacteria es sometida como: i) daños al ADN como consecuencia de la absorción de radiación UV-A por compuestos bacterianos, ii) estrés osmótico existente en AD, y iii) estrés mecánico como consecuencia de daños en la bacteria debido a la turbulencia que podría generar la presencia de los anillos Raschig. Pero tampoco en este caso existe reducción significativa de la concentración de bacterias viables cuando el proceso se lleva a cabo en ARS, como muestra la Figura 4.34. De nuevo, queda de manifiesto la sensibilidad de *E.coli* a condiciones de estrés, como la radiación UV-A o turbulencia generada por anillos Raschig solo bajo condiciones de estrés osmótico, de acuerdo a otros grupos de investigación [121].

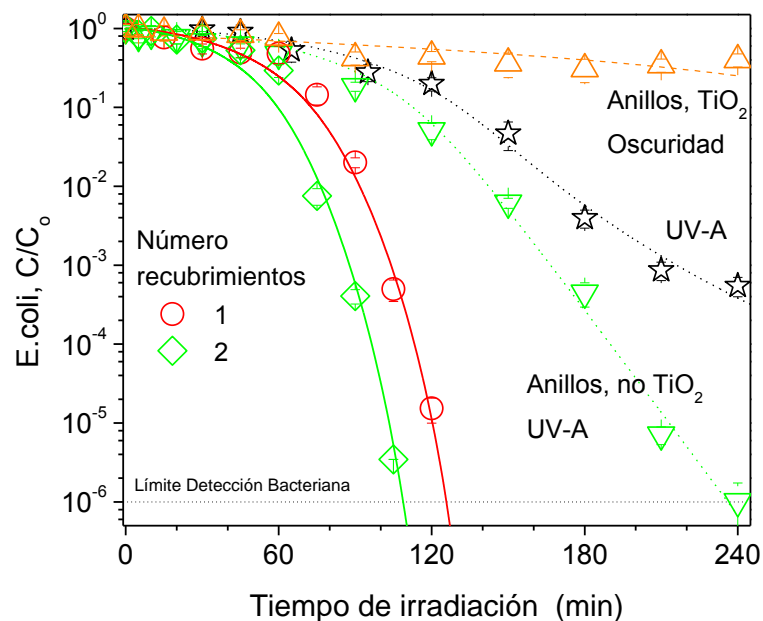


Figura 4.33. Inactivación fotocatalítica de *E.coli* en agua desionizada (AD) en el reactor de lecho fijo en función del número de recubrimientos de TiO_2 . Potencia de irradiación: $2,77 \times 10^{-6}$ Einstein s^{-1} . Experimento de referencia sólo con TiO_2 : 3 recubrimientos. Barras de error calculadas a partir de ocho recuentos independientes. Curvas calculadas usando el modelo cinético representado por las ecuaciones 4.8 y 4.9.

La Figura 4.33 también muestra la inactivación fotocatalítica de *E.coli* en agua desionizada en función del número de recubrimientos en un reactor de lecho fijo. Se observa una

reducción completa de la concentración de bacteria viable tras ~ 120 min de irradiación tanto para 1 recubrimiento como para 2. Al igual que en el caso del reactor de pared en AD no existen diferencias significativas en actividad al aumentar el número de recubrimientos. Por tanto, 2 es el número de recubrimientos de TiO_2 elegido para realizar el resto de experimentos cuando se utilice la configuración de reactor de lecho fijo.

La Figura 4.34 muestra también la inactivación fotocatalítica de *E.coli* en ARS en función del número de recubrimientos en un reactor de lecho fijo. En esta configuración de reactor se consigue también la reducción completa de la concentración de bacteria tras ~ 120 min de irradiación.

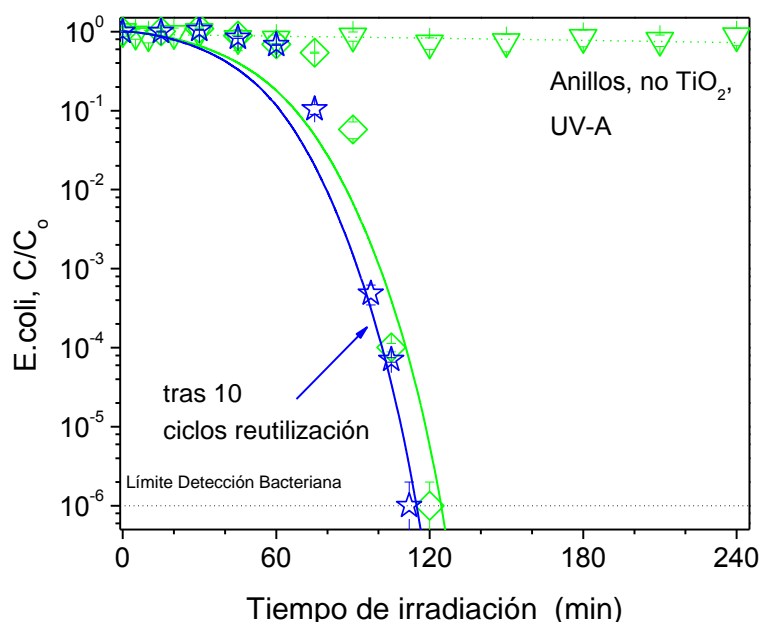


Figura 4.34. Inactivación fotocatalítica de *E.coli* en agua residual sintética (ARS) en el reactor de lecho fijo y estudio de desactivación del catalizador tras 10 ciclos de reutilización. Potencia de irradiación: $2,77 \times 10^{-6}$ Einstein s^{-1} . Número de recubrimientos de TiO_2 : 2. Barras de error calculadas a partir de ocho recuentos independientes de bacteria. Curvas calculadas usando el modelo cinético representado por las ecuaciones 4.8 y 4.9.

Destacar que en este tipo de configuración de catalizador no parece observarse un aumento significativo del tiempo de irradiación requerido para alcanzar el límite de detección bacteriana en comparación con el necesario en AD. Además, tras 10 ciclos consecutivos de reutilización del TiO_2 inmovilizado en los anillos Raschig no se observa que sea necesario

aumentar el tiempo de irradiación para alcanzar la reducción de bacteria completa, indicando la inexistencia de pérdida de actividad del catalizador. Puesto que este tipo de configuración de reactor parece ser la más adecuada para llevar a cabo un tratamiento fotocatalítico de inactivación de efluente de depuradora, se ha realizado un estudio en profundidad del este tipo de sistema.

Caudal.

La Figura 4.35 muestra el efecto de la variación del caudal de suspensión en la inactivación fotocatalítica bacteriana en el reactor de lecho fijo en AD.

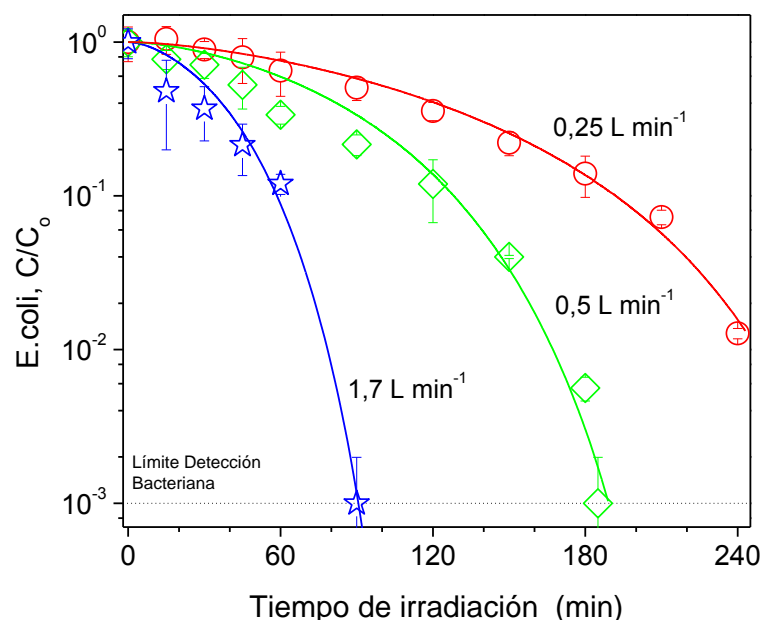


Figura 4.35. Inactivación fotocatalítica de *E. coli* en agua desionizada (AD) en el reactor de lecho fijo en función del caudal utilizado. Potencia de irradiación: $2,77 \times 10^{-6} \text{ E s}^{-1}$. Número de recubrimientos de TiO_2 : 2. Concentración inicial de bacteria: 10^3 UFC mL^{-1} . Barras de error calculadas a partir de ocho recuentos independientes. Curvas calculadas usando el modelo cinético representado por las ecuaciones 4.8 y 4.9.

Tanto las curvas de inactivación como los valores de constante cinética de inactivación bacteriana ($k \times 10^{-4}$) correspondientes a 5,5; 2,6; y $1,6 \text{ UFC L}^{-1} \text{ min}^{-1}$ para 1,7; 0,5; y $0,25 \text{ L min}^{-1}$ respectivamente muestran un incremento de la eficacia del proceso con el caudal. Experimentos similares se llevaron a cabo en ARS para descartar que este efecto pudiera

aparecer sólo en AD como consecuencia del estrés osmótico. Los valores de constante cinética obtenidos, correspondientes a 4,2; 1,9; y 1,0 UFC L⁻¹ min⁻¹ para 1,7; 0,5; y 0,25 L min⁻¹ respectivamente muestran la misma tendencia. Destacar además, que si se comparan los valores de constante cinética obtenidos en AD y ARS se observa de nuevo que las diferencias en la eficacia del sistema no se ven significativamente afectadas debido a la composición del agua.

El estudio de la influencia de esta variable en procesos de inactivación bacteriana ha dado lugar a resultados variables en bibliografía en función del tipo de catalizador utilizado. Varios autores han observado una elevada influencia del caudal de trabajo en la eficacia del proceso de inactivación bacteriana con sistemas con catalizador en suspensión [121]. Este hecho parece ser debido a la limitación que supone la presencia de oxígeno en estos sistemas, especialmente en los que el oxígeno sólo está presente debido a la recirculación del agua. Sin embargo, en este tipo de reactor fotocatalítico, el nivel de agitación asegura la saturación en oxígeno de la suspensión. En cambio, de acuerdo a otros autores [121, 123], el caudal parece no ser limitante al utilizar un catalizador inmovilizado donde el proceso parece estar limitado principalmente por la interacción bacteria-catalizador. Puesto que estos autores han utilizado valores elevados de caudal, a partir de 2 L min⁻¹, las diferencias observadas con otros autores en este caso podrían ser debidas a que el caudal podría no ser limitante a altos valores de caudal. Este hecho podría apuntar hacia un posible efecto de la influencia de la turbulencia del sistema en posibles daños mecánicos a la bacteria, así como en las posibles limitaciones difusivas de los sistemas con bajo caudal, dado el elevado tamaño de las bacterias. También podría estar relacionado con la eficacia de los ataques de los radicales hidroxilo en la pared celular. Varios autores [97] han señalado la irradiación continua como más eficaz que aquella recibida de forma intermitente. La primera podría estar asociada con caudales menores puesto que el tiempo de residencia de la bacteria en el reactor es mayor, y la segunda podría estar asociada a caudales mayores donde el tiempo de residencia de la bacteria en el sistema es menor y los mecanismos de reparación de daños podrían actuar en las zonas oscuras del sistema como tuberías y tanque.

Para determinar si existen aspectos microbiológicos propios de organismos vivos que puedan influir en los resultados observados, se han llevado a cabo experimentos similares con

un compuesto químico, metanol 0,1 M. Los resultados obtenidos se muestran en la Figura 4.36.

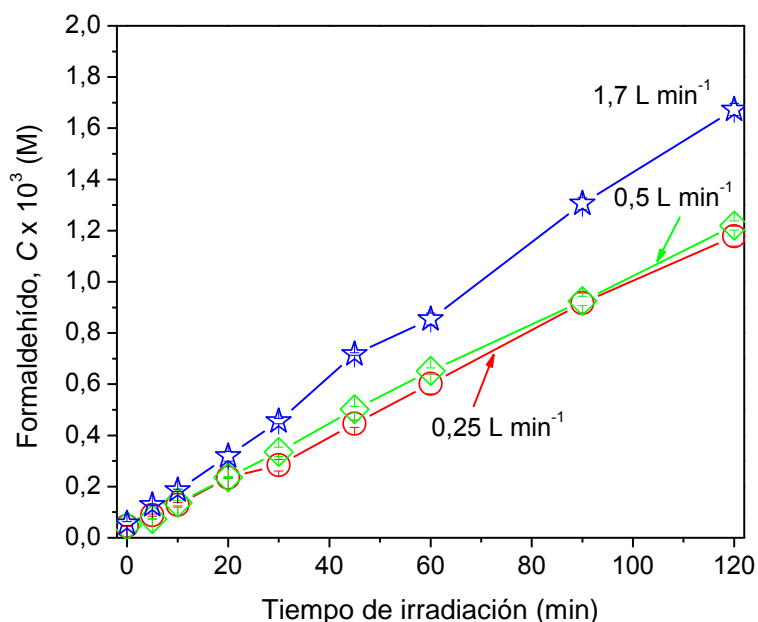


Figura 4.36. Formación de formaldehído a partir de la oxidación fotocatalítica de metanol 0,1 M en agua desionizada (AD) en el reactor de lecho fijo en función del caudal utilizado. Potencia de irradiación: $2,77 \times 10^{-6}$ Einstein s^{-1} . Número de recubrimientos de TiO_2 : 2. Barras de error calculadas a partir de dos análisis independientes.

Las constantes de orden cero de formación de formaldehído ($k \times 10^6$) son de 13,6; 9,9; y 9,6 $M \text{ min}^{-1}$ para 1,7; 0,5; y 0,25 $L \text{ min}^{-1}$ respectivamente. En este caso, no se observan diferencias en la eficacia del sistema para los valores más bajos de caudal estudiados (0,25 y 0,5 $L \text{ min}^{-1}$). Por tanto, la presencia de oxígeno no parece ser limitante en el proceso fotocatalítico este sistema. Al elevar el caudal de trabajo hay un ligero aumento en la eficacia del proceso fotocatalítico de oxidación de metanol. Sin embargo, estas diferencias no parecen ser tan significativas como las observadas en el proceso de inactivación bacteriana, sobre todo para los valores de caudal estudiados más bajos. Por tanto, estas diferencias podrían deberse a aspectos característicos de los procesos de inactivación bacteriano. Mientras que en un proceso de oxidación de un compuesto químico sólo es necesario un paso para afectar la estructura química del contaminante para dar lugar a su oxidación, en un proceso fotocatalítico de inactivación bacteriana intervienen una combinación de factores que podrían estar implicados: i) son necesarios varios ataques de los radicales hidroxilo sobre la pared

celular bacteriana para que tenga lugar su lisis celular que podría verse influido por el tiempo de residencia de la bacteria en el reactor y ii) los procesos de turbulencia podrían favorecer la inactivación bacteriana, reduciendo las limitaciones al transporte de materia, ya que las diferencias en la eficacia del sistema entre procesos de oxidación de compuestos químicos y de inactivación de bacterias son más evidentes para los valores de caudal más bajos estudiados.

Adhesión.

La Tabla 4.3 muestra la caracterización de la carga superficial tanto de *E.coli* como del catalizador inmovilizado en lecho fijo tanto en AD como en ARS. Como se comentó en el apartado 4.2.6, al estar cargada negativamente, tal y como indican los valores de potencial zeta y de acuerdo a lo esperado atendiendo al rango de pH de las suspensiones utilizadas, la superficie de la bacteria es hidrofílica. En consecuencia, las interacciones de la bacteria con compuestos y superficies con carga opuesta se verán favorecidas. Los valores de potencial zeta del TiO₂ (Tabla 4.3) indican la sensibilidad de su carga superficial a la composición del agua. La superficie del catalizador está positivamente cargada en AD puesto el punto isoeléctrico del TiO₂ parece encontrarse cercano a valores de pH entre 5,6 y 6,5 [113]. Por el contrario, el contenido en iones y materia orgánica presente en el ARS da lugar a un aumento del pH (por encima del punto isoeléctrico), responsable del cambio de la carga superficial del catalizador de positiva a negativa. De acuerdo a otros estudios [195], la carga negativa del catalizador en ARS observada también en los valores negativos obtenidos de potencial zeta podría ser debido, además del aumento del pH, a la posible adsorción de materia orgánica sobre el catalizador. En base a esta caracterización, se esperarían fuerzas de repulsión electrostáticas entre la superficie de la bacteria y del catalizador (en ARS), negativamente cargadas, resultando en una menor interacción y en consecuencia, adhesión. Por el contrario, se esperaría una mayor interacción entre la bacteria y el TiO₂ en agua desionizada, ya que la superficie de la bacteria podría experimentar fuerzas electrostáticas de atracción hacia el catalizador al presentar ambas superficies cargas opuestas.

Tabla 4.3. Caracterización de la bacteria y del catalizador y tasa de deposición (k_d) obtenidas a partir de experimentos de adhesión de *E.coli* en el reactor de lecho fijo en función de la composición del agua.

Bacteria/ Catalizador	Suspensión	pH	^a Fuerza iónica (M)	^b $k_d \times 10^{-4}$ (s ⁻¹)	^c Potencial zeta (ZP) (mV)
<i>E.coli</i>	^d AD	5,6	0	4,23 ± 2,66	-56,93 ± 0,89
<i>E.coli</i>	^e ARS	6,5	5,7 x 10 ⁻⁵	7,65 ± 1,61	-53,50 ± 0,82
TiO ₂	AD	5,6	0	^f –	30,91 ± 4,23
TiO ₂	ARS	6,5	5,7 x 10 ⁻⁵	–	-30,26 ± 3,43

^aFuerza iónica, dada por la concentración y valencia de los iones presentes en la disolución. ^b k_d , coeficiente de velocidad de deposición que permite cuantificar la adhesión de la bacteria al catalizador. ^cPotencial zeta (ZP), indica el signo y magnitud de la carga superficial de la bacteria o del catalizador. ^dAD, agua desionizada. ^eARS, agua residual sintética. ^fNo determinado. Errores obtenidos a partir de experimentos por triplicado.

Para intentar determinar si existe una influencia de la carga superficial tanto de la bacteria como del catalizador en la interacción entre ambos, se llevaron a cabo experimentos de adhesión de *E.coli* al catalizador inmovilizado en anillos Raschig en el reactor de lecho fijo tanto en AD como en ARS. Los resultados se muestran en la Figura 4.37. Estos experimentos permiten calcular la cantidad de bacteria retenida en la superficie disponible en el reactor de lecho fijo que corresponde básicamente a la interfaz sólido-líquido entre el TiO₂ inmovilizado en los anillos Raschig que se encuentran en el espacio anular del reactor y la suspensión. La concentración de bacteria que sale del reactor (normalizada respecto a la concentración que entra inicialmente) se representa en función del número de unidades de volumen de suspensión que pasa a través del volumen vacío del reactor (*pore volumes*). Tras el paso de una cantidad de suspensión equivalente a seis volúmenes de reactor vacío, la suspensión de bacteria deja de alimentarse al sistema y se reemplaza por la misma suspensión libre de bacteria, dando lugar a una caída en la concentración de bacteria en el efluente de salida del reactor hasta que finalmente ésta se aproxima a cero. De esta forma, la variación en la concentración de bacterias que sale del reactor puede considerarse como una medida indirecta de adhesión relativa de los microorganismos a la superficie de TiO₂.

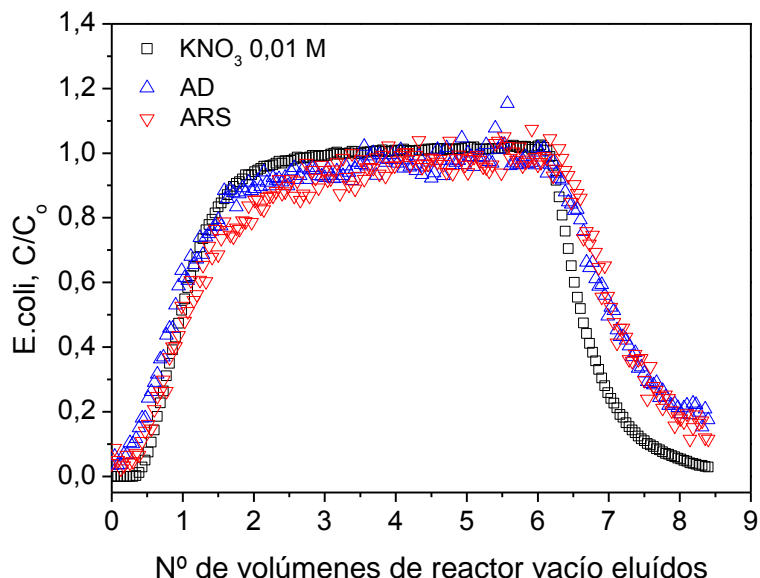


Figura 4.37. Curvas de rotura de *E.coli* en agua desionizada (AD) y agua residual sintética (ARS) en el reactor de lecho fijo. Número de recubrimientos de TiO_2 : 2. Concentración inicial de bacteria: 10^8 UFC mL^{-1} . Caudal: $0,025 \text{ L min}^{-1}$. Valores de C/C_0 obtenidos a partir de valores de absorbancia a 546 nm. Las barras de error, obtenidas a partir de experimentos triplicados, no se muestran para evitar confusión en la visualización de los datos experimentales. KNO_3 : utilizado como referencia al no presentar adhesión en el sistema.

Para comparar la cinética de adhesión de los dos tipos de suspensión utilizada, se determinó el coeficiente de velocidad de deposición ($k_d \times 10^{-4}, \text{ s}^{-1}$), calculado entre 1,8 y 2 unidades de volumen de reactor vacío de acuerdo a la ecuación 4.16 [166].

$$\dots\dots\dots k_d = -\frac{U}{f \cdot L} \ln \frac{C}{C_0} \tag{4.16}$$

dónde C/C_0 es la concentración de bacteria que sale del reactor normalizada respecto a la concentración que entra inicialmente, U es la velocidad de flujo superficial, f es la porosidad del reactor, y L es la longitud del reactor.

Los coeficientes de la velocidad de deposición estimados a partir de los experimentos de adhesión de *E.coli* al catalizador en AD y ARS mostrados en la Figura 4.37 se recogen en la Tabla 4.3. Las diferencias en la composición de la suspensión parecen influir en la adhesión de la bacteria al catalizador, como indican los valores de k_d obtenidos. A partir de los datos de caracterización de la superficie de la bacteria y del catalizador que sugieren la existencia de fuerzas electrostáticas de atracción entre ambos, era esperable que los valores más altos de los

coeficientes de la velocidad de deposición se hubieran obtenido en AD. Sin embargo, los valores más altos de k_d se obtienen en ARS, indicando la existencia de una mayor adhesión, lo que sugiere la necesidad de considerar otro tipo de interacciones.

La contribución de la materia orgánica presente en el efluente de depuradora a la adhesión bacteriana está aún sujeta a debate en la bibliografía. Varios estudios muestran el efecto negativo de la materia orgánica aniónica en la adhesión de la bacteria, ya que su presencia puede aumentar la repulsión entre la bacteria y la superficie al incrementar la carga negativa de la bacteria por efecto de la adsorción de materia orgánica en la pared celular de la misma [25, 180, 196]. En ese caso, se debería haber obtenido un valor absoluto de potencial zeta mayor en ARS en comparación con el de agua desionizada, algo que, sin embargo, no se observa (Tabla 4.3). Por el contrario, otros grupos proponen que la materia orgánica podría favorecer la adhesión de la bacteria ya que su presencia altera la superficie de la misma [197], puede ser usada por la bacteria como fuente de carbono con fines de supervivencia [198] o incrementar la hidrofobicidad [196] o rugosidad de los sustratos [25, 128, 199]. Además, la materia orgánica podría actuar como un polielectrolito, afectando la adhesión por interacciones estéricas. De acuerdo a Portinga y col. [180], los polielectrolitos más pequeños podrían actuar como puente entre la bacteria y los sustratos que de lo contrario sufrirían fuerzas de repulsión entre ellos.

Por otra parte, la presencia de iones en el efluente de depuradora podría afectar al fenómeno de la adhesión, ganando importancia frente a la presencia de materia orgánica. A pesar de que la fuerza iónica en el efluente de depuradora es baja ($5,7 \times 10^{-5}$ M), existen cationes divalentes como Ca^{2+} y Mg^{2+} que tienen un elevado efecto neutralizando la carga negativa de la bacteria [25, 188]. De hecho, otros grupos de investigación también han observado que un valor de fuerza iónica bajo en presencia de materia orgánica puede aumentar la adhesión entre la bacteria y el sustrato al reducir la repulsión electrostática presente entre ambos [199]. Además, los cationes divalentes pueden también dar lugar a la formación de puentes catiónicos entre la superficie de la bacteria y de los sustratos cargados negativamente, reduciendo las fuerzas electrostáticas de repulsión existentes entre ambos [157, 200, 201]. Otros grupos han identificado el papel de los cationes divalentes neutralizando la carga negativa de la materia orgánica [196, 202].

En este caso, como se ha mencionado anteriormente, los valores negativos de potencial zeta del catalizador observados en ARS podrían ser también consecuencia de la adsorción de materia orgánica en la superficie del mismo, de acuerdo a otros autores [188, 195]. Otros grupos de investigación [203] también han señalado que la adsorción de materia orgánica en la superficie del TiO_2 en presencia de Ca^{2+} puede estar favorecida debido a la formación de puentes catiónicos, ya que los grupos carboxilo de la materia orgánica podrían unirse al catalizador a través de este catión. En esta situación, debido a una posible interacción de la materia orgánica con la superficie del TiO_2 , la bacteria podría verse más predispuesta a unirse al catalizador por motivos de supervivencia [198]. Como podría ocurrir en este caso, si la superficie del catalizador llega a estar más cargada negativamente debido a la adsorción de materia orgánica, los cationes podrían fácilmente ser atraídos, actuando no sólo como puentes entre la materia orgánica y el catalizador sino además como puentes entre el catalizador y la bacteria. La Figura 4.38 muestra esquemáticamente cómo la interacción bacteria- TiO_2 parece ocurrir en presencia de materia orgánica.

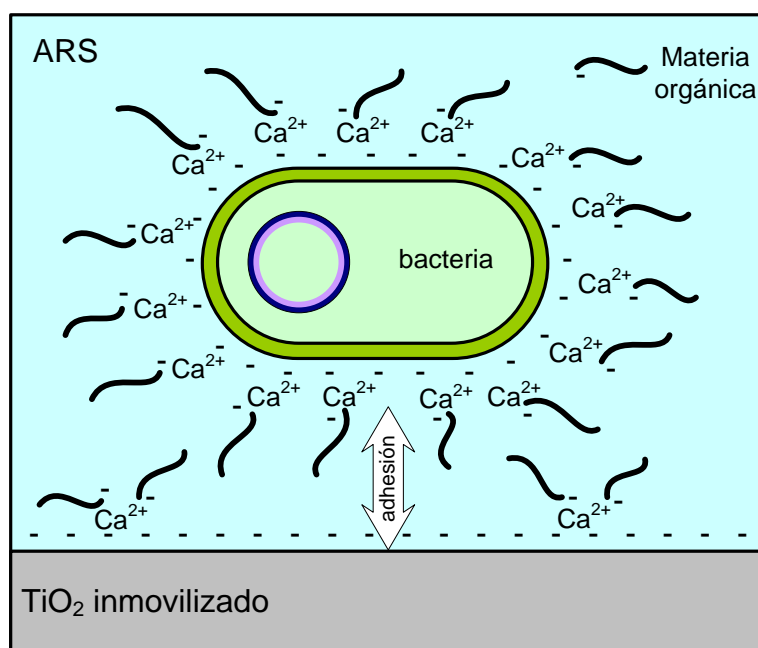


Figura 4.38. Representación esquemática del mecanismo de interacción bacteria- TiO_2 propuesto en el reactor de lecho fijo en agua residual sintética (ARS).

Finalmente, destacar que también se realizaron experimentos de adhesión bajo las mismas condiciones de operación utilizando *E.faecalis* como microorganismo. En este caso los

coeficientes de deposición ($k_d \times 10^{-4}$) obtenidos han sido $3,52 \pm 1,97$ y $6,45 \pm 3,23 \text{ s}^{-1}$ en AD y ARS respectivamente, no existiendo diferencias significativas con los obtenidos para *E.coli*. La existencia de una adhesión de ambas bacterias al catalizador similar correlaciona con la ausencia de diferencias significativas en cuanto a la carga superficial y composición de su pared celular mostrada en el apartado 4.2.6. Apoya también la ausencia de diferencias notables en la eficacia del proceso fotocatalítico de inactivación de ambos tipos de bacterias, comentado en dicho apartado.

4.3.4. Comparación entre los reactores fotocatalíticos.

Las Figuras 4.42 y 4.43 muestran la eficacia de ambos sistemas fotocatalíticos con TiO_2 inmovilizado en comparación con el sistema fotocatalítico en suspensión en la inactivación de *E.coli* en AD y en ARS respectivamente.

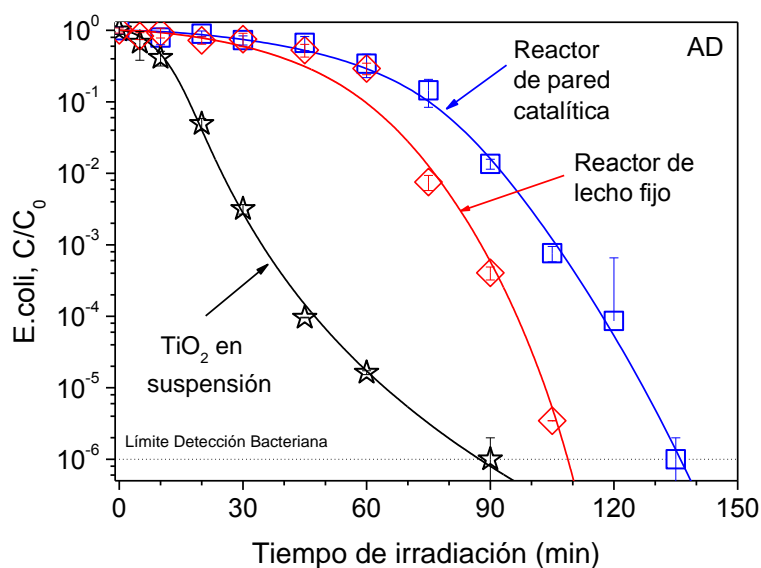


Figura 4.39. Comparación de la inactivación de *E.coli* en agua desionizada (AD) de los sistemas fotocatalíticos con TiO_2 inmovilizado y en suspensión. Potencia de irradiación: $2,77 \times 10^{-6} \text{ Einstein s}^{-1}$. Concentración de TiO_2 : $0,1 \text{ g L}^{-1}$. Número de recubrimientos de TiO_2 : 2. Barras de error calculadas a partir de ocho recuentos independientes. Curvas calculadas usando el modelo cinético representado por las ecuaciones 4.8 y 4.9.

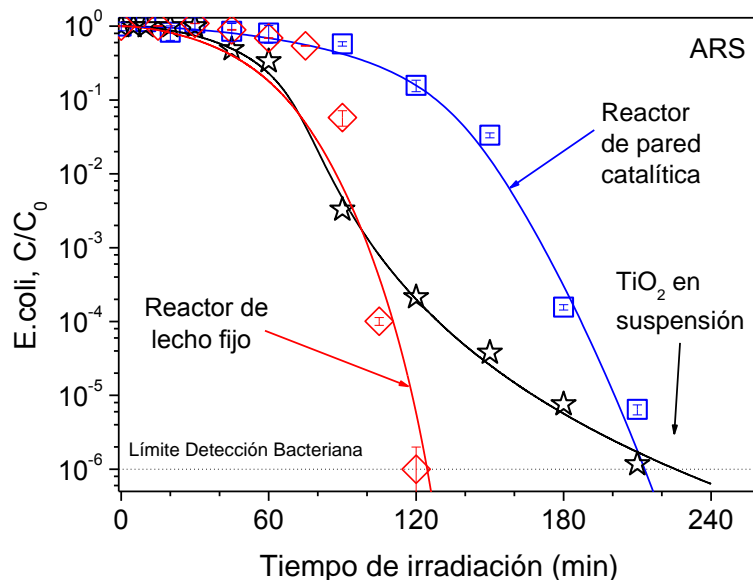


Figura 4.40. Comparación de la inactivación de *E. coli* en agua residual simulada (ARS) de los sistemas fotocatalíticos con TiO₂ inmovilizado y en suspensión. Potencia de irradiación: $2,77 \times 10^{-6}$ Einstein s⁻¹. Concentración de TiO₂: 0,1 g L⁻¹. Número de recubrimientos de TiO₂: 2. Barras de error calculadas a partir de ocho recuentos independientes. Curvas calculadas usando el modelo cinético representado por las ecuaciones 4.8 y 4.9.

En primer lugar, se observan diferencias significativas en la forma de las curvas de inactivación entre los sistemas fotocatalíticos con TiO₂ inmovilizado y en suspensión. La curva de inactivación del sistema con TiO₂ en suspensión presenta un corto retraso inicial u “hombro” seguido de una elevada velocidad de inactivación inicial que disminuye progresivamente con el tiempo de irradiación dando lugar a “colas” finales. Por el contrario, las curvas de inactivación bacteriana de ambos sistemas inmovilizados presentan formas distintas, mostrando un mayor retraso inicial la velocidad de inactivación y un aumento de la velocidad de inactivación a tiempos de irradiación más largos.

Las diferencias en los perfiles de inactivación entre sistemas con TiO₂ en suspensión e inmovilizado, también observadas por otros grupos de investigación [122, 137, 171], pueden deberse a la diferente interacción bacteria-TiO₂. Destacar que la “cola” final observada en sistemas con TiO₂ en suspensión no está presente en sistemas con catalizador inmovilizado. En AD (Figura 4.39), puede deberse a la inhibición del proceso fotocatalítico debido a la presencia de compuestos orgánicos e inorgánicos liberados al medio tras la lisis celular, mucho más significativo con TiO₂ en suspensión. Esta hipótesis se ve reforzada por los resultados en ARS (Figura 4.40), donde se observa una desactivación importante del proceso

en el sistema con TiO_2 en suspensión, mientras que en sistemas inmovilizados no se observa la desaceleración equivalente. Además, se observa un incremento notable del retraso inicial u “hombro” en ARS con respecto al observado en AD en el sistema con TiO_2 en suspensión en comparación con el reactor de lecho fijo. De hecho, en el sistema con TiO_2 inmovilizado en un reactor de lecho fijo, el tiempo de irradiación requerido para alcanzar el límite de detección bacteriana en ARS es muy similar al requerido en AD.

En segundo lugar, se requiere un tiempo de irradiación mayor para alcanzar una inactivación completa en ARS en comparación con el requerido en AD en los tres sistemas fotocatalíticos utilizados. Como se ha discutido en apartados anteriores, este efecto es debido a la competencia entre iones y materia orgánica con la bacteria por los radicales hidroxilo, junto con la falta de estrés osmótico que tiene lugar en agua desionizada, así como la influencia de las sustancias presentes en el efluente de depuradora que parecen favorecer la adhesión de la bacteria al catalizador.

Destacar que el tiempo requerido para alcanzar la inactivación completa de *E.coli* en ARS es menor en el reactor de lecho fijo en comparación con el sistema con TiO_2 en suspensión y el reactor de pared catalítica, también con TiO_2 inmovilizado. Las diferencias de actividad en ARS observadas entre el reactor de lecho fijo y el sistema con TiO_2 en suspensión podrían ser debidas a diferencias en la interacción bacteria-catalizador como se ha mencionado anteriormente, ya que tanto la competencia de las sustancias presentes en el efluente de depuradora por los $\cdot\text{OH}$ como su influencia en la adhesión de la bacteria al catalizador deberían ser similares en ambos sistemas. De hecho, las diferencias en la interacción bacteria- TiO_2 podrían ser responsables de las diferencias observadas en los perfiles de inactivación. La ausencia de “cola” final, así como el “hombro” inicial similar tanto en ARS como en AD en el caso reactor de lecho fijo, sugieren una menor inhibición del proceso fotocatalítico en este sistema debido a la presencia de iones y materia orgánica en comparación con el sistema en suspensión.

Se han llevado a cabo experimentos adicionales para clarificar la existencia de diferencias en la interacción bacteria- TiO_2 entre los sistemas con TiO_2 inmovilizado y con TiO_2 en suspensión que pudieran dar lugar a posibles diferencias en el mecanismo de inactivación bacteriana, manifestadas en la comparación de los perfiles de inactivación en ambos sistemas.

Para ello se han realizado ensayos cuantitativos de permeabilidad de membrana a través de imágenes de microscopía de epifluorescencia durante dos reacciones fotocatalíticas de inactivación de *E.coli* en ARS en el reactor de lecho fijo y con TiO_2 en suspensión. La Figura 4.41 muestra los resultados obtenidos en el conteo de células azules y rojas según avanza el tiempo de irradiación en ambos sistemas fotocatalíticos. Se observa que la cantidad de células rojas, teñidas con PI y por tanto con su membrana celular dañada, aumentan desde el comienzo de la reacción en el reactor de lecho fijo en comparación con el retraso inicial observado en el reactor con TiO_2 en suspensión.

Por tanto, de acuerdo a estos ensayos de permeabilidad de la membrana celular, las bacterias dañadas aumentan desde el comienzo de la reacción en el reactor de lecho fijo, mientras que los daños a la membrana no aparecieron hasta después de 60 min de irradiación en el caso del sistema con TiO_2 en suspensión. Aunque las bacterias dañadas aparecen antes en el reactor con TiO_2 inmovilizado, no implica que las bacterias hayan sido inactivadas ya que pueden permanecer viables para crecer como se observa en la Figura 4.40, donde la reacción se siguió por siembra en placa sólida. Estos resultados podrían explicarse considerando las diferencias en la interacción bacteria- TiO_2 entre sistemas en suspensión e inmovilizados, esquematizadas en la Figura 4.42. En el caso del sistema con TiO_2 en suspensión, las partículas de TiO_2 cubren una elevada superficie de la bacteria e incluso las partículas más pequeñas pueden entrar al citoplasma, por lo que los ataques de los radicales hidroxilo se distribuyen por toda la membrana celular, incluso en el interior de la bacteria. Por el contrario, en un sistema con TiO_2 inmovilizado la interacción de la bacteria con el catalizador ocurre en una parte reducida de la superficie del microorganismo, sin posibilidad de entrada de partículas de TiO_2 al interior del mismo. En este caso, los ataques de los radicales hidroxilo se concentran en un área específica de la pared celular de la bacteria.

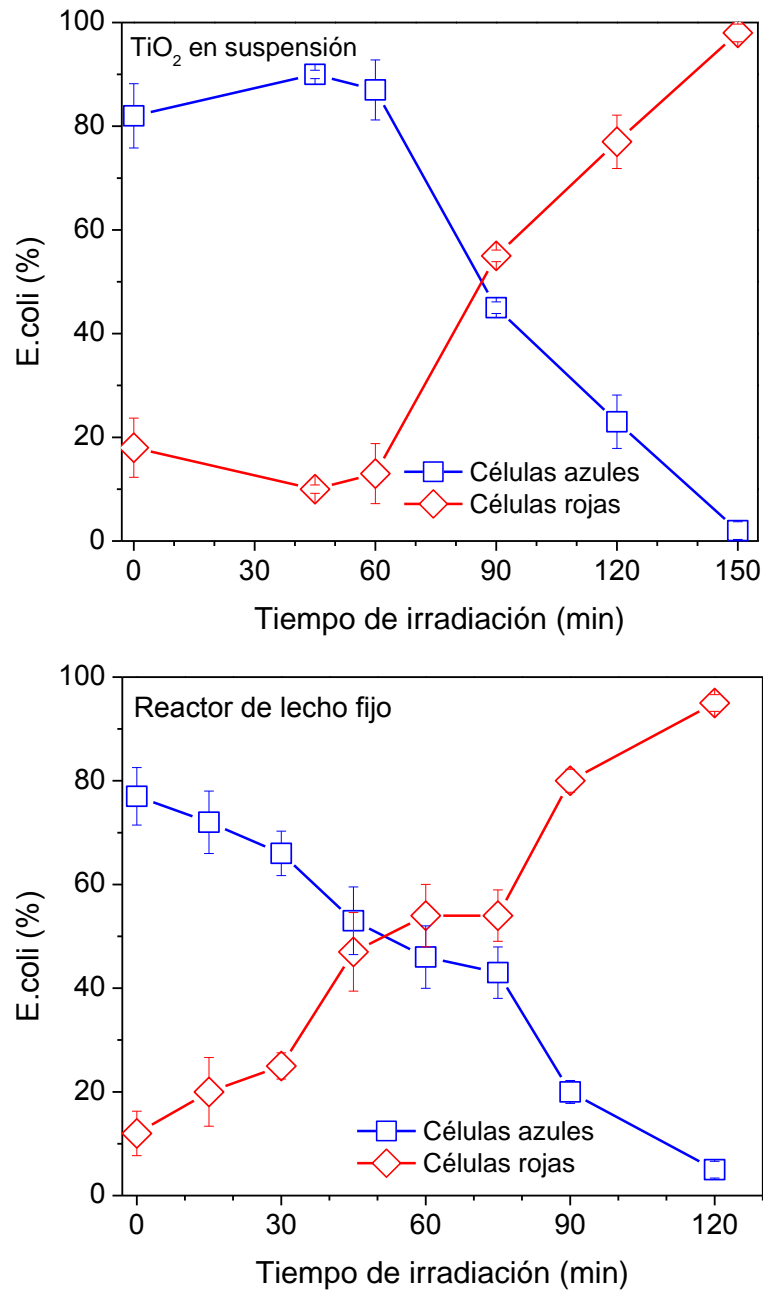


Figura 4.41. Comparación de los resultados cuantitativos del ensayo de permeabilidad DAPI/PI en experimentos fotocatalíticos de inactivación de *E.coli* en agua residual sintética (ARS) con TiO₂ en suspensión (superior) e inmobilizado en un reactor de lecho fijo (inferior).

Concentración de TiO₂: 0,1 g L⁻¹. Número de recubrimientos de TiO₂: 2. Potencia de irradiación: $2,77 \times 10^{-6}$ Einstein s⁻¹. Valores determinados a través del procesamiento automático de imágenes utilizando el programa *ImageJ 1.42*. Barras de error calculadas a partir de tres imágenes independientes.

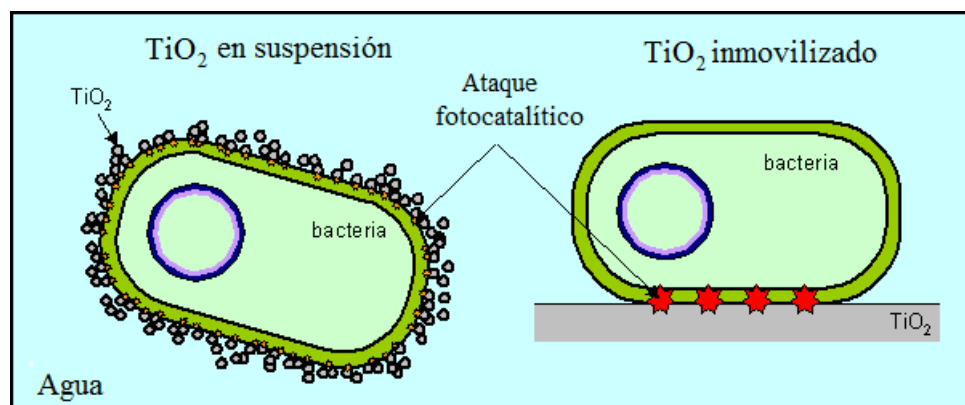


Figura 4.42. Representación esquemática de las diferencias en la interacción bacteria-TiO₂ en un sistema fotocatalítico con TiO₂ en suspensión (izquierda) e inmobilizado (derecha).

Ya que la interacción bacteria-TiO₂ en un sistema inmobilizado podría tener lugar en una zona específica de la pared celular, los ataques de los $\cdot\text{OH}$ podrían ser más eficaces que los que tienen lugar en el sistema con TiO₂ en suspensión, requiriendo un menor número de daños acumulados para inactivar la bacteria al estar más concentrados. Por el contrario, en un sistema con TiO₂ en suspensión se requiere un mayor tiempo de irradiación para aumentar la permeabilidad de la membrana en comparación con el sistema inmobilizado, sugiriendo que puesto que los daños se distribuyen por toda la membrana celular, los ataques de los $\cdot\text{OH}$ no serían tan efectivos, requiriendo un mayor número de daños acumulados para conseguir la inactivación irreversible. Además, estos pequeños daños en la estructura celular que parecen tener lugar en el sistema con TiO₂ en suspensión podrían ser más fácilmente reparados por los mecanismos de reparación de la bacteria en la oscuridad que tienen lugar tanto en el depósito como en las tuberías del sistema, que los daños en zonas específicas de la pared celular que parecen tener lugar en el sistema inmobilizado.

En cuanto a las diferencias de actividad observadas entre ambos sistemas inmobilizados, otros grupos de investigación también han destacado la importancia del tipo de soporte utilizado para inmobilizar el catalizador y su influencia en la eficacia del proceso [137, 204]. Puesto que la forma de las curvas de inactivación obtenidas en ambos reactores son similares, la explicación más probable a la menor eficacia fotocatalítica del reactor de pared catalítica en comparación con el reactor de lecho fijo en términos de tiempo de irradiación requerido para alcanzar la inactivación completa de *E.coli* podría ser la menor turbulencia existente así como su menor superficie de TiO₂ disponible para la interacción con la bacteria. De hecho,

experimentos de adhesión de *E.coli* al TiO₂ inmovilizado en el reactor de pared catalítica dieron lugar a coeficientes de velocidad de deposición de la bacteria ($k_d \times 10^{-4}$) correspondientes a $3,39 \pm 2,66$ en AD y $2,43 \pm 2,66 \text{ s}^{-1}$ en ARS, inferiores (sobre todo en ARS) a los valores correspondientes al reactor de lecho fijo, de $4,23 \pm 2,66$ y $7,65 \pm 1,61 \text{ s}^{-1}$ en AD y ARS respectivamente.

4.4. Electrodo fotocatalítico.

Como ha sido descrito en la introducción, la inmovilización del fotocatalizador en un soporte conductor sobre el que es posible aplicar una diferencia de potencial, es decir los electrodos fotocatalíticos, además de presentar las ventajas correspondientes a los sistemas inmovilizados posibilitan la mejora del rendimiento cuantico del proceso debido a las previsibles mejoras en la separación de cargas. Con el objetivo de evaluar la eficacia de los sistemas fotoelectrocatalíticos en la desinfección de aguas, se estudiaron primero diferentes tipos de electrodos preparados a pequeña escala y caracterizados y evaluados en una celda fotoelectrocatalítica cuya operación se controla mediante un potencióstato con una configuración de 3 electrodos para posteriormente realizar el cambio de escala a un reactor fotoelectrocatalítico de 2 electrodos de mayor tamaño operando con una fuente de alimentación.

4.4.1. Celda fotoelectrocatalítica.

Los estudios realizados en una celda tienen la ventaja de que las condiciones de operación de naturaleza electroquímica pueden ser perfectamente controladas con la utilización de un potencióstato con una configuración de 3 electrodos que permite fijar con exactitud los potenciales de trabajo respecto de un electrodo de referencia. Por lo tanto, el estudio del tipo de soporte y naturaleza y espesor de película de TiO₂ así como su relación con la actividad fotoelectrocatalítica de los electrodos preparados fue realizado en este sistema.

4.4.1.1. Estudio del tipo de electrodo.

Para evaluar el efecto del tipo de electrodo sobre la eficacia del proceso se prepararon 3 sistemas diferentes preparados por 3 ciclos de recubrimiento con TiO₂ P25 de: i) una lámina de titanio metálico (TiO₂/Ti); ii) un vidrio conductor con una resistencia de $10 \Omega \text{ sq}^{-1}$

(TiO₂/ITO10); y, iii) un vidrio conductor con una resistencia de 100 Ω sq⁻¹ (TiO₂/ITO100); más, iv) un cuarto electrodo de referencia preparado por tratamiento térmico de calcinación en aire a 700°C de una lámina de titanio para obtener una capa externa de TiO₂ (Ti). Los 3 primeros electrodos han sido preparados siguiendo el mismo procedimiento de deposición de los sistemas fotocatalíticos inmovilizados estudiados en apartado 4.3, mientras que el cuarto electrodo proporcionará la comparación entre los electrodos particulados preparados por recubrimiento con una suspensión de TiO₂ frente a los electrodos formados por crecimiento de cristales de TiO₂ por oxidación directa de titanio metálico.

El estudio se ha realizado analizando en primer lugar las características físicoquímicas de los electrodos para posteriormente determinar sus propiedades fotoelectroquímicas y finalmente evaluar su actividad fotocatalítica y fotoelectrocatalítica.

Caracterización físicoquímica.

La Figura 4.43 muestra los difractogramas de rayos X de los electrodos Ti, TiO₂/Ti, TiO₂/ITO100 y TiO₂/ITO10, mostrando la posible presencia de las fases cristalinas de TiO₂ anatasa y rutilo. En el electrodo Ti obtenido por tratamiento térmico de titanio a 700 °C se observa la presencia exclusivamente de fase rutilo. En la Figura 4.44 se presentan los resultados obtenidos en los tratamientos térmicos a diferentes temperaturas, mostrando que el rutilo comienza a formarse a partir de 700 °C y que no es posible la formación de anatasa por calcinación, de acuerdo con lo observado previamente por otros autores [70, 205, 206]. Por el contrario, en los electrodos particulados TiO₂/Ti, TiO₂/ITO100 y TiO₂/ITO10, preparados por deposición de TiO₂ P25, se observa la presencia de anatasa y rutilo en las proporciones esperadas correspondientes al material comercial, sin que se hay producido transformación de una fase en otra durante el tratamiento térmico de estabilización a los que se somete a estos electrodos. Además de las señales correspondientes a anatasa y rutilo, los electrodos preparados sobre un soporte de titanio muestran señales de gran intensidad correspondientes a las fases cristalinas de este metal, mientras que los electrodos soportados sobre vidrio conductor muestran las señales correspondientes al óxido de estaño e indio (ITO, *indium tin oxide*) que constituye la capa conductora del material. Como se puede observar, el soporte de vidrio de menor resistencia (ITO10) da lugar a señales de ITO de mayor intensidad, como corresponde al mayor espesor de material conductor que proporciona una menor resistencia.

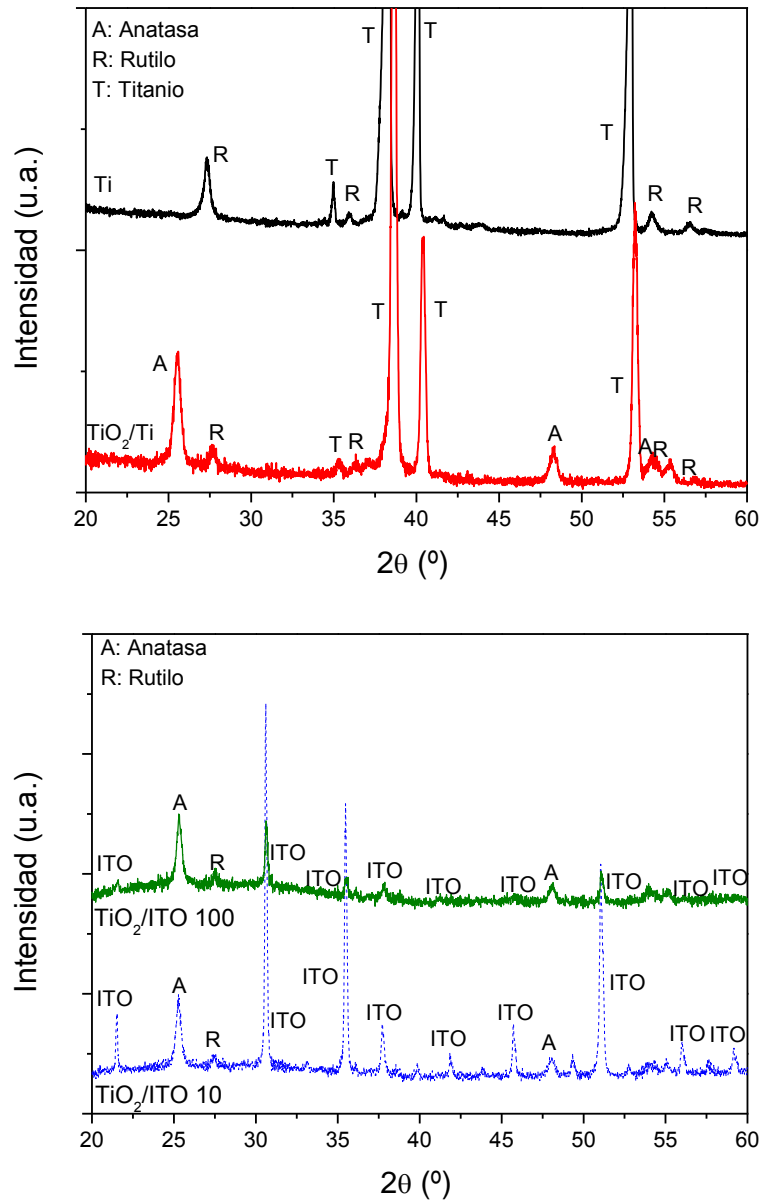


Figura 4.43. Difractograma de rayos X de las fases cristalinas presentes en los electrodos Ti y TiO₂/Ti (superior) y en los electrodos TiO₂/ITO100 y TiO₂/ITO10 (inferior).

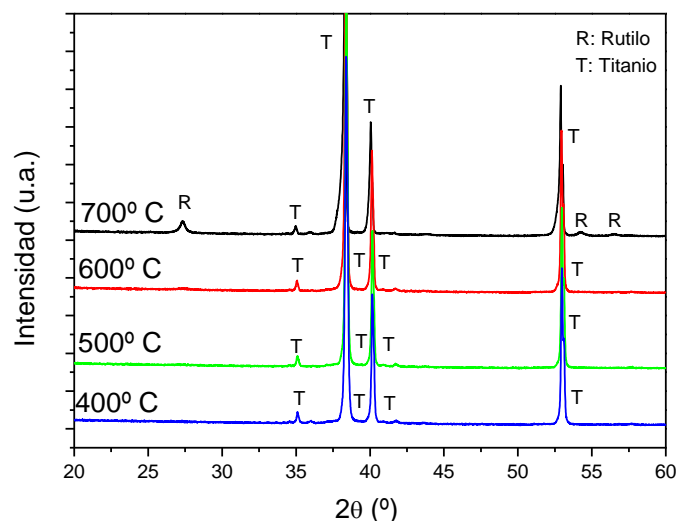


Figura 4.44. Difractograma de rayos X de las fases cristalinas presentes en los electrodos preparados por tratamiento térmico para diferentes temperaturas de calcinación.

Para obtener información acerca del espesor de los recubrimientos, los electrodos han sido estudiados mediante microscopía electrónica de barrido (SEM, scanning electron microscopy). Las Figuras 4.48, 4.49, 4.50 y 4.51 muestran el espesor de la capa de TiO_2 formada tras la calcinación de la lámina de titanio (electrodo Ti, Figura 4.45) así como tras la deposición de 3 recubrimientos de TiO_2 P25 mediante la técnica de recubrimiento por inmersión de los electrodos TiO_2/Ti , $\text{TiO}_2/\text{ITO100}$ y $\text{TiO}_2/\text{ITO10}$ (Figuras 4.49, 4.50 y 4.51). En orden decreciente, los espesores de la capa de TiO_2 son los siguientes: TiO_2/Ti ($13,1 \pm 2,9 \mu\text{m}$) > Ti ($5,1 \pm 0,47 \mu\text{m}$) > $\text{TiO}_2/\text{ITO10}$ ($1,87 \pm 0,4 \mu\text{m}$) > $\text{TiO}_2/\text{ITO100}$ ($1,3 \pm 0,1 \mu\text{m}$). Cabe destacar también las diferencias observadas en el espesor del soporte conductor, que en orden decreciente son: Ti y TiO_2/Ti ($0,5 \text{ mm}$) > $\text{TiO}_2/\text{ITO10}$ ($510 \pm 18 \text{ nm}$) > $\text{TiO}_2/\text{ITO100}$ ($58,3 \text{ nm}$), correspondiente al titanio, ITO10 e ITO100 respectivamente. Además de las diferencias observadas tanto en espesor en la película de TiO_2 como en el soporte, se aprecian diferencias en el diámetro de partículas predominante y la textura de la capa de TiO_2 según el método de preparación de la misma, por calcinación de la lámina de titanio (correspondiente al electrodo térmico Ti, Figura 4.45) o por recubrimiento por inmersión en una suspensión de TiO_2 P25 (correspondiente a los electrodos particulados TiO_2/Ti , $\text{TiO}_2/\text{ITO100}$ y $\text{TiO}_2/\text{ITO10}$, Figuras 4.49, 4.50 y 4.51 respectivamente). El electrodo térmico (Ti) muestra un tamaño de partículas mayor así como una textura más compacta que los electrodos preparados por recubrimiento (TiO_2/Ti , $\text{TiO}_2/\text{ITO100}$ y $\text{TiO}_2/\text{ITO10}$), que son más granulados y porosos,

presentando una estructura particulada. Sin embargo, en todos los electrodos se observa alta heterogeneidad.

Por tanto, como era de esperar, la forma de preparación de la capa de TiO_2 afecta a su estructura, distinguiendo dos grupos de electrodos, los particulados (TiO_2/Ti , $\text{TiO}_2/\text{ITO100}$ y $\text{TiO}_2/\text{ITO10}$) y el térmico (Ti). Pero además, para las mismas condiciones de recubrimiento, el tipo de soporte donde se forma la película de TiO_2 afecta significativamente al espesor de la misma. Ma y col. [207] encontraron además diferencias en la morfología de la superficie y forma y disposición de las partículas según el tipo de sustrato utilizado, poniendo de manifiesto la importancia del mismo.

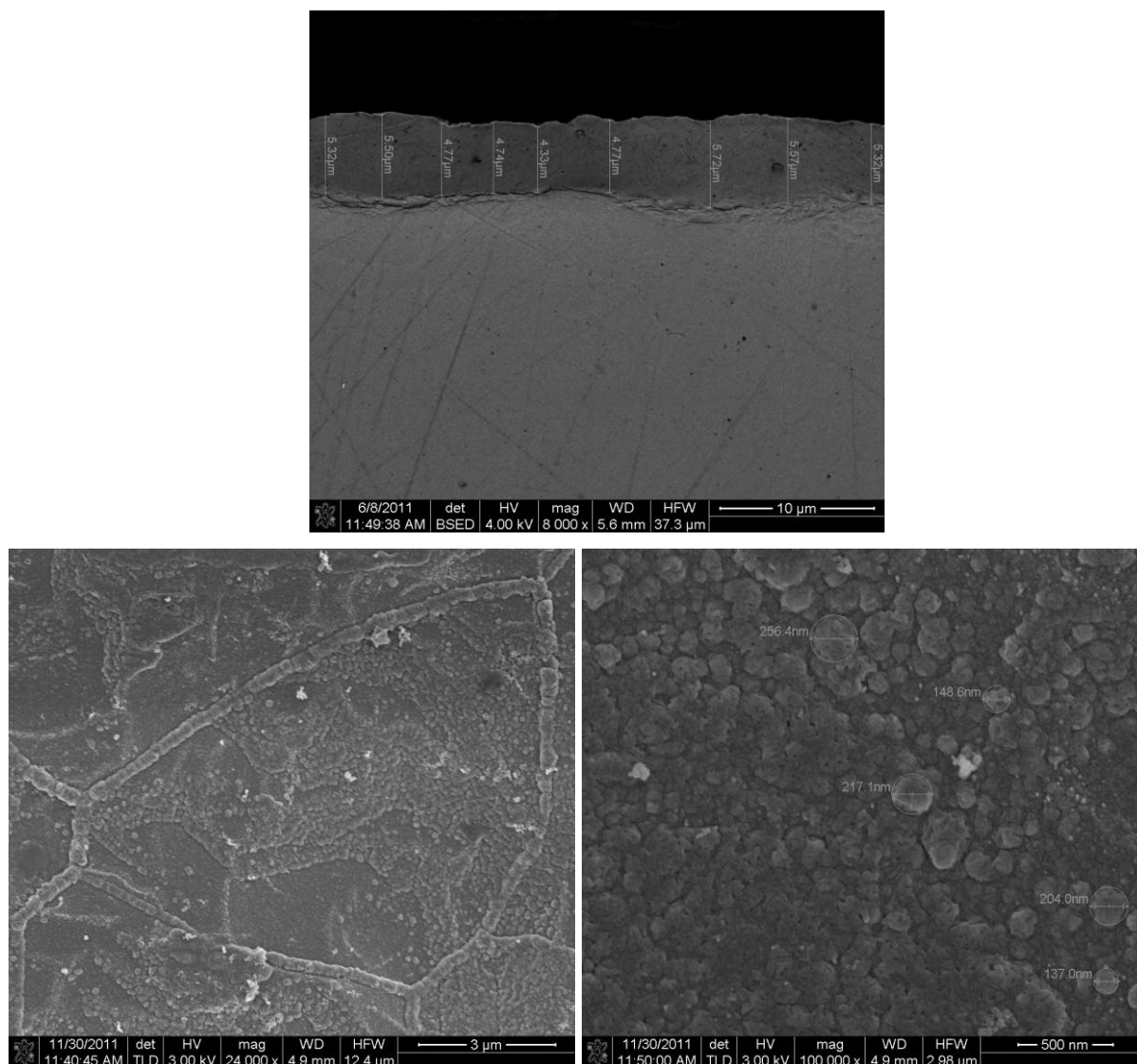


Figura 4.45. Micrografías SEM mostrando el espesor (superior) y la superficie (inferior) de la capa de TiO_2 del electrodo térmico Ti (calcinación de titanio metálico a 700°C).

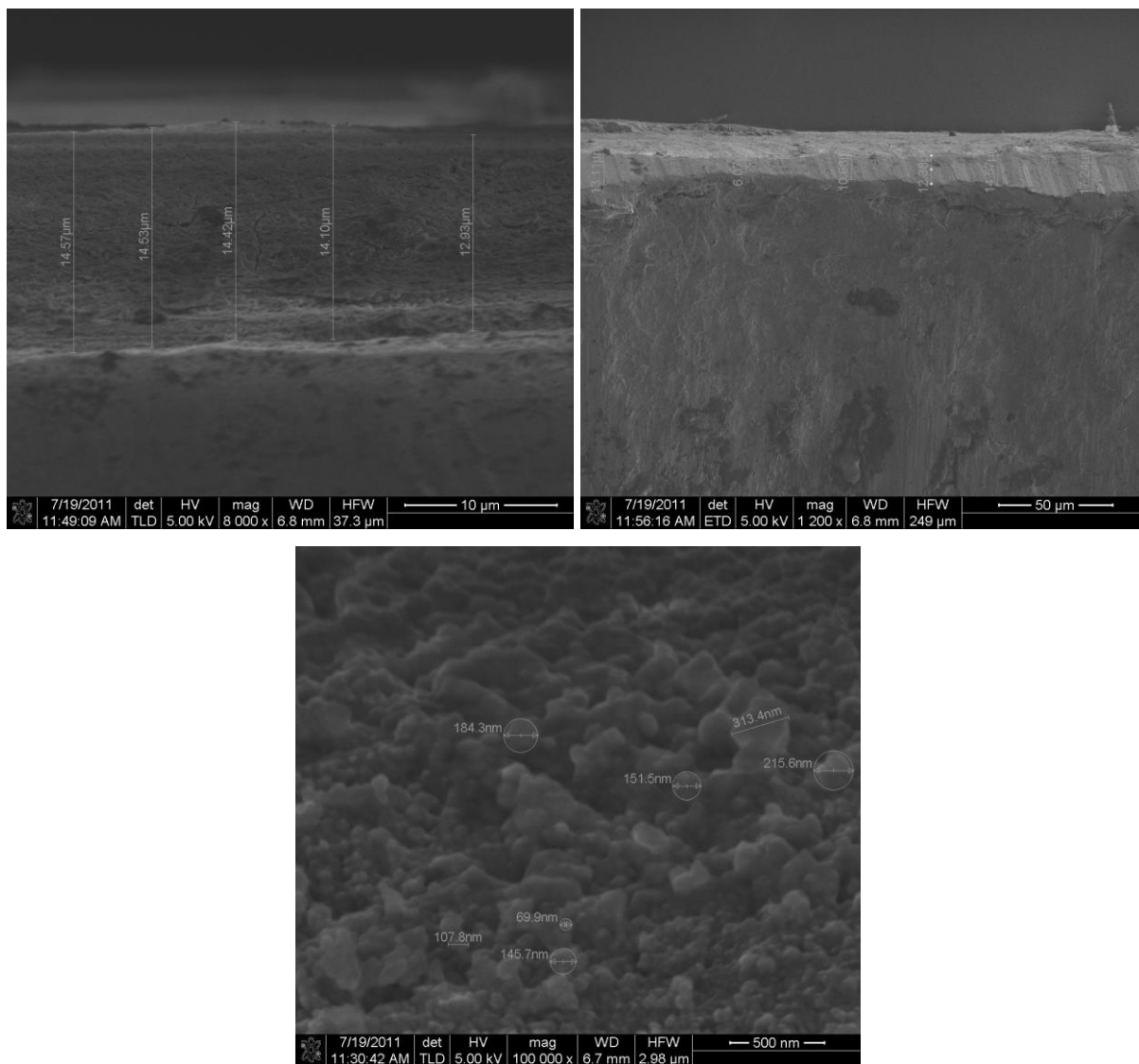


Figura 4.46. Micrografías SEM mostrando el espesor (superior) y la superficie (inferior) de la capa de TiO₂ del electrodo particulado TiO₂/Ti (3 recubrimientos de TiO₂ P25 sobre titanio metálico).

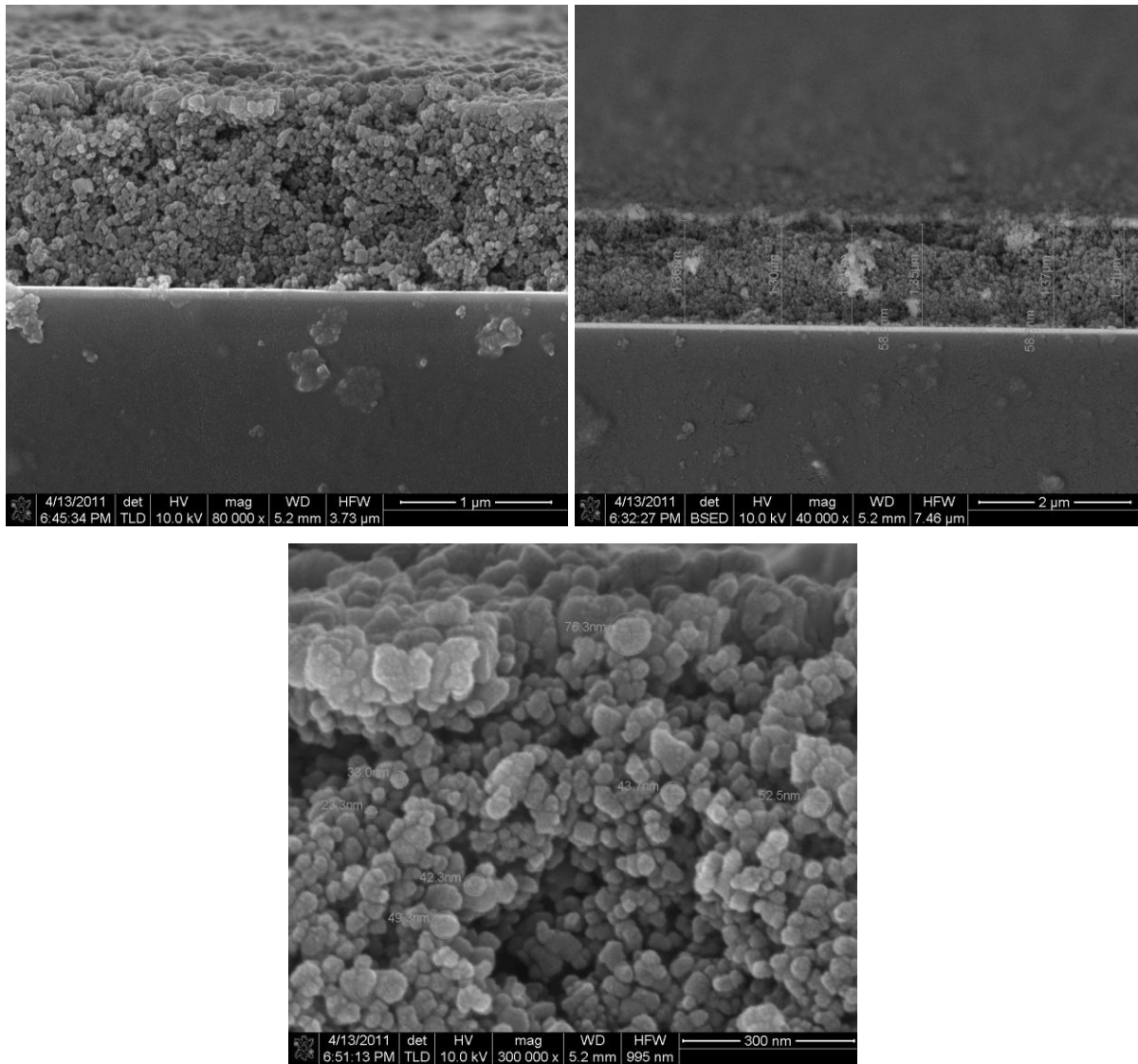


Figura 4.47. Micrografías SEM mostrando el espesor (superior) y la superficie (inferior) de la capa de TiO₂ del electrodo particulado TiO₂/ITO100 (3 recubrimientos de TiO₂ P25 sobre ITO 100 Ω sq⁻¹).

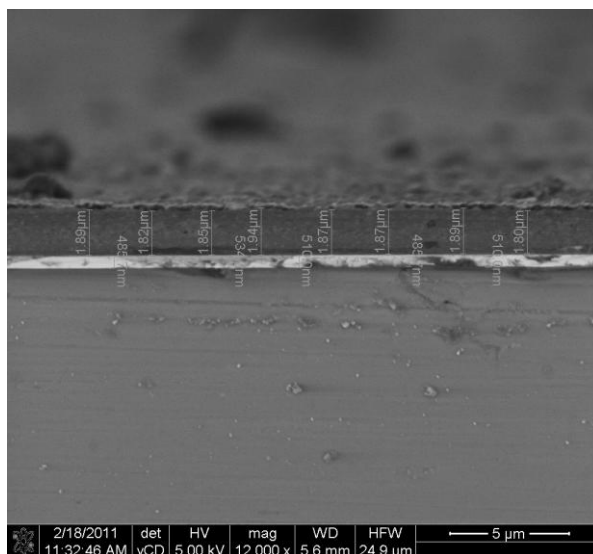


Figura 4.48. Micrografía SEM mostrando el espesor de la capa de TiO_2 del electrodo particulado $\text{TiO}_2/\text{ITO}10$ (3 recubrimientos de TiO_2 P25 sobre $\text{ITO } 10 \Omega \text{ sq}^{-1}$).

Finalmente, se ha realizado la caracterización de los electrodos soportados sobre vidrio conductor por espectrofotometría UV-Vis, analizándose la transmisión de radiación a través de los mismos. La Figura 4.49 muestra el espectro de absorción de radiación UV-A de los soportes conductores de ITO, ITO100 e ITO10, de diferente espesor y en consecuencia diferente conductividad, en comparación con la absorción de luz UV-A por una lámina de vidrio de borosilicato. Se observa que el electrodo de ITO10, de mayor conductividad y también mayor espesor en el recubrimiento de óxido de estaño dopado con indio, presenta una mayor absorción de luz UV-A en comparación con el soporte de ITO100 y la lámina de vidrio. Para longitudes de onda inferiores a 400 nm, se observa un descenso significativo en la transmitancia del soporte, por lo que la forma de irradiación del electrodo deberá ser tomada en cuenta, no siendo equivalente que la radiación incida directamente sobre la capa de TiO_2 que por la cara contraria atravesando el ITO. Este aspecto se discutirá posteriormente cuando se realice la comparación entre la eficiencia de la celda y del reactor fotoelectrocatalítica.

La Figura 4.49 muestra la absorción de radiación UV-A de los electrodos $\text{TiO}_2/\text{ITO}100$ y $\text{TiO}_2/\text{ITO}10$ registrados tomando como línea base el espectro del correspondiente electrodo de ITO, por lo que la absorción corresponde exclusivamente a la capa de TiO_2 . Se puede apreciar como la absorción del electrodo $\text{TiO}_2/\text{ITO}100$ es superior, pese a que el espesor de la capa de TiO_2 de este electrodo es menor (1,3 y 1,87 μm para $\text{TiO}_2/\text{ITO}100$ y $\text{TiO}_2/\text{ITO}10$

respectivamente). El motivo de esta aparente contradicción es que la capa de ITO del electrodo ITO10 absorbe mucha más radiación (Figura 4.52) por lo que la radiación disponible en la capa de TiO_2 de este electrodo es menor.

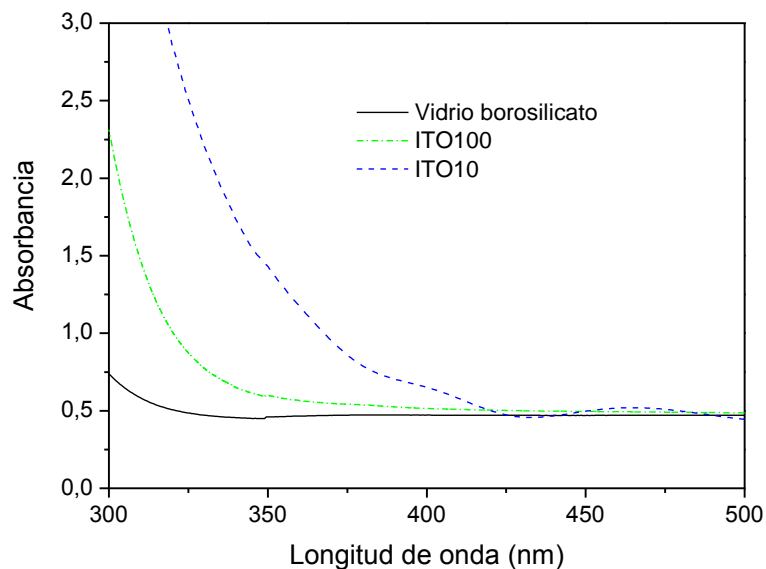


Figura 4.49. Espectro de absorción UV-A de vidrio de borosilicato, ITO100 e ITO10.

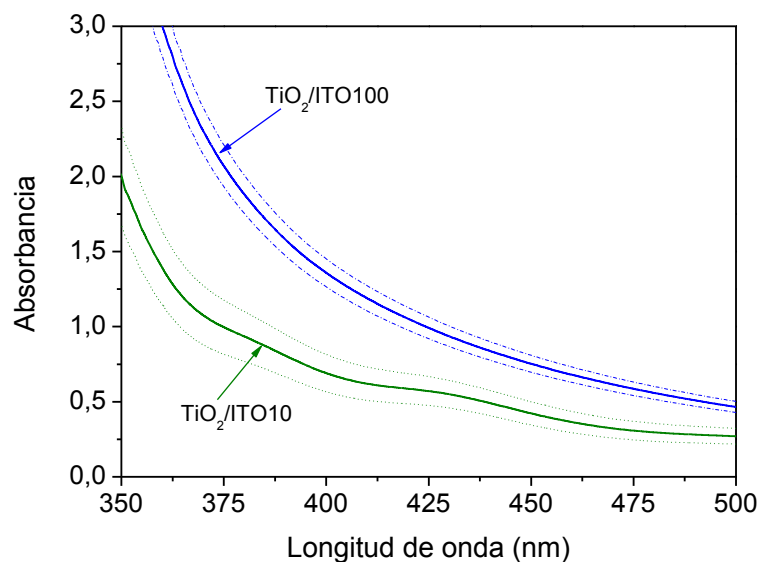


Figura 4.50. Espectro de absorción UV-A de los electrodos $\text{TiO}_2/\text{ITO100}$ e $\text{TiO}_2/\text{ITO10}$.

Caracterización electroquímica.

En la Figura 4.51 se muestran las voltametrías cíclicas obtenidas para los cuatro electrodos en oscuridad. No se observa ninguna corriente anódica de oxidación puesto que en oscuridad el TiO_2 no es activo, no teniendo lugar ninguna reacción vía par hueco/electrón y tampoco es conductor, no favoreciendo la circulación de electrones. Sólo se observa una pequeña corriente catódica que, según Vinodgopal y col. [79] y Li y col. [208], puede ser atribuida a la acumulación de electrones en la capa de TiO_2 . Sin embargo, otros autores han señalado la aparición de una corriente catódica a partir de $-0,1$ V vs Ag/AgCl como consecuencia de la reducción del soporte de ITO [209] o debido a estados superficiales para electrones en la superficie del mismo [210]. En cuanto al soporte de titanio, Christensen y col. [211] señalaron la aparición de pequeños picos de reducción ($-0,2$ V vs Ag/AgCl) y oxidación ($1,2$ V vs Ag/AgCl) relacionado con la formación de peroxititanatos. Por otra parte, Mintsouli y col. [212] y Georgieva y col. [213] observaron la reducción-oxidación del titanio (Ti (IV)/Ti (III)) que tiene lugar entre $-0,9$ V vs Ag/AgCl (correspondiente al potencial de reducción del hidrógeno) y el potencial de banda plana del electrodo (*Flat Band Potential*, V_{fb}), permitiéndoles calcular el área de superficie electroactiva de cada electrodo. En este caso, los soportes conductores presentan estabilidad en la ventana de potencial estudiada y no dan lugar a reacciones electroquímicas como indica la ausencia de picos anódicos o catódicos en la señal de intensidad de corriente.

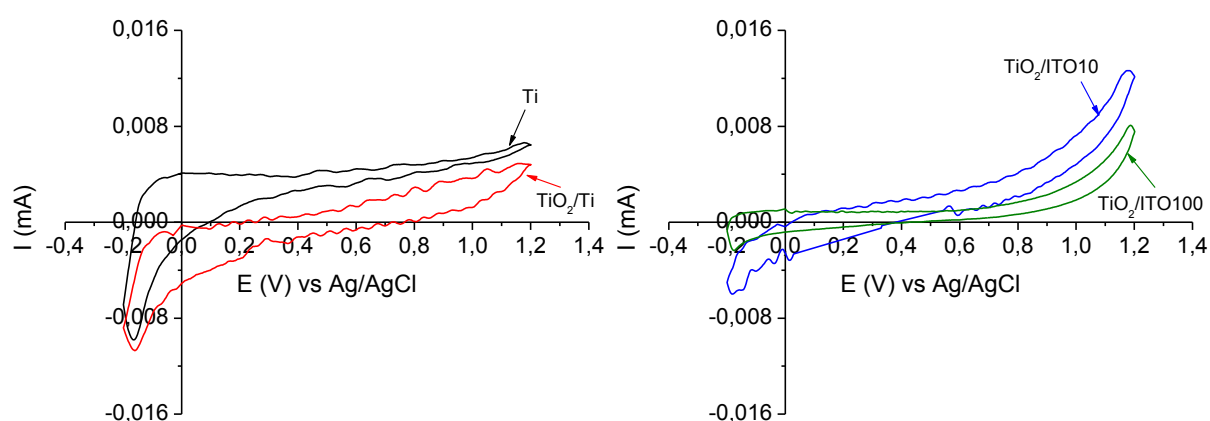


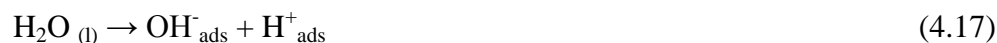
Figura 4.51. Voltametría cíclica en oscuridad de los electrodos fotocatalíticos estudiados.

Electrolito: Na_2SO_4 0,1 M. Velocidad de barrido: $0,1 \text{ V s}^{-1}$.

Por otro lado, la forma de las curvas obtenidas está influenciada en gran medida por el soporte conductor de cada electrodo ya que los electrodos cuyo soporte es de titanio presentan formas similares, diferentes a las de los electrodos con soporte de ITO. Entre los soportes de ITO, aquel con menor resistencia (ITO10) da lugar a una señal de mayor intensidad de corriente.

Las voltametrías cíclicas con iluminación obtenidas para los cuatro electrodos se representan en la Figura 4.55. Al iluminar los electrodos se observa la aparición de una corriente anódica para todos ellos, correspondiente a la fotooxidación del agua. La oxidación fotoeléctrica tiene lugar de acuerdo a los siguientes pasos [214]:

- i) Adsorción de moléculas de agua en centros activos de la superficie y disociación:



- ii) Absorción de radiación $h\nu$ y formación del par electrón/hueco en la superficie:



- iii) Separación de los portadores de carga, de forma que los huecos se dirigen hacia la superficie (s) y los electrones hacia el interior (i) y finalmente hacia el soporte conductor del electrodo (m). De esta forma se reduce la recombinación de los portadores de carga y se aumenta la cantidad de huecos en la superficie:



- iv) Reacción de iones OH^- con los huecos dando lugar a la formación de oxígeno gas:



En todos los casos, tanto para el electrodo térmico (Ti) como para los particulados (TiO_2/Ti , $\text{TiO}_2/\text{ITO100}$ y $\text{TiO}_2/\text{ITO10}$) se observa una relación lineal entre intensidad de fotocorriente (I) y potencial eléctrico aplicado (E), de acuerdo a la teoría clásica de los semiconductores, aunque en los electrodos particulados esta relación lineal se observa exclusivamente para bajos valores de potencial. Sin embargo, la relación lineal entre intensidad y potencial aplicado de los electrodos particulados ha sido muy cuestionada por varios autores. Algunos señalan la relación independiente entre la intensidad y el potencial eléctrico aplicado observada en estos electrodos [206, 212, 215] ya que el pequeño tamaño de

partícula que presentan impide la adecuada formación de la región de agotamiento, la cuál favorece el transporte de electrones hacia el soporte metálico del electrodo. Por tanto, asocian la corriente observada al transporte de electrones por difusión debido a las diferentes velocidades de reacción entre los electrones y los huecos [56, 213, 216-218]. Jiang y col. [209] argumentaron un comportamiento peculiar de este tipo de electrodos, apoyando la existencia del transporte de electrones debido al potencial, pero sólo de electrones que han quedado libres en el electrodo debido a la diferente velocidad de reacción de los electrones y huecos. En cambio, otros investigadores [207, 210, 219] defienden la formación de la región de agotamiento a lo largo de la película de TiO_2 .

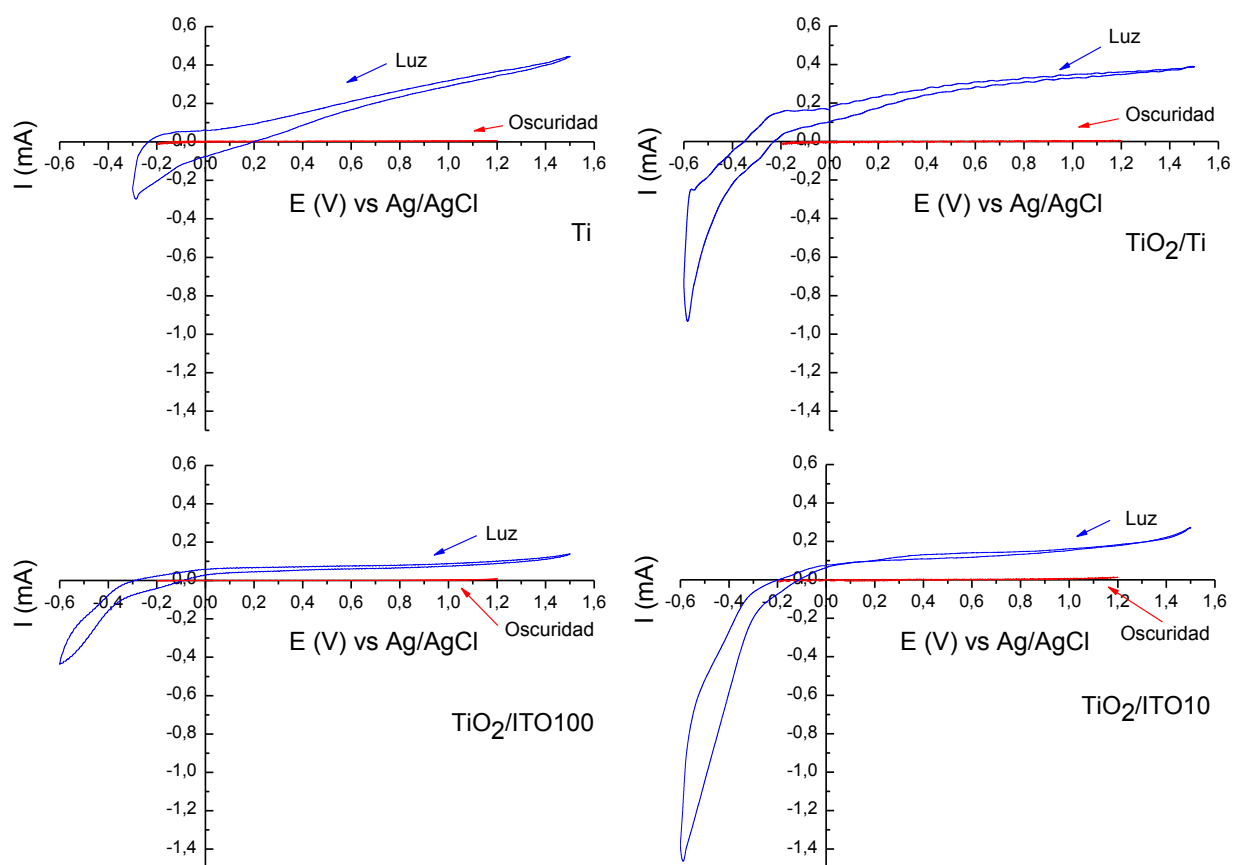


Figura 4.52. Voltametría cíclica en oscuridad e iluminación de los electrodos fotocatalíticos estudiados. Electrolito: Na_2SO_4 0,1 M. Velocidad de barrido: $0,1 \text{ V s}^{-1}$.

A pesar de la controversia existente en cuanto al mecanismo fotoelectroquímico de los electrodos particulados, existe unanimidad en relacionar esta parte lineal de la curva con la transferencia de electrones como etapa limitante, de forma que al aumentar el valor de potencial aplicado, se reduce la recombinación de cargas, se aumenta la cantidad de huecos en

la superficie y en consecuencia aumenta la fotocorriente. Cuando la separación de portadores de carga es completa o ha llegado a su límite siendo los electrones restantes atrapados en la superficie, se alcanza un determinado valor de potencial eléctrico a partir del cuál la intensidad de corriente es independiente del potencial y la etapa limitante corresponde a la transferencia de los huecos en la superficie [209, 214, 220-222]. De acuerdo a Leng y col. [223], los electrodos particulados alcanzan esta zona de saturación a bajos potenciales por su naturaleza rica en anatasa a diferencia de lo que ocurre en el electrodo térmico rico en rutilo. Esto podría indicar también la menor influencia del potencial eléctrico en los primeros. En la Figura 4.55 se puede observar que los electrodos particulados alcanzan dicha zona rápidamente a potenciales próximos a 0 V. Por tanto, los electrodos particulados, al alcanzar antes una intensidad de corriente de saturación, presentan una amplia ventana de potenciales de trabajo. Por el contrario, el electrodo térmico (Ti) mantiene la dependencia lineal de la intensidad respecto al potencial, observándose una fuerte dependencia de la fotocorriente registrada respecto del potencial aplicado. Por tanto, en este caso la etapa limitante del proceso durante todo el barrido de potencial eléctrico aplicado es el transporte de electrones, no alcanzando la separación completa de los portadores de carga.

El potencial de banda plana (V_{fb}) puede aproximarse al valor de potencial donde comienza la corriente anódica de oxidación o donde la intensidad de fotocorriente es cero [218], obteniéndose valores de -0,23 V para el electrodo Ti, -0,35 V para TiO_2/Ti , y -0,30 V para $TiO_2/ITO100$ y $TiO_2/ITO10$. Estos valores coinciden con los valores típicos de potencial de banda plana de semiconductores tipo n , que se encuentran entre -0,05 y -0,75 V [79]. Se observa además, que para los electrodos particulados, su potencial de banda plana es más negativo que para el electrodo térmico (Ti). Este hecho podría deberse a que la anatasa, fase cristalina de TiO_2 predominante en los electrodos particulados, tiene un potencial de banda plana más negativo que el rutilo [212], fase cristalina de TiO_2 presente en el electrodo térmico.

En conclusión, se confirma el efecto fotoeléctrico sobre los cuatro electrodos, observándose en todos los casos un potencial de banda plana y una dependencia lineal $I-E$ en un intervalo más o menos amplio de potenciales. Aunque los electrodos particulados presentan tamaños de partícula inferiores a los 100 nm, valor considerado necesario para la formación de la región de agotamiento [34], Marugán y col. [215] observaron formación de la

misma en electrodos con tamaños de partícula por encima de 10 nm. Sin embargo, la dependencia lineal de la fotocorriente respecto del potencial eléctrico no ocurre en un amplio rango de potenciales en los electrodos particulados, siendo la etapa predominante del proceso la transferencia de carga en vez de la separación de cargas. Por tanto, el menor tamaño de partícula presente en los electrodos particulados así como otros factores podrían afectar negativamente al desarrollo de la región de agotamiento o gradiente de potencial necesario para que tenga lugar la separación de los portadores de carga. La explicación a este hecho se irá discutiendo a partir del análisis de resultados mostrados en los apartados sucesivos.

La Figura 4.56 compara la respuesta de cada electrodo en términos de fotocorriente registrada para diferentes valores de potencial eléctrico. Puesto que la potencia de radiación incidente es la misma en todos los casos, las diferencias observadas en los valores de intensidad de corriente máxima se deben a la distinta eficacia en la generación y separación de los portadores de carga en cada uno de ellos. Como se puede apreciar, los electrodos Ti y TiO₂/Ti presentan los valores de fotocorriente más elevados mientras que los electrodos que utilizan ITO como soporte presentan valores de fotocorriente inferiores.

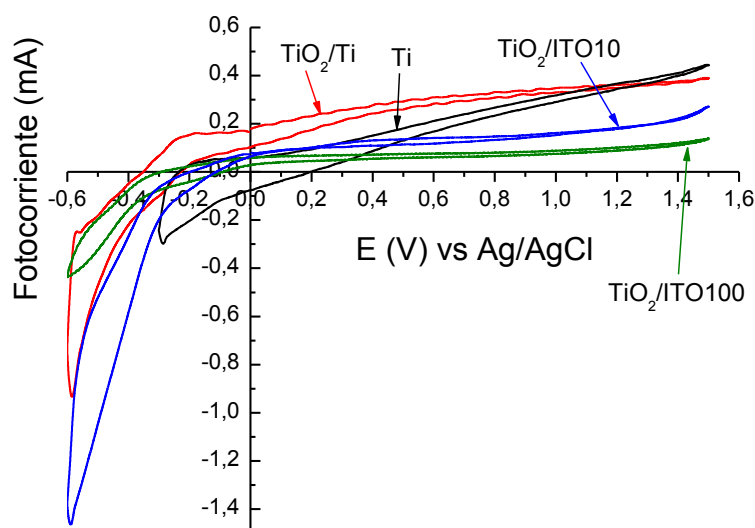


Figura 4.53. Curvas de fotocorriente frente a potencial de los electrodos fotocatalíticos estudiados, obtenidas por diferencia entre las voltametrías cíclicas realizadas en presencia de luz y en oscuridad. Electrolito: Na₂SO₄ 0,1 M. Velocidad de barrido: 0,1 V s⁻¹.

En cuanto al electrodo Ti, al presentar tamaños de partícula más grandes que el de los electrodos particulados, permitiría un mayor desarrollo de la región de agotamiento al aplicar un potencial, de ahí la mayor dependencia de la intensidad de corriente respecto al potencial. Además, al formarse la capa de TiO₂ a partir del propio soporte de titanio, el contacto entre la capa de TiO₂ y el soporte será mejor, reduciendo la resistencia al transporte de electrones entre el catalizador y el soporte [205]. Además, la conductividad de la capa de TiO₂ será mayor que la que se esperaría en capas de TiO₂ particuladas [218] al tener un menor número de contactos entre partículas que actúan como centros de recombinación de los portadores de carga. Otro factor que favorecería la mejor circulación de electrones, tal y como propusieron Byrne y Eggins [216], es que al no ser la capa de TiO₂ porosa, no existiría oxígeno en su interior que pueda actuar como atrapador de electrones.

El electrodo TiO₂/Ti presenta valores de fotocorriente similares a los del electrodo Ti. Sin embargo, alcanzan los valores de intensidad de corriente máxima a potenciales inferiores. Estas diferencias se deben a que a pesar de tener el mismo soporte, su capa de TiO₂ es particulada. Por tanto, es posible que la región de agotamiento no se desarrolle completamente impidiendo la separación total de cargas, lo que implicaría una mayor independencia del potencial eléctrico aplicado, tal y como sucede también con los electrodos particulados que utilizan como soporte ITO. Por otro lado, el electrodo TiO₂/Ti da lugar a valores de fotocorriente más altos que el resto de electrodos particulados (TiO₂/ITO100 y TiO₂/ITO10), lo que implica una separación de portadores de carga más eficaz. Puesto que todos los electrodos particulados presentarán una conductividad de la capa de TiO₂ similar al tener espesores de la misma superiores a 1 μm [209], esta diferencia en la eficacia en la separación de los portadores de carga podría deberse al diferente soporte conductor. Puesto que el titanio posee mayor conductividad que el ITO, éste sería más eficaz para el transporte de electrones de la capa de TiO₂ al soporte. De esta forma, se evitaría que los electrones volvieran a recombinarse en la capa de TiO₂. Otros autores [56, 207] también señalaron la importancia de este factor en electrodos particulados. He y col. [210] afirmaron que el titanio es mejor soporte que el ITO en aplicaciones fotoelectroquímicas, así como Li y col. [224] apuntaron una transferencia de electrones entre TiO₂ y soporte de ITO no eficiente. Gan y col. [225] destacaron la necesidad de mejorar la conductividad de la capa de TiO₂ para mejorar la retirada de electrones desde ésta al soporte. De hecho, Li y col. [208] y He y col. [226] introdujeron oro y platino respectivamente mejorando la transferencia de electrones de la capa de TiO₂ al soporte de ITO.

Otra posible hipótesis para justificar valores de fotocorriente similares entre el electrodo térmico Ti y el particulado TiO₂/Ti así como los mayores valores de fotocorriente de este electrodo en comparación con el resto de electrodos particulados podría basarse en el mayor espesor de la capa TiO₂ en el electrodo TiO₂/Ti. Un incremento en el espesor de la capa en comparación con el resto de electrodos particulados podría conllevar una mayor compactación de la misma dando lugar no sólo a mayores tamaños de cristal y de grano sino también reducirían el número de centros de recombinación entre partículas. Estos cambios estructurales de la capa de TiO₂ podrían favorecer un mayor desarrollo del gradiente de potencial en cada partícula de TiO₂ y por tanto la separación de los portadores de carga, como observaron Heikkilä y col. [227] y podría indicar su valor de potencial de banda plana más negativo. Aunque un aumento del espesor de la capa de TiO₂ también podría conllevar mayores pérdidas de electrones al tener que recorrer éstos mayor distancia hasta alcanzar el soporte conductor, el hecho de que pueda tener lugar un mayor desarrollo de la región de agotamiento en comparación con el resto de electrodos particulados podría reducir estas pérdidas. Por tanto, podría existir posiblemente una fuerte influencia del espesor de la capa de TiO₂ sobre la intensidad de fotocorriente, aspecto que será estudiado en apartados posteriores. Sin embargo, a priori no se podría determinar si los electrodos de ITO darían lugar a una menor eficacia en la oxidación de compuestos orgánicos en comparación con en el electrodo TiO₂/Ti si los electrones se pierden por la capa de TiO₂ sin reaccionar con los huecos o en comparación con el electrodo térmico Ti si las características de la capa de TiO₂ (composición cristalina, tamaño de partícula y estructura) son más adecuadas para el proceso de oxidación. Por este motivo se realizó un estudio electroquímico de los electrodos en presencia de un compuesto orgánico oxidable.

En la Figura 4.57 se muestran las voltametrías cíclicas de los cuatro electrodos estudiados en presencia de concentraciones crecientes de metanol. Se observa que, mientras que la adición de metanol no tiene ningún efecto en el electrodo térmico, sin embargo da lugar a un incremento significativo de la fotocorriente en los electrodos particulados, de forma que a altas concentraciones de metanol (1 M), el valor de fotocorriente del electrodo TiO₂/Ti supera notablemente al del electrodo Ti y los valores de fotocorriente de los electrodos TiO₂/ITO100 y TiO₂/ITO10 alcanzan los del electrodo Ti. No se observan diferencias importantes entre ambos electrodos de ITO, no pareciendo ser en este caso significativas las diferencias en la conductividad del soporte. Este efecto de incremento de la fotocorriente debido a la presencia de compuestos orgánicos en los electrodos particulados ya ha sido observado por otros

autores [205, 206, 209, 212, 215-218], aunque existe aún mucha controversia para explicar las causas por las que tiene lugar este fenómeno.

Aunque algunos autores han propuesto la posible oxidación directa del metanol vía hueco en electrodos particulados por tener alta superficie para la adsorción del mismo [205, 222], es más aceptado un mecanismo de oxidación vía radical hidroxilo [193] de acuerdo a la reacción 4.22. Una primera hipótesis establece que el aumento de la fotocorriente es debido a la posible inyección de electrones en la banda de conducción por compuestos intermedios de la oxidación del metanol [206] como muestra la reacción 4.23. Puesto que estos electrodos son ricos en fase anatasa, más eficiente para oxidar el metanol que el rutilo que constituye el electrodo térmico [219], esa inyección sería predominante en los electrodos particulados.

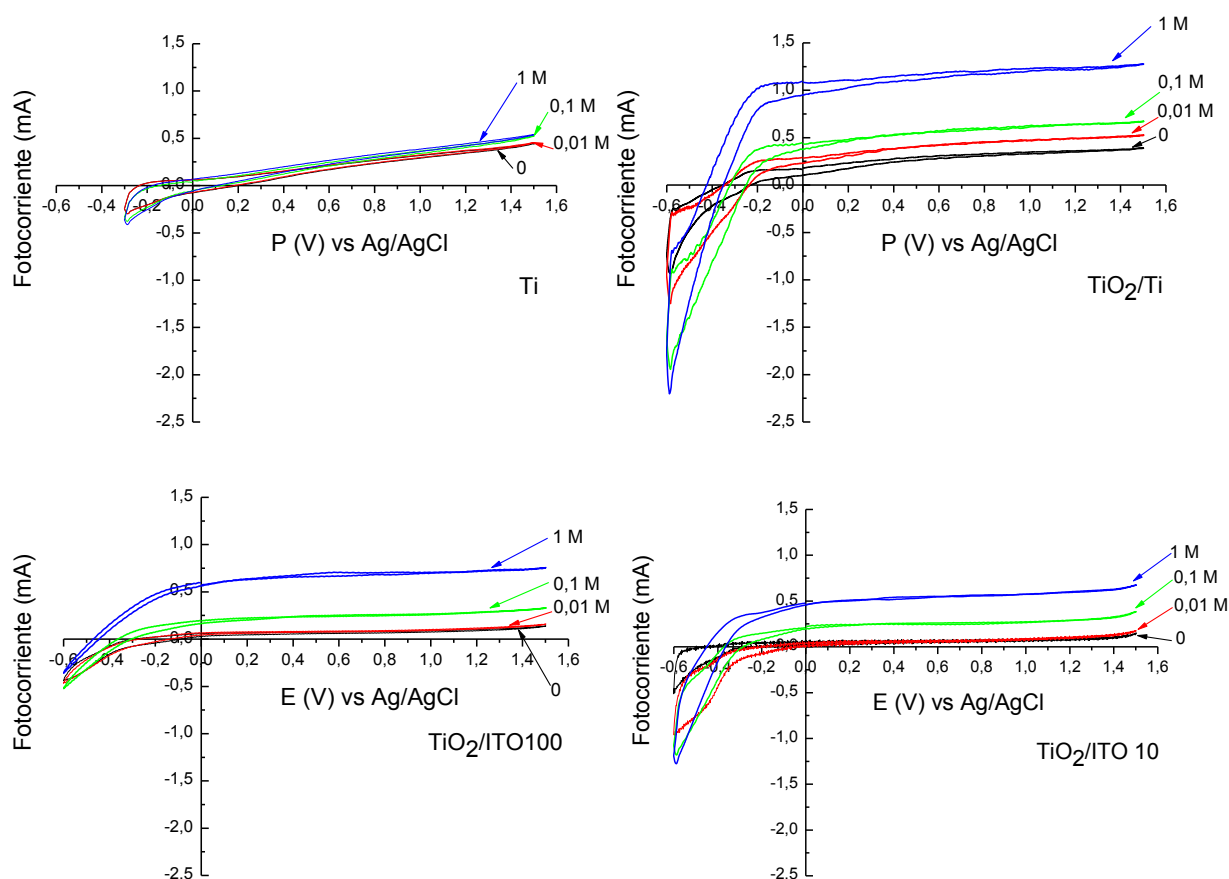


Figura 4.54. Voltametría cíclica de los electrodos iluminados en presencia de diferentes concentraciones de metanol. Electrolito: Na₂SO₄ 0,1 M. Velocidad de barrido: 0,1 V s⁻¹.

La cuantificación del aumento en la fotocorriente se muestra en la Tabla 4.4, calculado como el cociente entre el valor de fotocorriente a diferentes concentraciones de metanol entre el valor de fotocorriente en su ausencia. De acuerdo al efecto de la duplicación de corriente (*current-doubling*) debido a la inyección de electrones en la banda de conducción por intermedios formados a partir de la oxidación del metanol, se debería obtener un incremento de los valores de fotocorriente registrados al añadir metanol en comparación con los valores de fotocorriente en ausencia de metanol con valores máximos de 2. Sin embargo, se observan incrementos superiores en varios casos, lo que indica la existencia de otro tipo de mecanismo [216, 218].

Tabla 4.4. Incremento del valor de fotocorriente en presencia de metanol para diferentes electrodos fotocatalíticos.

Electrodo	$I_{0,01M} / I_{0M}$	$I_{0,1M} / I_{0M}$	I_{1M} / I_{0M}
Ti	1,3	1,1	1,4
TiO₂/Ti	1,5	2,4	5,2
TiO₂/ITO100	1,1	4,3	13,1
TiO₂/ITO10	0,7	4,1	9,5

Por otra parte, es necesario tener en cuenta que los electrodos particulados presentan una naturaleza porosa con una mayor superficie que los electrodos térmicos [56, 205, 206, 212, 225]. Este hecho favorece la adsorción de los compuestos orgánicos así como su oxidación, reduciendo la recombinación electrón/hueco [214, 215, 218, 228, 229]. Jiang y col. [209] propusieron la existencia de un transporte de electrones principalmente por difusión en electrodos particulados ya que no hay región de agotamiento. Esta separación de los portadores de carga se hace efectiva cuando existe un compuesto orgánico que captura uno de los portadores de carga, en este caso los huecos (a través de los radicales hidroxilo). Sin embargo, observaron que al aumentar la concentración de un compuesto orgánico, el potencial al que se alcanza la corriente de saturación se mueve hacia potenciales más positivos. Este hecho fue asociado al efecto del potencial eléctrico retirando los electrones libres, de forma que al ir aumentando el número de electrones libres, se requeriría aplicar un mayor potencial eléctrico para poder retirarlos de la capa de TiO₂, reduciendo la posibilidad

de recombinación con huecos. Además, la presencia de metanol en la capa de TiO₂ porosa que reaccione con los huecos reduciría la formación de oxígeno que tenía lugar en su ausencia como consecuencia de la fotooxidación del agua [216]. Se reducirían así los atrapadores de electrones incrementando la cantidad de electrones libres disponibles que pueden alcanzar el soporte por efecto del potencial eléctrico y/o por difusión.

En vista de lo observado en las voltametrías mostradas en la Figura 4.57, el incremento en los valores de fotocorriente en presencia de metanol podría ser debido a la reducción de la recombinación de los portadores de carga. En las voltametrías observadas en electrodos particulados en presencia de metanol se continúa observando una dependencia lineal de fotocorriente con el potencial a bajos valores de potencial eléctrico aplicado, lo que indicaría que el tamaño de partícula no es suficiente para que el gradiente de potencial se desarrolle en la partícula y que permita la separación de cargas. Finalmente, se alcanza un valor de intensidad de corriente constante a potenciales menores que en el electrodo térmico, lo que indicaría que la transferencia de huecos en la interfaz TiO₂-electrolito y en consecuencia la difusión de los portadores de carga en la superficie del semiconductor parece ser la etapa predominante del proceso.

En resumen, la capa de TiO₂ de electrodos particulados parece presentar propiedades más adecuadas para la transferencia de carga en la interfaz TiO₂-electrolito debido a su naturaleza porosa que le aporta mayor superficie activa así como su composición mayoritaria de anatasa, fase activa del TiO₂ para la oxidación de compuestos. En cambio, su tamaño de partícula y elevado número de centros de recombinación entre partículas parece reducir la separación de los portadores de carga. Por tanto, la adición de metanol reduciría la recombinación de los portadores de carga en la superficie del catalizador en el caso de los electrodos particulados al tener éstos propiedades adecuadas para la transferencia de carga. Por el contrario, la capa de TiO₂ del electrodo térmico parece presentar propiedades adecuadas para la separación de cargas como muestra la dependencia lineal *I-E* en el rango de potenciales de trabajo debido a su mayor tamaño de partícula. Sin embargo, la menor superficie activa debido a la ausencia de porosidad así como una composición de rutilo, fase de TiO₂ menos activa en la oxidación de compuestos, reduciría la transferencia de carga en la superficie del TiO₂, no dando lugar a aumentos significativos en los valores de fotocorriente al añadir metanol. Además, la reducción de la recombinación de los portadores de carga en la interfaz TiO₂-electrolito

podría mejorar el desarrollo del gradiente de potencial a lo largo de las partículas de TiO_2 . Este hecho podría verse reflejado en el desplazando el potencial de banda plana de los electrodos particulados hacia valores más negativos al aumentar la concentración de metanol a 1 M tal y como se observa en la Figura 4.57, coincidiendo también con lo señalado por Christensen y col. [206], Jiang y col. [209] y Byrne y Eggins [216]. Jiang y col. [209] lo señalaron además como un rasgo característico en electrodos particulados. Este hecho también podría ser la razón de observar una zona lineal $I-E$ más evidente y con mayor pendiente. Por otro lado, la intensidad de corriente de saturación se alcanza a potenciales similares respecto a la situación de ausencia de metanol, a diferencia de lo observado por Jiang y col. [209] y Gan y col. [225] que señalaron el desplazamiento de la misma a valores de potencial más positivos. Por tanto, el mecanismo de transporte de electrones propuesto por Jiang y col. [209], basado en que la aplicación de un potencial eléctrico en los electrones particulados sólo permitiría la separación de electrones libres a consecuencia de la transferencia de los huecos en la superficie, no tendría lugar en este caso.

Ensayos de actividad fotoelectrocatalítica.

La Figura 4.55 muestra el efecto del potencial eléctrico en la velocidad de oxidación fotocatalítica de metanol a formaldehído, así como en la fotocorriente registrada en el circuito externo durante el proceso. En el caso de los electrodos particulados (TiO_2/Ti , $\text{TiO}_2/\text{ITO100}$ y $\text{TiO}_2/\text{ITO10}$), de acuerdo a lo observado por voltametría cíclica en las Figuras 4.55 y 4.57 no se esperarían incrementos ni en la constante cinética de formación de formaldehído (k) ni en el valor de fotocorriente, puesto que el valor de potencial al que se alcanzan valores de intensidad de corriente estables y por tanto el transporte de electrones deja de ser limitante es aproximadamente de 0 V. En este caso, lo observado en la Figura 4.55 confirma la tendencia esperada para este tipo de electrodos, ya que tanto los valores de fotocorriente como los de la constante cinética no parecen verse afectados por el aumento del potencial eléctrico aplicado. En el caso del electrodo térmico (Ti), en el intervalo de potenciales estudiados el transporte de electrones continúa siendo la etapa limitante, como muestran las voltametrías cíclicas (Figura 4.55 y 4.57) y confirman los resultados de fotocorriente de la Figura 4.55. En este caso, de acuerdo a lo esperado, se observa también un incremento de k al aumentar el potencial eléctrico aplicado hasta 1 V, indicando la mejora de la separación de cargas al aumentar la región de agotamiento o gradiente de potencial. Sin embargo, no existe un aumento notable en

el valor de k por encima de 1 V a pesar de lo que los valores de fotocorriente sí aumentan. Por tanto, se ha elegido un valor de potencial eléctrico de 1 V para todas las reacciones fotoelectrocatalíticas.

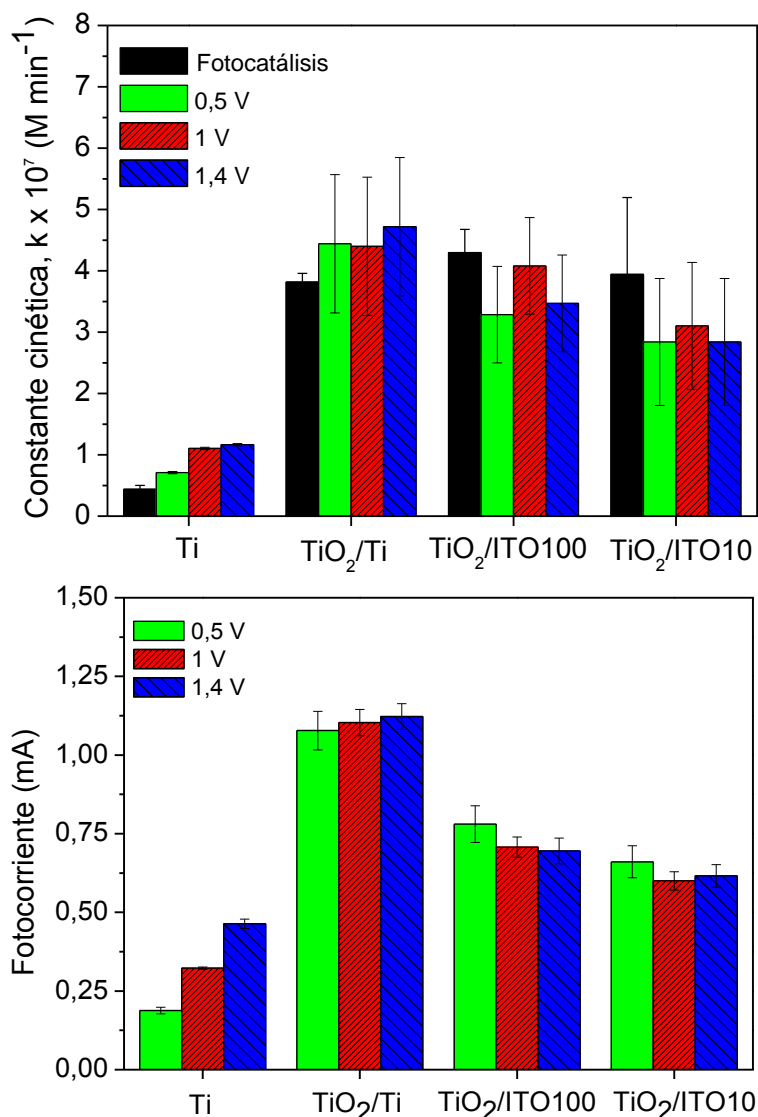


Figura 4.55. Efecto de la aplicación de diferentes potenciales eléctricos sobre la oxidación fotocatalítica de metanol 0.1 M con los electrodos estudiados. Influencia en la velocidad de formación de formaldehído (superior) y en la fotocorriente registrada por amperometría durante la reacción (inferior). Barras de error calculadas a partir de experimentos triplicados.

La Figura 4.59 compara la eficacia de los electrodos en la oxidación fotocatalítica y fotoelectrocatalítica de metanol al incrementar su concentración. Para ello se comparan las constantes cinéticas de formación de formaldehído a partir de la oxidación de metanol vía

radical hidroxilo (reacciones 4.22 y 4.23). A diferencia de los electrodos particulados, el valor de k es muy bajo en el electrodo Ti. Esto podría deberse a que el electrodo térmico está formado por rutilo, fase cristalina del TiO_2 menos eficaz que la anatasa, predominante en los electrodos particulados. Tal y como han propuesto algunos autores [70, 223], la anatasa es más adecuada para degradar compuestos orgánicos de acuerdo a la reacción 4.24, mientras que el rutilo es más adecuado para la fotooxidación del agua de acuerdo a la reacción 4.25.

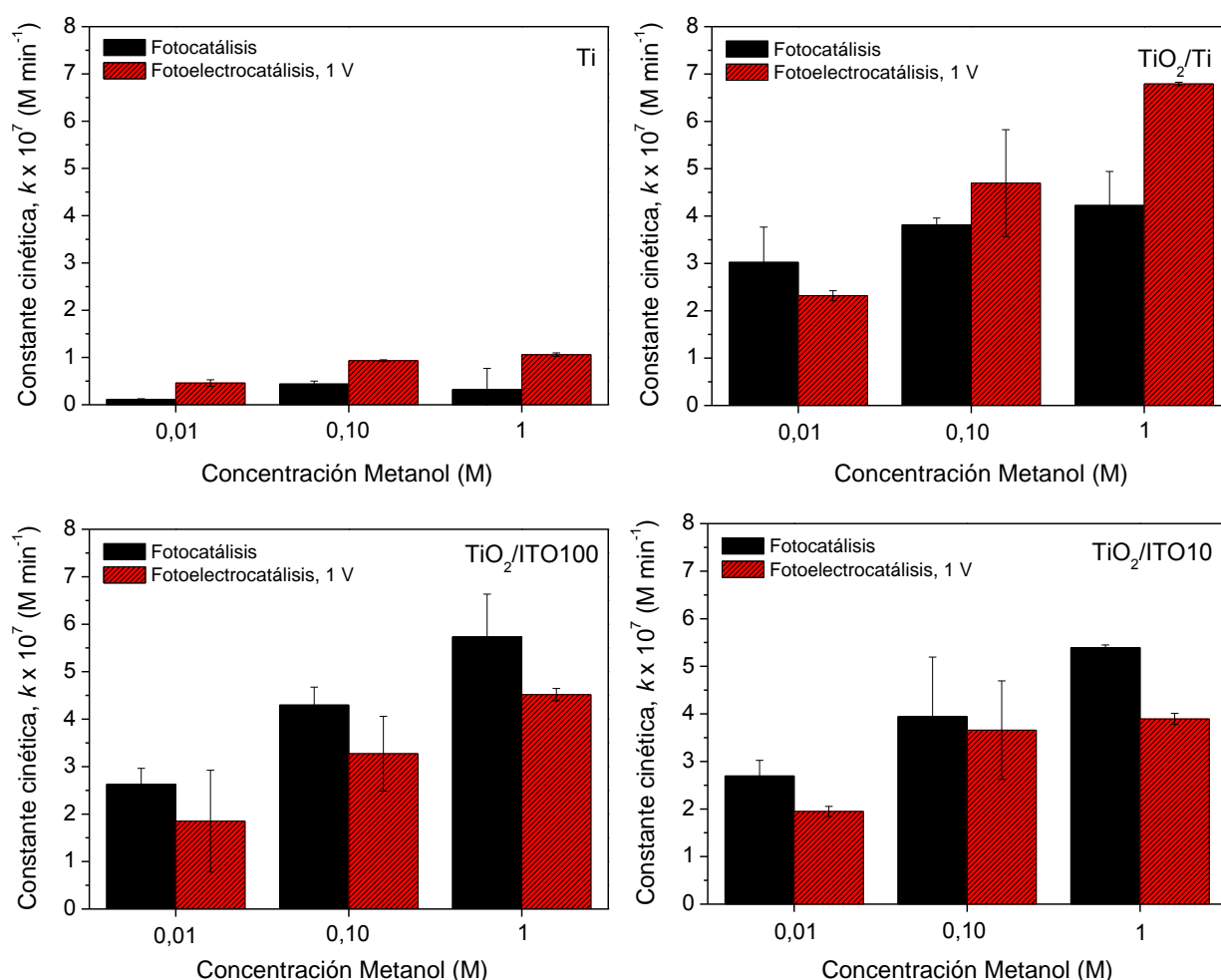


Figura 4.56. Comparación de la eficacia fotocatalítica y fotoelectrocatalítica de los electrodos estudiados a partir de la constante cinética de formación de formaldehído por oxidación de metanol a diferentes concentraciones iniciales (0,01; 0,1; y 1 M). Barras de error calculadas a partir de experimentos triplicados.

Por ello, al aumentar el potencial eléctrico, se esperaría un mayor aumento en el valor de k al disminuir la recombinación de los portadores de carga, aumentar el número de huecos en la superficie y electrones circulando hacia el cátodo y por tanto la fotocorriente tal y como se observa en la Figura 4.55. Sin embargo, este aumento en el valor de k no se observa de forma apreciable al aplicar un potencial eléctrico mayor de 1 V (Figura 4.55) al no ser el rutilo eficiente en la oxidación de compuestos orgánicos. Además, también posee una menor área superficial disponible para la interacción del catalizador con el metanol haciendo más difícil su oxidación y en consecuencia la transferencia de carga en comparación con los electrodos particulados. Por ello, sólo se observa claramente un ligero incremento de k al incrementar la concentración de metanol de 0,01 a 0,1 M pero no a 1 M, sugiriendo una saturación de metanol de la superficie del electrodo para 0,1 M de metanol.

En cuanto a los electrodos particulados, en todos los casos se observan mayores eficacias fotocatalíticas que con el electrodo térmico, probablemente debido a su contenido en fase anatasa y la mayor superficie activa derivada de su estructura porosa que facilita la adsorción de compuestos orgánicos y en consecuencia su oxidación, mejorando la transferencia de carga en el interfaz TiO_2 -electrolito. Se observan valores de k similares entre los 3 electrodos particulados. Por otra parte, a pesar de que en los electrodos particulados no tiene lugar un desarrollo adecuado del gradiente de potencial y en consecuencia la separación de cargas es menos determinante en el proceso que la transferencia de carga en la superficie, la aplicación de potencial eléctrico parece mejorar la oxidación fotocatalítica del metanol en el electrodo TiO_2/Ti al aumentar la concentración de metanol. Podría deberse a que a altas concentraciones de metanol, aumenta la transferencia de carga en la superficie del TiO_2 y en consecuencia se reduce la recombinación de los portadores de carga en la superficie, pudiendo mejorar el desarrollo de un gradiente de potencial en la partícula de TiO_2 . En el caso de los electrodos particulados con soporte conductor de ITO no se observa una mejora en la eficacia de oxidación fotocatalítica del metanol al aplicar un potencial eléctrico. Esta diferencia con respecto al electrodo particulado TiO_2/Ti podría deberse a que el material de ITO ofrece mayor resistencia interna entre la capa de TiO_2 que el titanio, haciendo más difícil el transporte de los electrones de la capa de TiO_2 al soporte. En consecuencia, sería más fácil la recombinación de dichos electrones, reduciendo el valor de fotocorriente registrado en comparación con el electrodo TiO_2/Ti . Esto coincidiría con lo mostrado por He y col. [210] que observaron una mayor actividad fotoelectrocatalítica del electrodo TiO_2/Ti respecto del

electrodo TiO₂/ITO. Por tanto, no siempre la aplicación de un potencial eléctrico mejora los resultados de oxidación fotocatalítica coincidiendo con lo mostrado por Li y col. [224], McMurray y col. [230], y Egerton y col. [231]. En cambio, otros grupos de investigación han observado mejoras significativas de la eficacia del proceso fotocatalítico al aplicar un potencial eléctrico [207, 219, 224, 227, 232, 233] mientras que otros obtuvieron sólo ligeras mejoras [147, 208, 210, 224]. Esta variabilidad de resultados pone de manifiesto la dependencia del éxito de las aplicaciones fotoelectrocatalíticas de las características del electrodo utilizado, no sólo de la superficie de TiO₂ (espesor, cristalinidad, estructura) y del soporte conductor, sino también de la interacción TiO₂-soporte conductor.

La Figura 4.57 compara la tendencia tanto de la constante cinética de formación de formaldehído como la de la fotocorriente al aumentar la concentración de metanol. Los datos de fotocorriente coinciden con lo observado para los valores de k . En general, para los electrodos particulados, al aumentar la concentración de metanol aumenta la fotocorriente de igual manera que lo hacen los valores de k , a diferencia de lo observado en el electrodo térmico. Sin embargo, más allá de esa tendencia general, se observa que la correlación entre la fotocorriente y la actividad del electrodo no es directa, obteniéndose en algunos casos constantes cinéticas de degradación de metanol muy diferentes para valores de intensidades comparables y en otros actividades similares en experimentos donde se registran fotocorrientes significativamente distintas. Por tanto, los valores de fotocorriente no necesariamente correlacionan con los de actividad, no pudiendo utilizarse directamente los resultados de caracterización electroquímica como una medida de la actividad fotoelectrocatalítica. Por tanto es necesario llevar a cabo un estudio detallado de cada electrodo para determinar su actividad en la oxidación de un contaminante concreto, condicionada por el número y complejidad de factores que intervienen en el mecanismo fotoelectrocatalítico. Además, la oxidación fotocatalítica no es un proceso selectivo de forma que los huecos pueden reaccionar con diversas especies en el agua, no correlacionando la intensidad de fotocorriente con la degradación del compuesto objetivo. También hay que tener en cuenta las diferencias en cuanto al mecanismo de degradación del compuesto a eliminar, debido a la posibilidad de producirse una inyección de electrones en la banda de conducción, incrementando la intensidad de corriente registrada sin que ello tenga un reflejo en la velocidad de degradación.

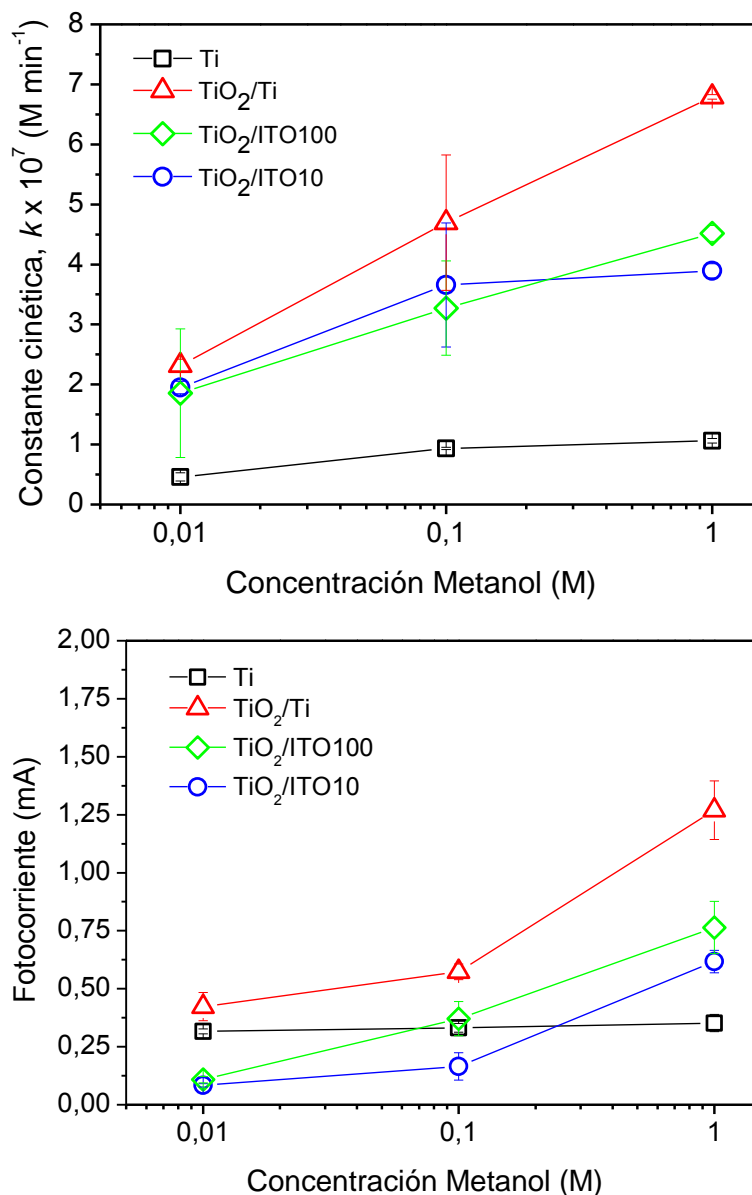


Figura 4.57. Degradación fotoelectrocatalítica de metanol con los electrodos estudiados.

Influencia de la concentración inicial de metanol en la velocidad de formación de formaldehído (superior) y en la fotocorriente registrada por amperometría durante la reacción (inferior). Barras de error calculadas a partir de experimentos triplicados.

El rendimiento fotoelectroquímico de los electrodos para diferentes concentraciones de metanol, calculado como la eficacia en la conversión a fotocorriente de los fotones incidentes, aparece en la Figura 4.58. Al ser una medida basada en datos de fotocorriente podría no ser siempre una medida válida para elegir el electrodo con mayor actividad oxidativa del

compuesto a degradar, tal y como se ha mostrado en la discusión anterior. En este aspecto fueron los electrodos particulados los más eficaces en la oxidación de metanol, aumentando ésta al aumentar la concentración de metanol, a pesar de que los valores de fotocorriente registrados por el electrodo TiO_2/Ti fueron más elevados. Sin embargo, de los 3 electrodos particulados sólo el electrodo TiO_2/Ti mejora su eficacia fotocatalítica al introducir un potencial a elevadas concentraciones de metanol. En el caso del electrodo térmico, aunque da lugar a valores elevados de fotocorriente, independientes prácticamente de la concentración de metanol, incluso similares a los de $\text{TiO}_2/\text{ITO100}$ y $\text{TiO}_2/\text{ITO10}$ a altas concentraciones de metanol, su eficacia de oxidación es notablemente más baja en comparación con la de los electrodos particulados, a pesar de mejorarla al introducir un potencial. Waldner y col. [70] y Leng y col. [223] observaron mayores valores de IPCE para electrodos de rutilo, no coincidiendo con los resultados mostrados en la Figura 4.58. Georgieva y col. [213] señalaron mayores valores de IPCE para electrodos de TiO_2 soportados en titanio en comparación con aquellos de soporte de vidrio conductor, coincidiendo con los resultados mostrados. También destacaron la importancia del soporte de los electrodos fotocatalíticos, al observar una notable reducción del IPCE al utilizar un soporte de acero.

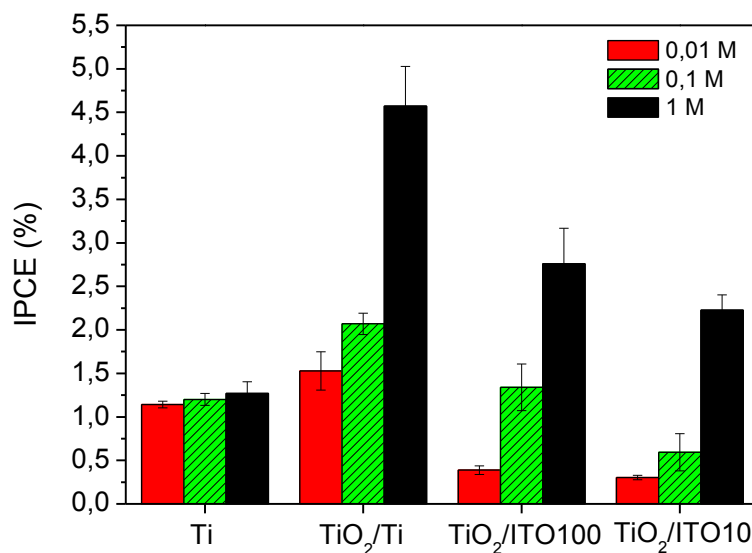


Figura 4.58. Rendimiento fotoelectroquímico de los electrodos estudiados en presencia de diferentes concentraciones de metanol. Barras de error calculadas a partir de experimentos triplicados.

En resumen, los electrodos particulados al no presentar elevados tamaños de partícula no parecen desarrollar completamente la región de agotamiento en cada partícula, impidiendo la adecuada separación de cargas, y poseen un elevado número de contactos entre partículas que favorecen la recombinación de cargas. Sin embargo, presentan propiedades adecuadas para la transferencia de carga en la superficie debido a su composición de anatasa, porosidad y elevada superficie activa. Estas propiedades les hacen muy activos fotocatalíticamente para oxidar compuestos orgánicos. El electrodo térmico a pesar de presentar mayores tamaños de partícula así como mayor conductividad en la capa de TiO_2 y mejor contacto entre la capa de TiO_2 y el soporte que permiten la separación de cargas al aplicar un potencial eléctrico, no presenta propiedades adecuadas para la transferencia de carga en superficie. Una composición de rutilo junto con baja porosidad y superficie activa dan lugar a una baja eficiencia fotocatalítica. Ésta, aunque es mejorada al aplicar un potencial eléctrico, no alcanza los valores de eficiencia fotocatalítica obtenidos por los electrodos particulados. Es destacable también la importancia de la interfaz TiO_2 -soporte. El electrodo TiO_2/Ti parece ser el más eficiente al combinar propiedades de la capa de TiO_2 adecuadas para la transferencia de carga con una mayor eficacia en el transporte de electrones del TiO_2 al soporte de titanio en comparación con el soporte de ITO. Al presentar éste una menor conductividad, parece ofrecer mayor resistencia al paso de electrones. No se observan diferencias significativas entre electrodos de ITO de diferente conductividad a pesar de sus diferencias en el espesor de ITO. En cualquier caso, queda demostrado que la complejidad del mecanismo fotoelectrocatalítico impide establecer correlaciones directas en las características electroquímicas de los electrodos, incluyendo su rendimiento fotoelectroquímico, y su actividad fotocatalítica en la degradación de contaminantes, siendo necesario realizar el estudio detallado de la reacción con cada tipo de electrodo para establecer las características y factores concretos que limitan su actividad y por tanto son susceptibles de mejora.

4.4.1.2. Efecto del espesor del recubrimiento de TiO_2 .

Uno de los aspectos que no ha sido aclarado es la influencia que tiene el espesor de la capa de TiO_2 sobre la actividad y características fotoelectroquímicas de los electrodos. Para estudiar este aspecto, se prepararon electrodos particulados con diferente número de ciclos de recubrimiento sobre un mismo soporte conductor, en este caso ITO10.

Caracterización fisicoquímica.

La Figura 4.59 muestra los difractogramas de rayos X de electrodos $\text{TiO}_2/\text{ITO}10$, comparando la evolución de las señales correspondientes a las fases cristalinas del TiO_2 al aumentar el número de recubrimientos de 1 a 3. Se observa claramente como las principales señales de difracción de anatasa y rutilo ($\sim 25,5^\circ$ y $\sim 27,5^\circ$ respectivamente) se van haciendo progresivamente más intensas al aumentar la cantidad de TiO_2 depositada.

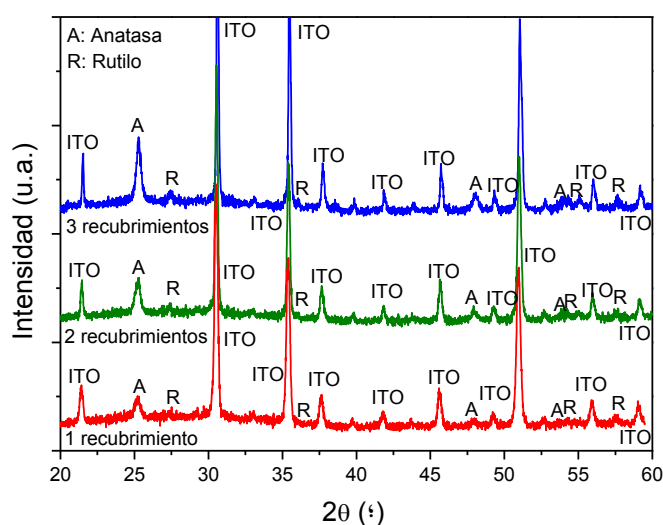


Figura 4.59. Difractograma de rayos X de electrodos $\text{TiO}_2/\text{ITO}10$ preparados con diferente número de recubrimientos.

Las Figuras 4.51, 4.63 y 4.64 muestran el espesor de de la capa de TiO_2 de electrodos $\text{TiO}_2/\text{ITO}10$ obtenidos tras diferente número de ciclos de recubrimiento (3, 2 y 1 respectivamente), observándose claramente el incremento del espesor al aumentar la cantidad de TiO_2 depositada: $\text{TiO}_2/\text{ITO}10$ (3 recub.) ($1,87 \pm 0,4 \mu\text{m}$) > $\text{TiO}_2/\text{ITO}10$ (2 recub.) ($0,88 \pm 0,12 \mu\text{m}$) > $\text{TiO}_2/\text{ITO}10$ (1 recub.) ($0,34 \pm 0,05 \mu\text{m}$).

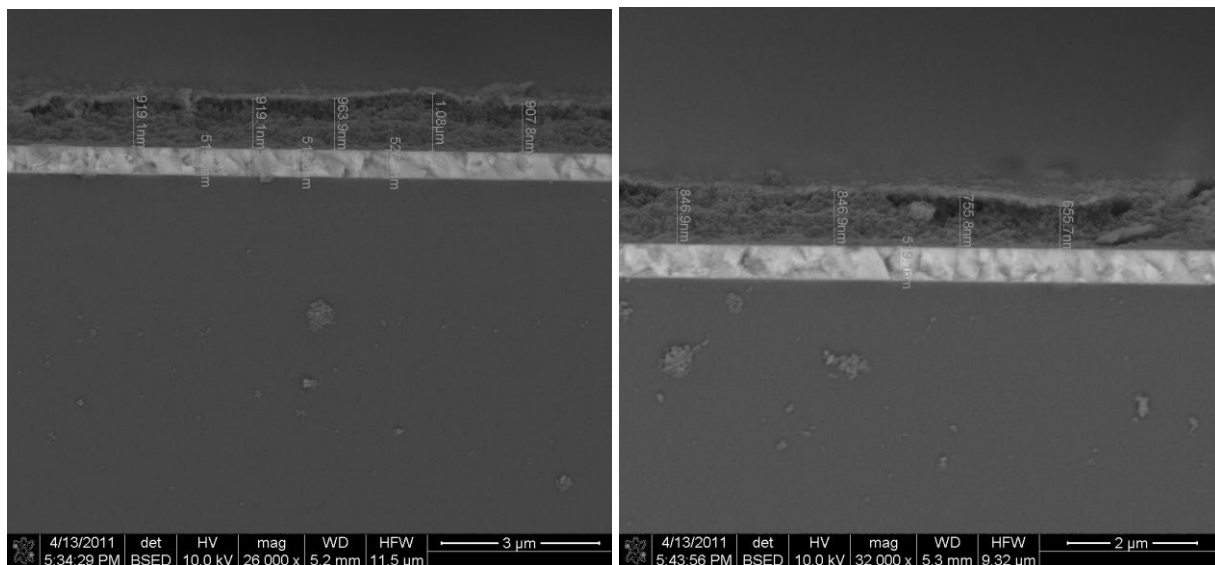


Figura 4.60. Micrografías SEM mostrando el espesor de la capa de TiO_2 del electrodo particulado $\text{TiO}_2/\text{ITO10}$ (2 recubrimientos).

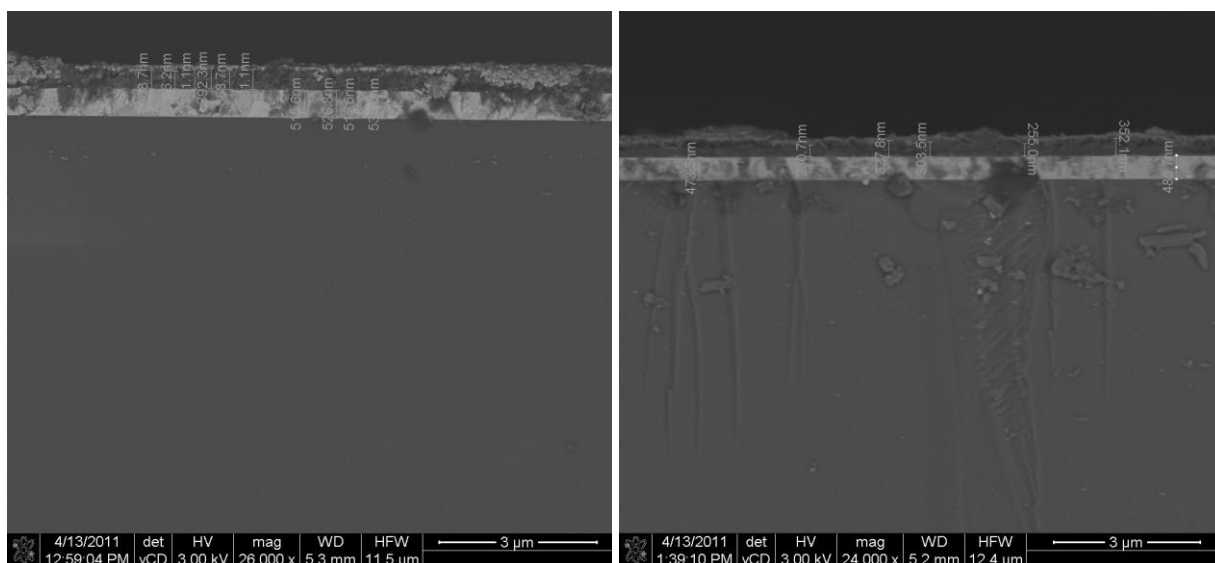


Figura 4.61. Micrografías SEM mostrando el espesor de la capa de TiO_2 del electrodo particulado $\text{TiO}_2/\text{ITO10}$ (1 recubrimiento).

La Figura 4.65 muestra la influencia del número de recubrimientos de TiO_2 en la absorción de radiación UV-A de electrodos $\text{TiO}_2/\text{ITO10}$. Se observa un incremento de absorción de radiación UV-A al aumentar el número de recubrimientos. A modo de comparación, en la Figura 4.66 se muestra los espectros de absorción de radiación UV-A de electrodos $\text{TiO}_2/\text{ITO100}$ con diferente número de recubrimientos de TiO_2 . Al aumentar el

número de recubrimientos de TiO₂, aumenta la cantidad de radiación UV-A absorbida. Sin embargo, la reducción de transmitancia que supone añadir un tercer recubrimiento (1 %, equivalente a un valor de absorbancia de 2) no es tan elevada como sucede al incrementar de 1 a 2 recubrimientos (de 32 a 10 %, equivalente a un valor de absorbancia de 0,5 y 1 respectivamente) para longitudes de onda inferiores a 385 nm.

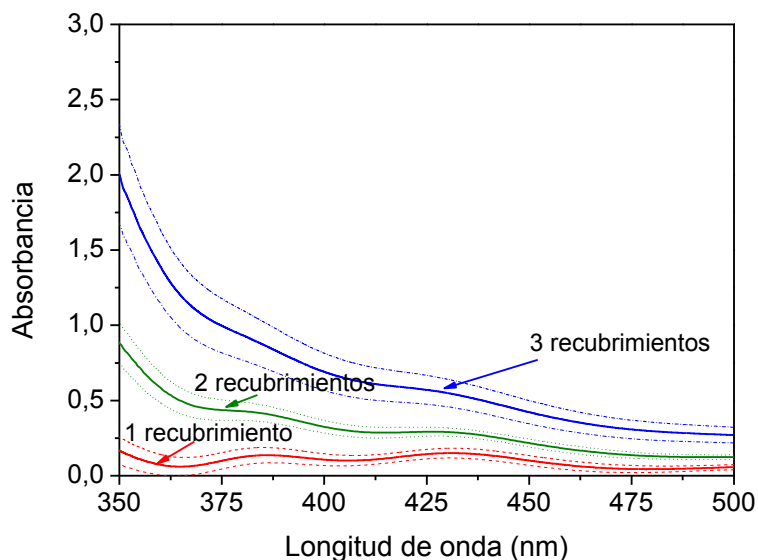


Figura 4.62. Espectro de absorción UV-A del electrodo de TiO₂/ITO10 con diferente número de recubrimientos de TiO₂ P25 Degussa.

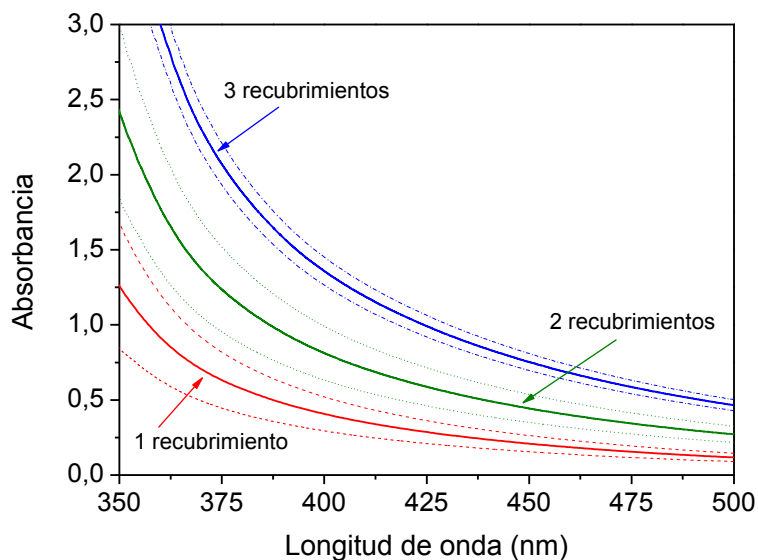


Figura 4.63. Espectro de absorción UV-A del electrodo de TiO₂/ITO100 con diferente número de recubrimientos de TiO₂ P25 Degussa.

Cómo se ha comentado anteriormente, el vidrio conductor ITO100 presenta una baja absorción de radiación UV-A en comparación con el ITO10, por lo que la menor absorción de los electrodos $\text{TiO}_2/\text{ITO10}$ en comparación con los electrodos $\text{TiO}_2/\text{ITO100}$ a igualdad de número de recubrimientos se justifica por la menor cantidad de radiación disponible.

Caracterización electroquímica.

En la Figura 4.64 se muestran los resultados de voltametría cíclica en oscuridad. Como se puede apreciar, no se observan señales importantes en la ventana de potenciales en la que los electrodos son estables sin que se produzca su corrosión, solamente una pequeña corriente catódica probablemente debida a la acumulación de electrones en la capa de catalizador, tal y como se discutió en el apartado anterior. Tampoco se aprecian diferencias significativas en la forma de las voltametrías cíclicas a consecuencia del diferente número de recubrimientos de TiO_2 .

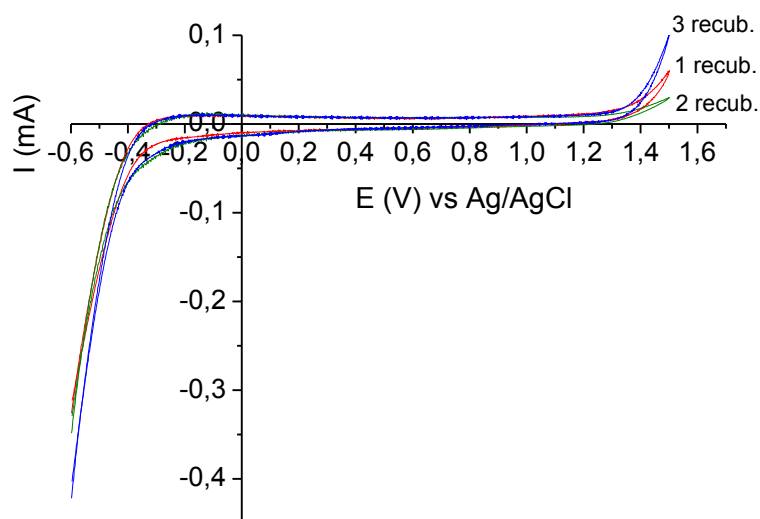


Figura 4.64. Voltametría cíclica en oscuridad de electrodos $\text{TiO}_2/\text{ITO10}$ con diferente número de recubrimientos. Electrolito: Na_2SO_4 0,1 M. Velocidad de barrido: $0,1 \text{ V s}^{-1}$.

En la Figura 4.68 se muestra el efecto de la presencia de metanol en la intensidad de fotocorriente obtenido en las voltametrías cíclicas en función del número de recubrimientos.

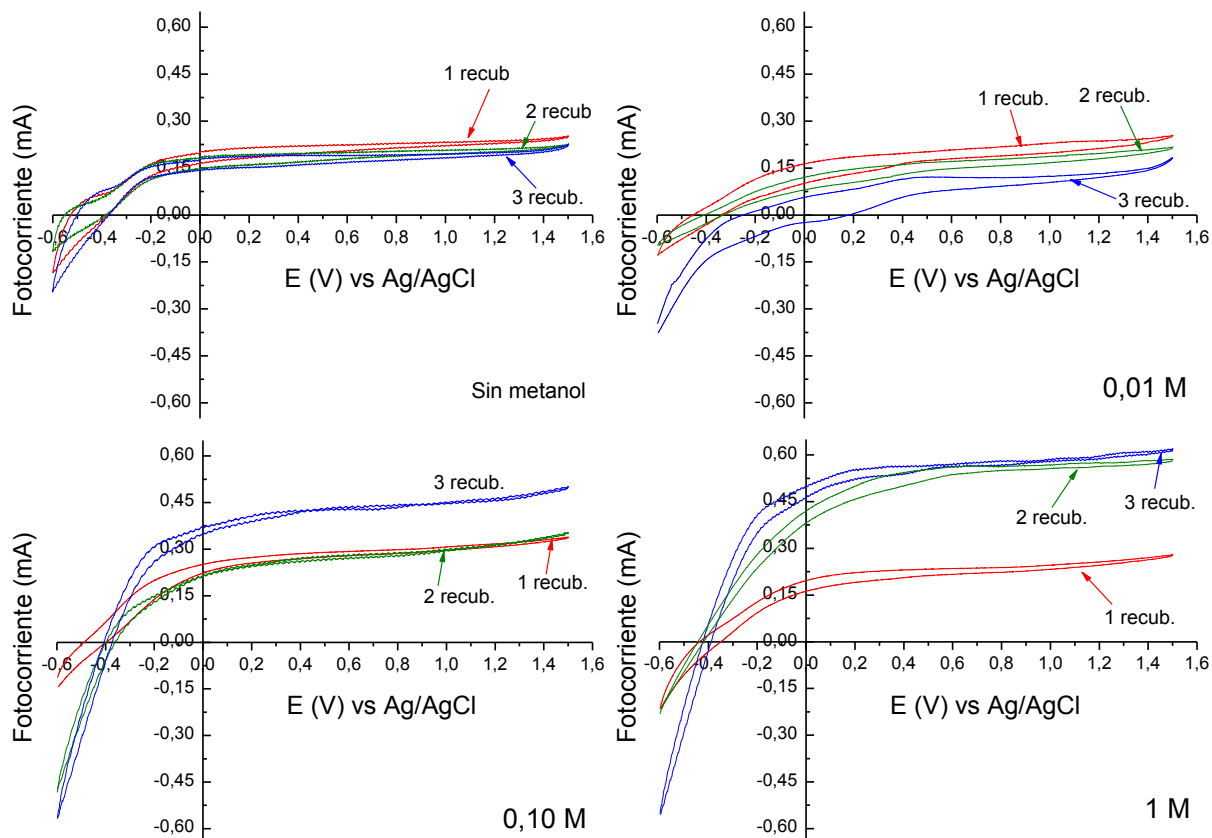


Figura 4.65. Voltametría cíclica de electrodos $\text{TiO}_2/\text{ITO10}$ con diferente número de recubrimientos iluminados en presencia de diferentes concentraciones de metanol. Electrolito: Na_2SO_4 0,1 M. Velocidad de barrido: $0,1 \text{ V s}^{-1}$.

Como tendencia general se observa un incremento de la intensidad de fotocorriente al aumentar la concentración de metanol, puesto que el metanol se adsorbe fácilmente en este tipo de capa de TiO_2 particulada, reduciendo la recombinación de los portadores de carga en la superficie al aumentar la transferencia de carga, pudiendo incluso mejorar también el desarrollo del gradiente de potencial en la partícula de TiO_2 , como se explicó en apartados anteriores. Tanto en ausencia de metanol como en presencia del mismo a bajas concentraciones (0,01 M) se observan mayores intensidades de fotocorriente con el electrodo con un solo recubrimiento de TiO_2 en comparación con el electrodo con tres recubrimientos. Puesto que espesores de TiO_2 de $1 \mu\text{m}$ presentan una conductividad adecuada, se hubiera esperado que el electrodo de 3 recubrimientos diera lugar a intensidades de corriente más elevadas. Sin embargo, en este caso parece más influyente el espesor de capa de TiO_2 . De forma que un mayor espesor de la capa de TiO_2 puede dar lugar a una mayor resistencia a la circulación de electrones puesto que tienen que recorrer una mayor distancia hasta alcanzar el

soporte conductor, además de que éstos pueden perderse más fácilmente por la capa al reaccionar con el oxígeno presente. Varios autores también han observado una disminución en la fotocorriente al aumentar el espesor de la capa de TiO_2 [70, 213, 223, 232, 234-236], sugiriendo por tanto la formación de la región de agotamiento cuestionada en muchos casos para los electrodos particulados.

En cambio, al aumentar la concentración de metanol a 0,1 y 1 M se observa un incremento en la fotocorriente registrada para 2 y 3 recubrimientos en comparación con un solo recubrimiento. Estos resultados sugieren que al incrementar la concentración de metanol, aumenta la transferencia de carga en la interfaz del TiO_2 -electrolito, lo que implica una reducción de la recombinación de los portadores de carga en superficie, mejorando el desarrollo del gradiente de potencial en la partícula de TiO_2 . Así, un mayor espesor de la capa de TiO_2 implicaría mayor absorción de luz UV-A, generando un mayor número de pares electrón-hueco así como una mayor superficie activa en contacto con el electrolito que permitiría una mayor interacción TiO_2 -metanol y en consecuencia una mayor reducción de la recombinación de los portadores de carga. Así, más electrones alcanzarían el soporte conductor, no influyendo negativamente en este caso el espesor de la capa de TiO_2 . Estos resultados concuerdan con los mostrados por Waldner y Krýsa [205] que observaron un incremento del espesor óptimo de la capa de TiO_2 al aumentar la concentración de oxalato, así como con Georgieva y col. [213] que observaron un incremento en los valores de fotocorriente significativo de 1 a 2 y 3 recubrimientos en presencia de oxalato. También señalaron que la mayor adsorción de oxalato presentada por el electrodo de 3 recubrimientos podría estar compensada con una mayor resistencia óhmica presentada por éste, dando lugar a similares fotocorrientes entre 2 y 3 recubrimientos, como se observa también en este caso. Destacar que los valores de fotocorriente registrados para el electrodo de 1 recubrimiento no parecen verse afectados por la concentración de metanol. Esto podría deberse a que al presentar un menor espesor de capa de TiO_2 , no se produce una absorción de luz UV-A óptima, generando menor número de pares electrón-hueco y reduciéndose la transferencia de carga en superficie.

Ensayos de actividad fotoelectrocatalítica.

La Figura 4.69 compara los resultados de oxidación de metanol a diferentes concentraciones iniciales en términos de la constante cinética de formación de formaldehído a partir de la oxidación de metanol (k) entre los electrodos $\text{TiO}_2/\text{ITO10}$ con diferente número de recubrimientos. En general se observa un incremento del valor de k con la concentración de metanol, excepto para el electrodo de un recubrimiento, probablemente debido a su menor superficie activa así como a su menor absorción de luz UV-A, como se observó en los resultados de fotocorriente. Por otro lado, como se esperaba se observa un incremento del valor de k al aumentar el número de recubrimientos de 1 a 3 al presentar mayor superficie activa para la interacción con el electrolito y absorber mayor cantidad de luz UV-A.

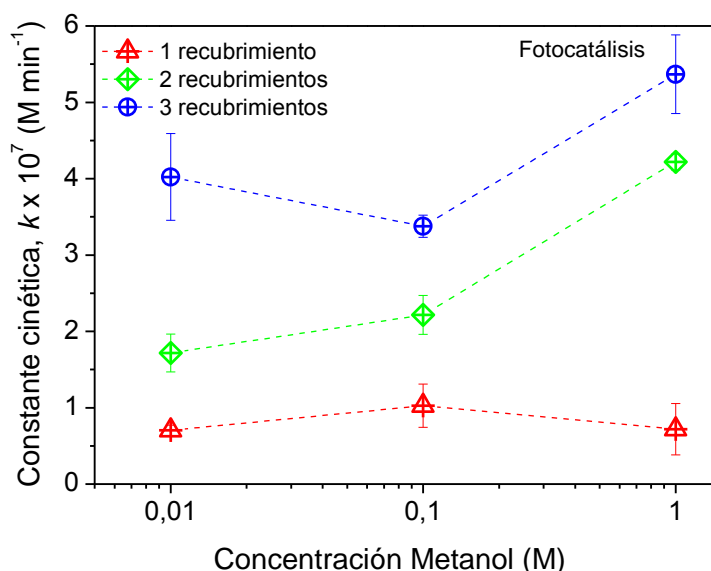


Figura 4.66. Actividad fotocatalítica de electrodos $\text{TiO}_2/\text{ITO10}$ con diferente número de recubrimientos en la degradación de concentraciones crecientes de metanol. Barras de error calculadas a partir de experimentos triplicados.

La Figura 4.70 muestra los valores de k de formación de formaldehído a partir de la oxidación de metanol al aplicar un potencial eléctrico de 1 V. En este caso, se observa un incremento en los valores de k de 1 a 2 recubrimientos como era de esperar. Sin embargo, el valor de k no aumenta tan notablemente de 2 a 3 recubrimientos como ocurría en el proceso fotocatalítico para las tres concentraciones iniciales de metanol analizadas. Por tanto, parece producirse un descenso de efecto fotoelectrocatalítico al aumentar el espesor de la capa de

TiO₂. Este hecho sugiere que existe un espesor óptimo diferente de la capa de TiO₂ en el proceso fotocatalítico y fotoelectrocatalítico, coincidiendo con los datos mostrados por Hitchman y Tian [219]. Puesto que aumentos en el espesor de la capa de TiO₂ podrían dar lugar a pérdidas de electrones a lo largo de la capa de TiO₂, un espesor de la capa de TiO₂ menor parece ser más adecuado en el proceso fotoelectrocatalítico en comparación con el proceso fotocatalítico, coincidiendo con lo observado por Song y col. [235].

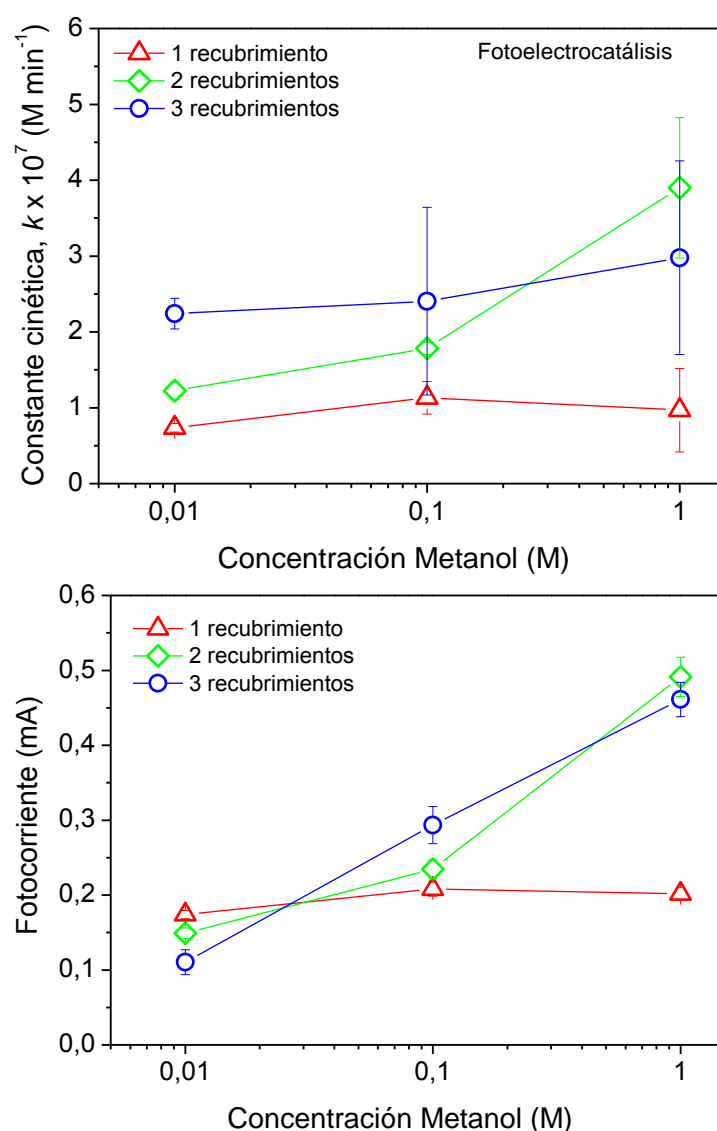


Figura 4.67. Actividad fotoelectrocatalítica de los electrodos TiO₂/ITO10 con diferente número de recubrimientos. Influencia de la concentración inicial de metanol en la velocidad de formación de formaldehído (superior) y en la fotocorriente registrada por amperometría durante la reacción (inferior). Barras de error calculadas a partir de experimentos triplicados.

Sin embargo, otros autores como Gan y col. [225] y Heikkilä y col. [227] observaron un incremento en la actividad fotoelectrocatalítica al aumentar el espesor de la capa de TiO_2 debido al cambio en las propiedades texturales y de partícula, poniendo de manifiesto la gran complejidad de este proceso. Los datos de fotocorriente mostrados en la Figura 4.70 no correlacionan totalmente con la actividad fotoelectrocatalítica observada en términos de la constante cinética. No se observan diferencias en los valores de fotocorriente entre el electrodo de 2 y 3 recubrimientos, indicando como se mencionó anteriormente que una mayor superficie activa para la interacción con el electrolito y absorción de luz UV-A presentada por el electrodo de 3 recubrimientos podría estar compensada con una mayor resistencia óhmica. Sin embargo, los datos de fotocorriente dan lugar a interpretaciones contradictorias en el caso del electrodo de 1 recubrimiento a bajas concentraciones de metanol, de forma que al aumentar el espesor de la capa de TiO_2 , se observa un descenso en los valores de fotocorriente registrados para metanol (0,01 M, como se observó en los datos de voltametría cíclica (Figura 4.68). Por tanto, las medidas de fotocorriente parecen mostrar sólo la influencia del espesor de la capa de TiO_2 en el transporte de electrones. Sin embargo, la actividad fotoelectrocatalítica debe ser analizada también teniendo en cuenta la influencia del espesor de la capa de TiO_2 en propiedades estructurales y ópticas, determinantes en la oxidación de compuestos orgánicos.

La Figura 4.71 muestra el rendimiento fotoelectroquímico de los electrodos con diferente número de recubrimientos para concentraciones crecientes de metanol. El electrodo de un recubrimiento presenta los valores más bajos debido a que la capa de TiO_2 no permite absorber suficiente cantidad de luz UV-A, generando pocos huecos que den lugar a la formación de radicales hidroxilo, responsables de la oxidación del metanol. Los valores de IPCE de dicho electrodo tampoco se ven afectados por el incremento en la concentración de metanol, probablemente debido a una menor superficie activa de contacto con el electrolito. El IPCE de los electrodos de 2 y 3 recubrimientos sí se ve afectado por la presencia de metanol, aumentando con la concentración de éste al presentar una mayor superficie activa así como una mayor capacidad de absorción de luz UV-A. Destacar también que los valores de IPCE de los ambos electrodos son similares, reflejando la mayor resistencia óhmica que parece tener lugar en el electrodo de 3 recubrimientos, compensando su mayor superficie activa y optimización de la absorción de luz UV-A, que hubieran dado lugar a una mayor eficacia fotocatalítica.

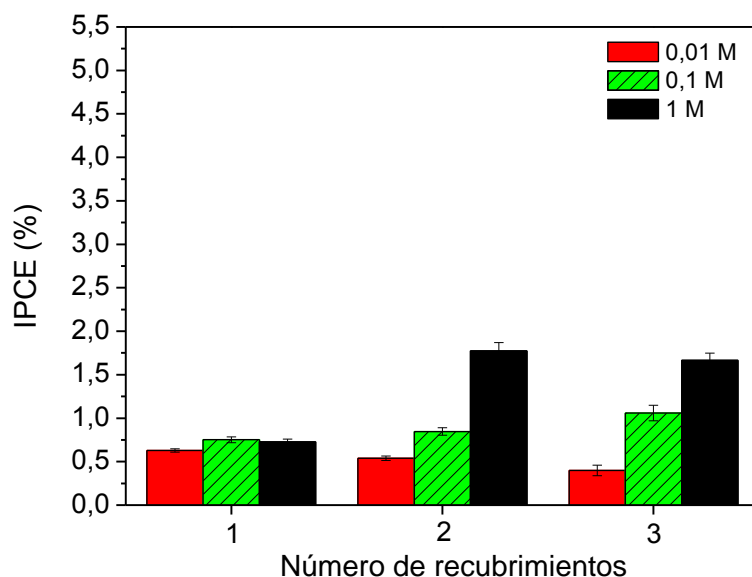


Figura 4.68. Rendimiento fotoelectroquímico de electrodos $\text{TiO}_2/\text{ITO}10$ con diferente número de recubrimientos en presencia de concentraciones crecientes de metanol. Barras de error calculadas a partir de experimentos triplicados.

Como conclusión, la Figura 4.72 muestra una representación esquemática del efecto del espesor de la capa de TiO_2 sobre la absorción de radiación y el transporte de electrones hasta el soporte conductor de los electrodos. Un mayor espesor de la capa de semiconductor supone la generación de una mayor cantidad de pares electrón/hueco, ya que aumenta significativamente la absorción de fotones. Puesto que la capa es porosa, las moléculas de agua y metanol pueden acceder al interior de la misma, produciéndose por tanto la transferencia de huecos en todo el volumen del recubrimiento. Sin embargo, puesto que la iluminación de la capa de TiO_2 se produce por el lado de la interfase con el electrolito, al aumentar el espesor aumenta la distancia media que los electrones tienen que recorrer hasta el soporte conductor, por lo que se incrementa la probabilidad de pérdidas por el camino. Este fenómeno da lugar a la existencia de un espesor óptimo en el que se maximiza el rendimiento global, que en el caso de los electrodos $\text{TiO}_2/\text{ITO}10$ parece alcanzarse con 2 recubrimientos.

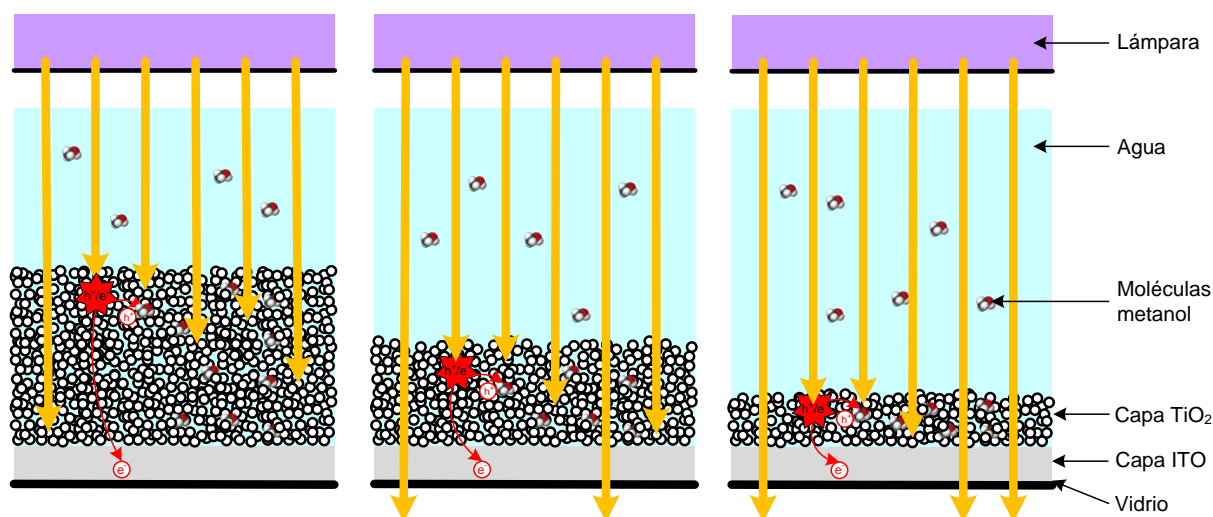


Figura 4.69. Representación esquemática del efecto del espesor de la capa de TiO_2 sobre la absorción de radiación y el transporte de electrones hasta el soporte conductor.

4.4.1.3. Influencia del tipo de contaminante.

Para finalizar con la evaluación de los electrodos en la celda fotoelectroquímica se ha realizado un estudio sobre el efecto de la aplicación de un potencial eléctrico en la inactivación de bacterias, así como su comparación con los resultados obtenidos previamente en la oxidación de metanol. La Figura 4.73 muestra la eficacia de un proceso fotocatalítico en la inactivación bacteriana así como el efecto de la aplicación de un potencial eléctrico utilizando un electrodo TiO_2/ITO de 2 recubrimientos. Se observa claramente como la aplicación de un potencial aumenta la velocidad de inactivación, viéndose significativamente incrementada al aumentar el potencial aplicado.

La Figura 4.71 compara los valores de constante cinética (k) de inactivación bacteriana con los valores de fotocorriente obtenidos por amperometría. Se observa un aumento tanto de la constante cinética como de la intensidad de fotocorriente con el potencial eléctrico aplicado, aunque el aumento de fotocorriente es menos acusado, por lo que la relación entre ambos parámetros no se mantiene constante.

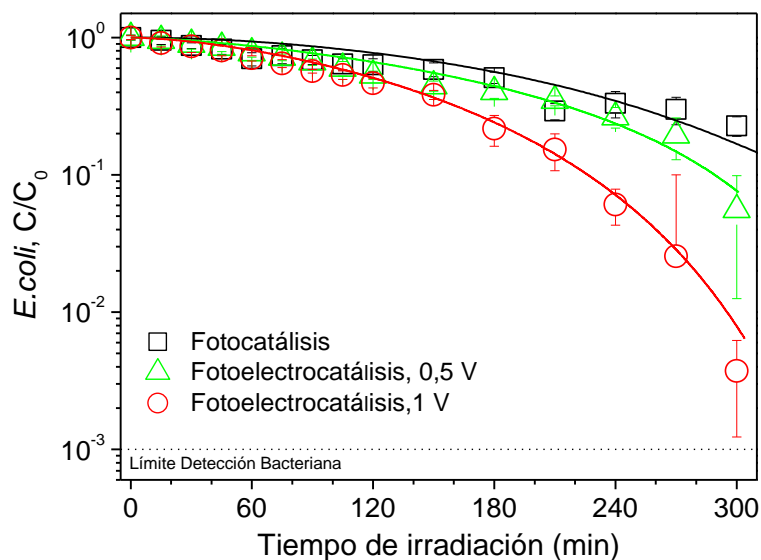


Figura 4.70. Efecto de la aplicación de un potencial eléctrico en la eficacia fotocatalítica de inactivación bacteriana. Electrodo: $\text{TiO}_2/\text{ITO}10$ con 2 recubrimientos. Electrolito: Na_2SO_4 0,1 M. Concentración inicial de *E.coli*: 10^3 UFC mL^{-1} . Barras de error calculadas a partir de ocho recuentos independientes. Curvas calculadas usando el modelo cinético representado por las ecuaciones 4.8 y 4.9.

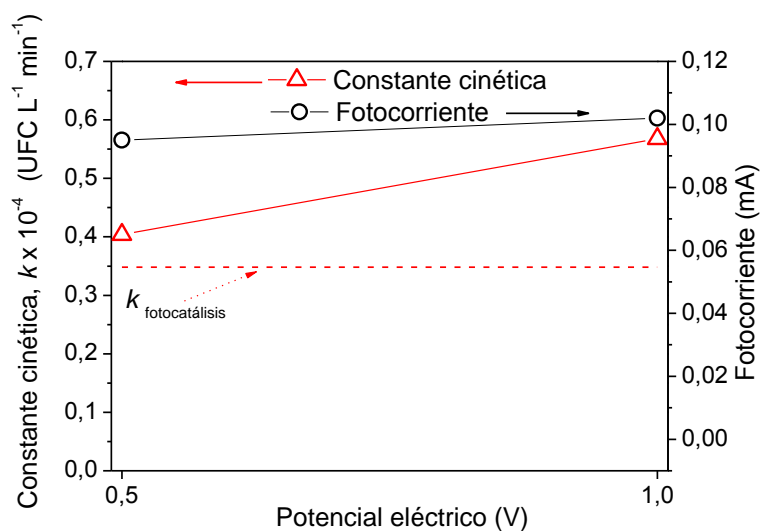


Figura 4.71. Inactivación fotoelectrocatalítica de *E.coli*. Influencia del potencial eléctrico en la constante cinética de inactivación y en la fotocorriente registrada por amperometría durante la reacción. Electrodo: $\text{TiO}_2/\text{ITO}10$ con 2 recubrimientos. Electrolito: Na_2SO_4 0,1 M. Concentración inicial de *E.coli*: 10^3 UFC mL^{-1} .

La Figura 4.72 compara el efecto de la aplicación de un potencial eléctrico sobre la eficacia de inactivación bacteriana y oxidación de metanol.

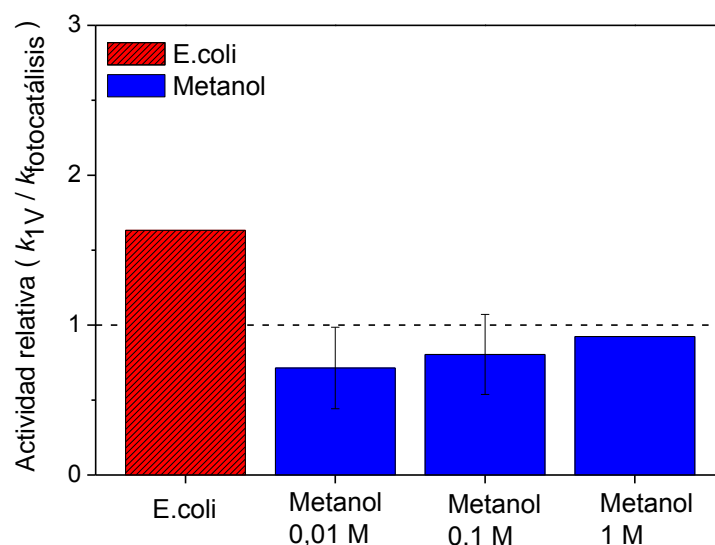


Figura 4.72. Comparación de la actividad relativa en la inactivación de *E.coli* y en la oxidación de metanol del proceso fotoelectrocatalítico aplicando un potencial eléctrico de 1 V en relación con el proceso fotocatalítico.

A diferencia de lo observado en metanol, la aplicación de un potencial eléctrico mejora significativamente la velocidad fotocatalítica de inactivación bacteriana. De acuerdo a los datos de voltametría cíclica (Figura 4.57) tampoco se hubiera esperado una mejora de actividad al incrementar el potencial aplicado de 0,5 a 1 V como se observa en la Figura 4.71. Por tanto, el incremento en la velocidad de inactivación bacteriana producido al aplicar un potencial eléctrico probablemente no es debido a una mejora en la separación de cargas sino al hecho de que al estar la bacteria cargada negativamente, la carga positiva en la superficie del electrodo favorecería la atracción de la bacteria a la superficie del TiO_2 y en consecuencia el ataque por radicales hidroxilo sobre su pared celular. La Figura 4.73 muestra una representación esquemática de este proceso. Por tanto, de la misma manera que ha sido observado por otros autores [84, 141, 225, 237, 238], las aplicaciones fotoelectrocatalíticas parecen depender en gran medida de las características del compuesto a degradar y especialmente de su carga o polaridad. En concreto los resultados mostrados en este trabajo indican que los procesos fotoelectrocatalíticos podrían tener cierto interés para aplicaciones de desinfección, puesto que el proceso de inactivación bacteriana se encuentra más favorecido que el de oxidación de contaminantes químicos sin carga como el metanol.

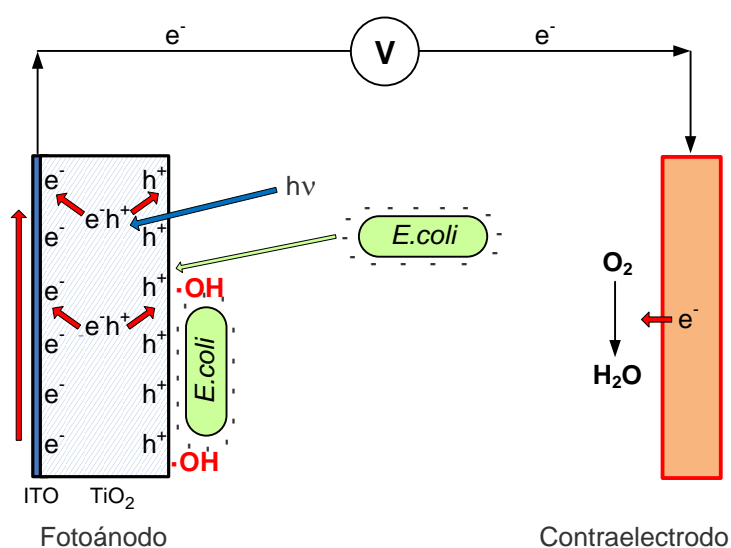


Figura 4.73. Representación esquemática del proceso fotoelectrocatalítico de inactivación bacteriana.

4.4.2. Reactor fotoelectrocatalítico.

Una vez estudiados los aspectos básicos de los procesos fotoelectrocatalíticos en la celda fotoelectroquímica se procedió a realizar el estudio de la inactivación de *E. coli* y oxidación de metanol en un reactor fotoelectrocatalítico de mayor tamaño con la misma configuración y geometría anular que el utilizado en los procesos fotocatalíticos discutidos en los apartados 4.2 y 4.3. El tipo de soporte seleccionado fue el vidrio conductor ITO dado que su transparencia posibilita la irradiación del electrodo desde la lámpara ubicada en el eje del reactor. Los electrodos utilizados están preparados sobre tubos cilíndricos de 15 cm de longitud y 3 cm de diámetro, posibilitando la comparación directa de los resultados con los obtenidos en el reactor de pared catalítica. Dentro de los electrodos de ITO, se seleccionó el soporte ITO10 por su menor resistencia eléctrica al transporte de los electrones. El reactor opera en una configuración de 2 electrodos, por lo que el potencial aplicado sobre el electrodo de trabajo está referido al contraelectrodo y no al electrodo de referencia, como sucedía en la configuración de 3 electrodos utilizada en la celda fotoelectroquímica.

4.4.2.1. Efecto del espesor del recubrimiento de TiO₂.

La Figura 4.74 muestra los valores de fotocorriente en Na₂SO₄ 0,1 M para un rango de potencial eléctrico aplicado entre -0,6 y 1,5 V. Los resultados obtenidos son similares a los

obtenidos en la celda, de forma que el electrodo de 1 recubrimiento parece dar lugar a valores de fotocorriente algo más elevados que los correspondientes a 2 y 3 recubrimientos. También se observa el mismo comportamiento al añadir metanol, dando lugar a un aumento significativo de los valores de fotocorriente. Por otro lado, varios autores [218, 222, 239] han observado que al aumentar el área de los electrodos, el potencial eléctrico real aplicado es inferior debido a pérdidas óhmicas. En este caso, el valor de potencial eléctrico al que el valor de intensidad de fotocorriente parece alcanzar un valor máximo corresponde a 0,4 V, de manera que será necesario aplicar potenciales superiores a este valor para observar una mejora notable de la eficacia fotocatalítica.

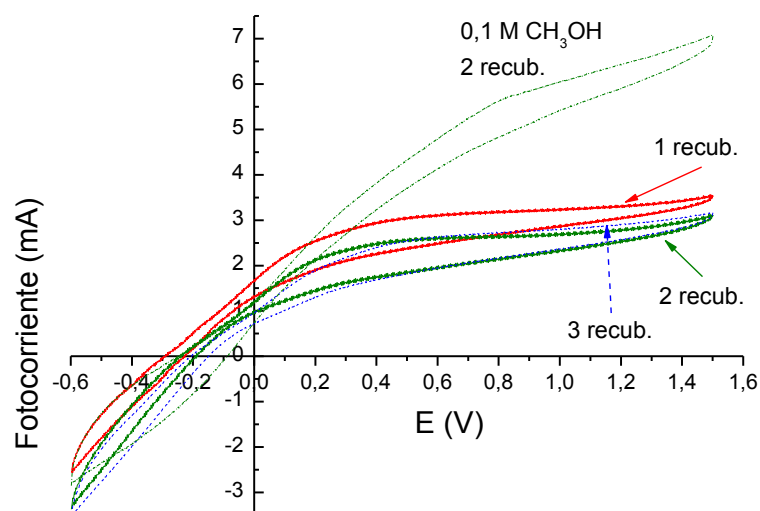


Figura 4.74. Voltametrías cíclicas de electrodos TiO₂/ITO10 iluminados con diferente número de recubrimientos y efecto de la adición de metanol. Electrolito: Na₂SO₄ 0,1 M. Velocidad de barrido: 0,1 V s⁻¹.

La Figura 4.78 muestra los valores de constante cinética (k) de formación de formaldehído a partir de la oxidación fotocatalítica de metanol 0,1 M. Se observa un incremento de dicha constante al aumentar el número de recubrimientos de TiO₂. En la Figura 4.78 también se muestra cómo afecta la aplicación de un potencial eléctrico de 1 V a los valores de formación fotocatalítica de formaldehído. Al igual que ocurre en la celda, no se observa un efecto significativo de la eficiencia del proceso de formación de formaldehído al aplicar un potencial eléctrico.

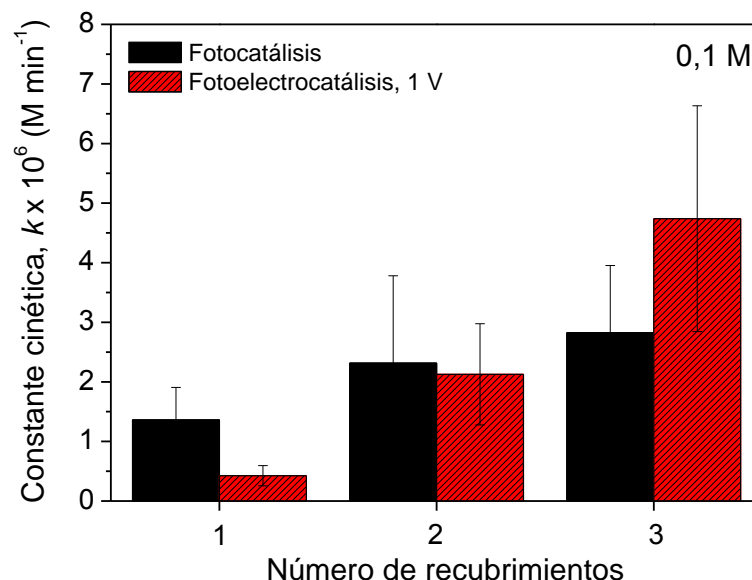


Figura 4.75. Actividad fotocatalítica y fotoelectrocatalítica de los electrodos $\text{TiO}_2/\text{ITO}10$ con diferente número de recubrimientos en la oxidación de metanol 0,1 M. Electrolito: Na_2SO_4 0,1 M. Barras de error calculadas a partir de experimentos triplicados.

La Figura 4.79 muestra el efecto del número de recubrimientos de TiO_2 del fotoelectrodo en la degradación fotoelectrocatalítica de metanol 0,1 M así como en los valores de fotocorriente al aplicar un potencial eléctrico de 1 V. Se observa tanto un incremento del valor de k como de la fotocorriente al aumentar la cantidad de TiO_2 incorporado. Por tanto, en este caso el incremento del espesor de la capa de TiO_2 no parece influir en el proceso de transporte de electrones como ocurría en la celda fotoelectroquímica (Figura 4.70), en la cuál, ni los valores de k ni de fotocorriente aumentan al pasar de 2 a 3 recubrimientos, al encontrar los electrones más resistencia a su paso por la capa de TiO_2 (recorren más distancia) En cuanto a los datos de fotocorriente obtenidos en el reactor, parecen correlacionarse con los resultados de oxidación de metanol en términos de k .

La Figura 4.77 muestra el rendimiento fotoelectroquímico (IPCE) en presencia de metanol 0,1 M en función del número de recubrimientos. Se observa un incremento del rendimiento al aumentar el número de recubrimientos coincidiendo con las tendencias observadas de actividad fotoelectrocatalítica.

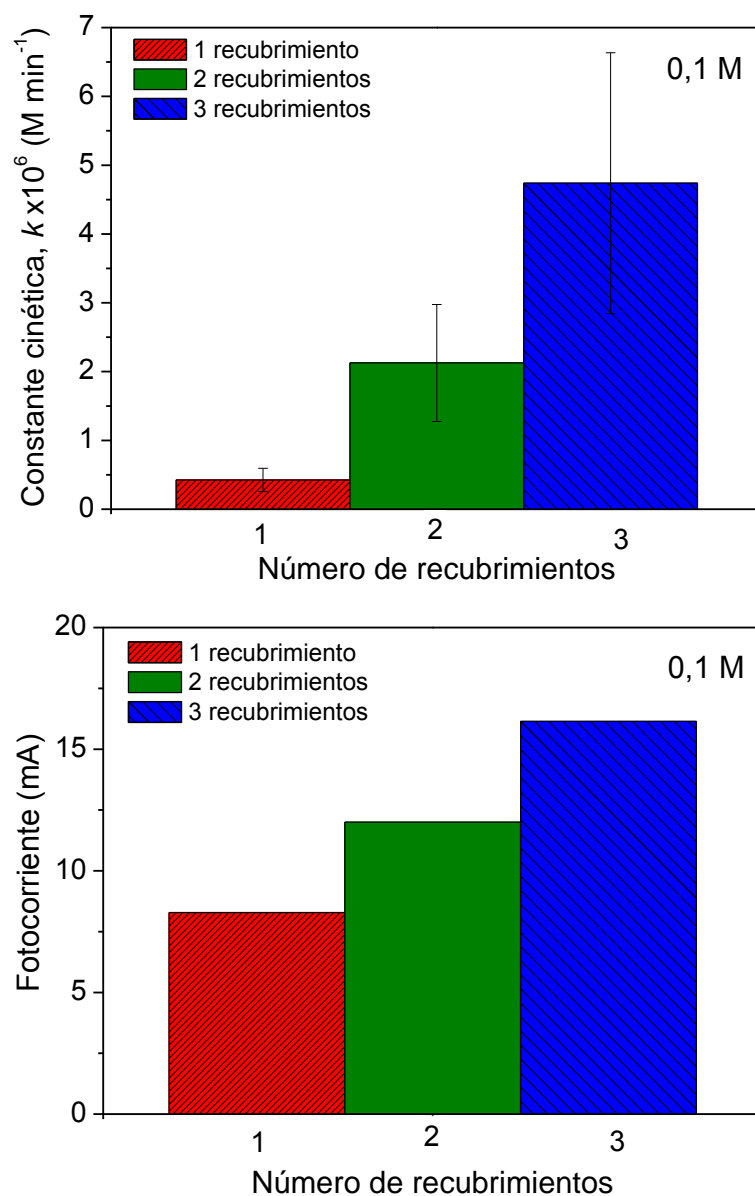


Figura 4.76. Actividad fotoelectrocatalítica de los electrodos $\text{TiO}_2/\text{ITO10}$ con diferente número de recubrimientos a 1 V de potencial aplicado: Constante cinética de formación de formaldehído a partir de metanol 0,1 M (superior) y la fotocorriente registrada por amperometría durante la reacción (inferior). Electrolito: Na_2SO_4 0,1 M. Barras de error calculadas a partir de experimentos triplicados.

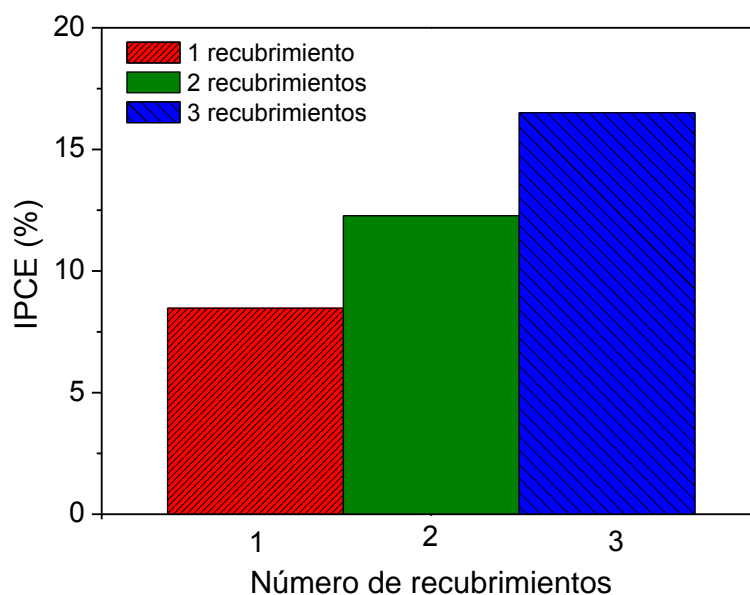


Figura 4.77. Rendimiento fotoelectroquímico de electrodos $\text{TiO}_2/\text{ITO}10$ con diferente número de recubrimientos en presencia de concentraciones crecientes de metanol. Electrolito: Na_2SO_4 0,1 M.

A continuación, en la Figura 4.81 se muestran los resultados obtenidos tras llevar a cabo los mismos experimentos, utilizando *E.coli* como contaminante a eliminar con el objetivo de determinar si en la inactivación bacteriana tiene lugar el mismo comportamiento observado con un compuesto químico como el metanol al aumentar el número de recubrimientos de catalizador. En la figura superior se muestran las curvas de inactivación fotocatalítica bacteriana obtenidas en Na_2SO_4 0,1 M utilizando los electrodos $\text{TiO}_2/\text{ITO}10$ con una espesor creciente de la capa de TiO_2 , apreciándose un claro aumento de la velocidad de inactivación con el número de recubrimientos. Los resultados obtenidos al aplicar un potencial eléctrico de 1 V, mostrados en la figura inferior, también muestran esta misma tendencia. Los resultados en términos de la constante cinética de inactivación se muestran en la Figura 4.79. Como se ha comentado, tanto en el proceso fotocatalítico como en el fotoelectrocatalítico se observa una mejora significativa de la eficacia al aumentar el número de recubrimientos y además, a diferencia de lo observado en metanol, la aplicación de un potencial eléctrico supone una clara mejora respecto del proceso fotocatalítico de inactivación bacteriana. Este hecho podría explicarse debido no tanto a una disminución de la recombinación de los pares electrón-hueco al aplicar un potencial eléctrico, sino a una mayor atracción de *E.coli* hacia la superficie del

catalizador al tener la bacteria carga negativa debido a los grupos funcionales presentes en su pared celular, y existir carga positiva debida a los huecos en la superficie del TiO_2 .

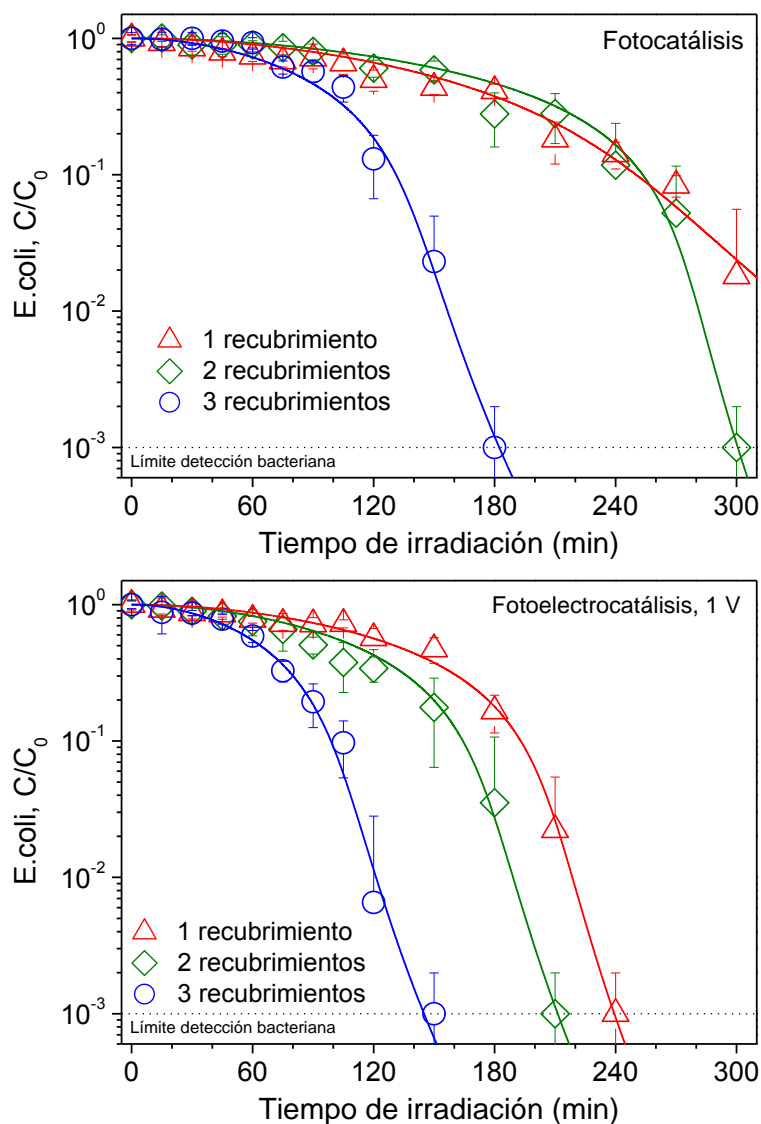


Figura 4.78. Actividad fotocatalítica (superior) y fotoelectrocatalítica a 1 V (inferior) de los electrodos $\text{TiO}_2/\text{ITO}10$ con diferente número de recubrimientos en la inactivación de *E. coli*. Concentración inicial de *E. coli*: 10^3 UFC mL^{-1} . Electrolito: Na_2SO_4 0,1 M. Barras de error calculadas a partir de ocho recuentos independientes. Curvas calculadas usando el modelo cinético representado por las ecuaciones 4.8 y 4.9.

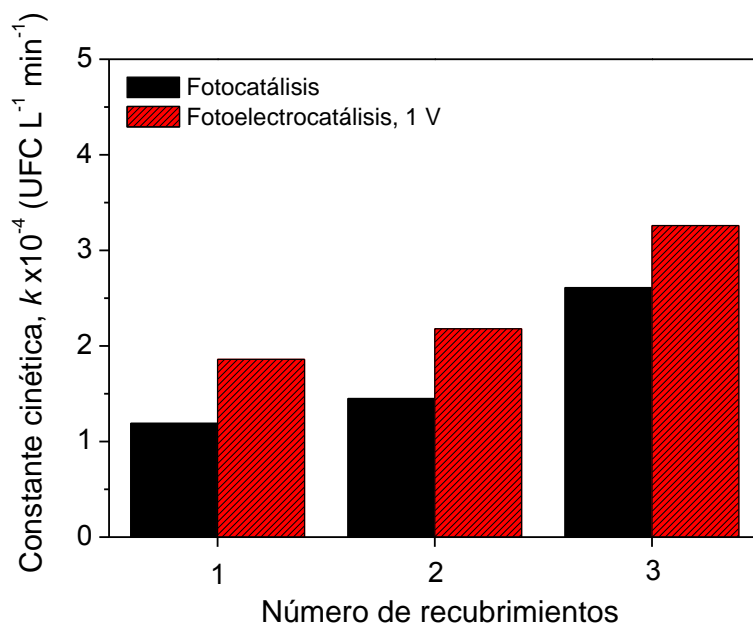


Figura 4.79. Constante cinética de inactivación fotocatalítica y fotoelectrocatalítica a 1 V de los electrodos $\text{TiO}_2/\text{ITO10}$ con diferente número de recubrimientos en la inactivación de *E.coli*. Concentración inicial de *E.coli*: 10^3 UFC mL^{-1} . Electrolito: Na_2SO_4 0,1 M.

En la Figura 4.80 se muestra la existencia de una clara correlación entre los valores de la constante cinética de inactivación bacteriana (k) y los de la fotocorriente registrada en el circuito externo durante la reacción para los electrodos $\text{TiO}_2/\text{ITO10}$ con diferente número de recubrimientos.

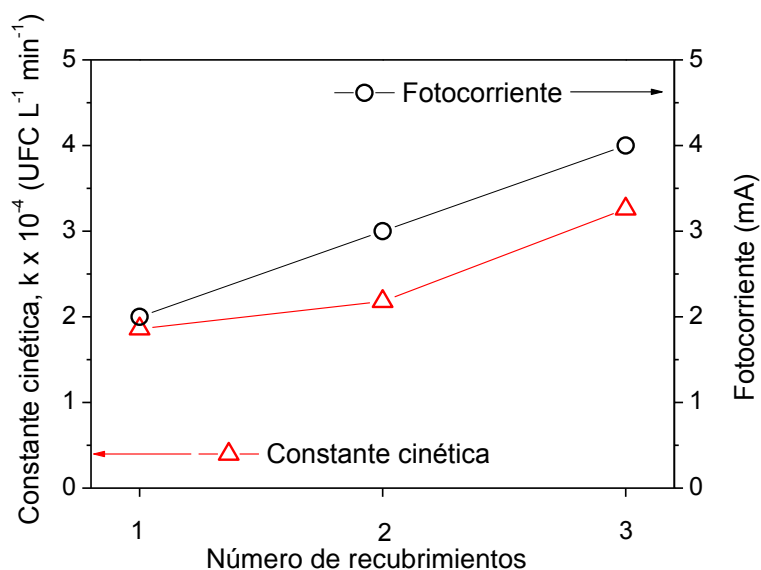


Figura 4.80. Constante cinética de inactivación bacteriana y fotocorriente registrada durante la reacción. Concentración inicial de *E.coli*: 10^3 UFC mL^{-1} . Electrolito: Na_2SO_4 0,1 M.

La Figura 4.81 muestra el rendimiento fotoelectroquímico (IPCE) de los electrodos $\text{TiO}_2/\text{ITO}10$ con diferente número de recubrimientos de TiO_2 en presencia de *E.coli*. Como en el caso de la presencia de metanol, se observa un aumento del rendimiento fotoelectroquímico con el número de recubrimientos. Sin embargo, los valores de IPCE registrados en presencia de *E.coli* son notablemente más bajos que los obtenidos en presencia de metanol, a pesar de que en el caso de la bacteria se ha observado un efecto positivo de la aplicación de un potencial eléctrico en el proceso fotocatalítico de inactivación. Por tanto, el uso de intensidades de fotocorriente para calcular rendimientos del proceso no siempre parece correlacionarse con la actividad observada, debido a la complejidad del proceso no sólo fotoelectrocatalítico, sino también de inactivación bacteriana.

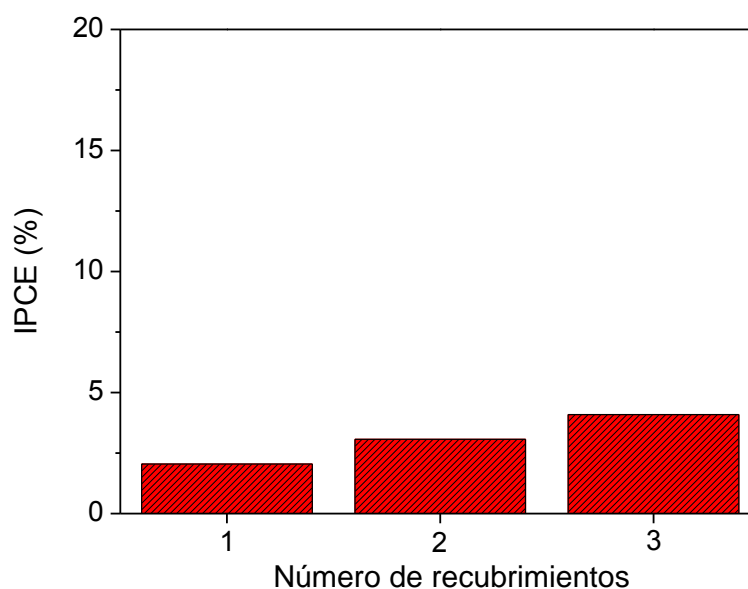


Figura 4.81. Rendimiento fotoelectroquímico de electrodos $\text{TiO}_2/\text{ITO}10$ con diferente número de recubrimientos en presencia de *E.coli*. Electrolito: Na_2SO_4 0,1 M.

4.4.2.2. Efecto del potencial eléctrico.

En cuanto al efecto del valor de potencial eléctrico aplicado, en la Figura 4.82 se muestran los valores de la constante cinética de formación de formaldehído obtenidos con los electrodos $\text{TiO}_2/\text{ITO}10$ con diferente número de recubrimientos para varios valores de potencial eléctrico. Se observa claramente un aumento de la actividad de oxidación de metanol al aumentar el número de recubrimientos para todos los valores de potencial eléctrico aplicados, a diferencia de lo observado en la celda, en la que al aplicar un potencial no se

observaba aumento de los valores de k de 2 a 3 recubrimientos. Sin embargo, no se observa un incremento de los valores k con el potencial eléctrico. En cuanto a los valores de fotocorriente, también mostrados en la Figura 4.82, sí muestran un aumento al incrementar el potencial eléctrico aplicado, no correlacionándose con un aumento en los valores de k .

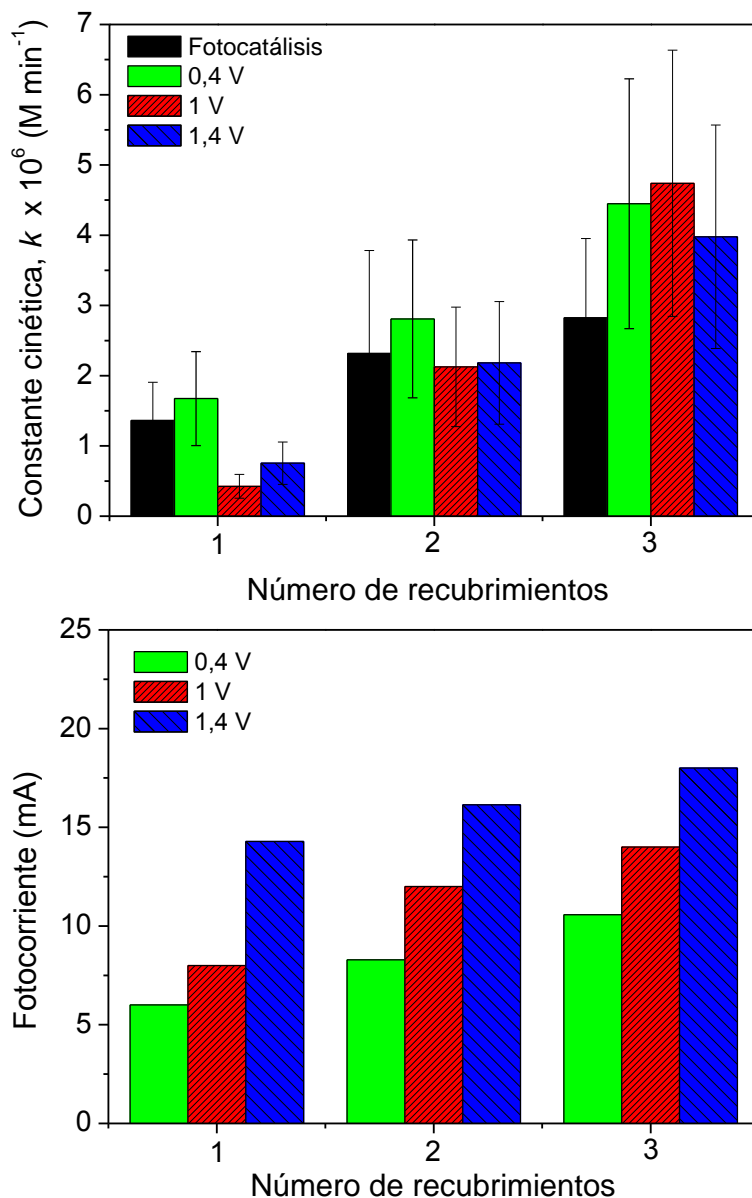


Figura 4.82. Actividad fotoelectrocatalítica de los electrodos $\text{TiO}_2/\text{ITO}10$ con diferente número de recubrimientos para diferentes potenciales eléctricos: Constante cinética de formación de formaldehído a partir de metanol 0,1 M (superior) y la fotocorriente registrada por amperometría durante la reacción (inferior). Electrolito: Na_2SO_4 0,1 M. Barras de error calculadas a partir de experimentos triplicados.

4.4.2.3. Comparación de la inactivación bacteriana con la oxidación de contaminantes.

La Figura 4.83 muestra la curva de inactivación fotocatalítica de *E.coli* en comparación con las obtenidas mediante aplicación de diferentes valores de potencial eléctrico. Se observa un notable incremento de la velocidad de inactivación al aplicar un potencial eléctrico, tanto mayor cuanto mayor es el valor del mismo. Estos resultados contrastan con los obtenidos en el proceso de oxidación de metanol, donde la aplicación de un potencial eléctrico no producía mejoras significativas (Figura 4.78) y además el incremento de potencial eléctrico aplicado tampoco parece incrementar la velocidad oxidación de metanol (Figura 4.82).

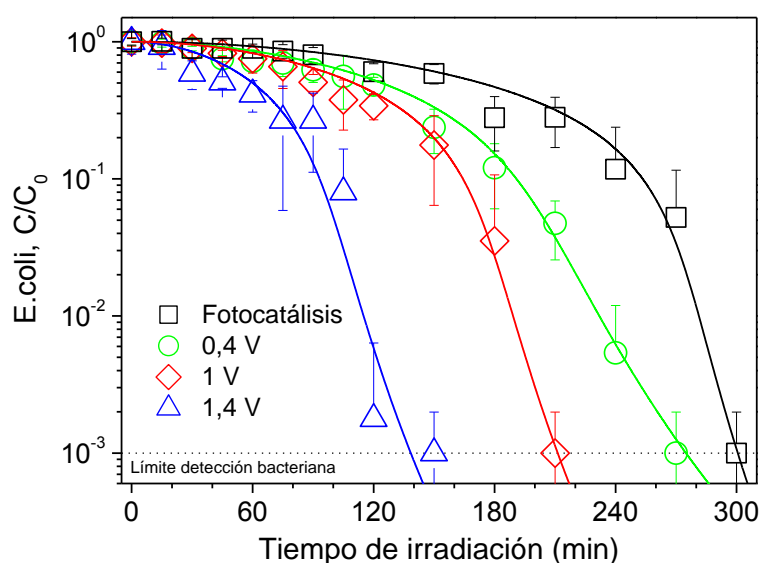


Figura 4.83. Comparación de la actividad fotocatalítica y fotoelectrocatalítica a diferentes potenciales eléctricos en la inactivación de *E.coli*. Electrodo: TiO₂/ITO10 con 2 recubrimientos. Electrolito: Na₂SO₄ 0,1 M. Concentración inicial de *E.coli*: 10³ UFC mL⁻¹. Barras de error calculadas a partir de ocho recuentos independientes. Curvas calculadas usando el modelo cinético representado por las ecuaciones 4.8 y 4.9.

La Figura 4.84 muestra los valores de constante cinética de inactivación bacteriana así como los de fotocorriente obtenidos al aplicar 0,4; 1; y 1,4 V, mostrando el notable incremento de ambos valores al aumentar el potencial eléctrico y la existencia de una clara correlación entre ambos.

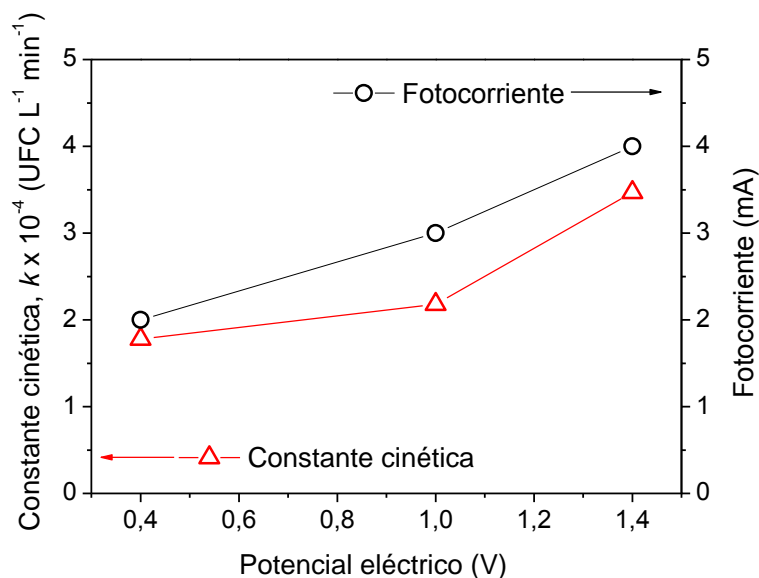


Figura 4.84. Inactivación fotoelectrocatalítica de *E.coli*. Influencia del potencial eléctrico en la constante cinética de inactivación y en la fotocorriente registrada por amperometría durante la reacción. Electrodo: TiO₂/ITO10 con 2 recubrimientos. Electrolito: Na₂SO₄ 0,1 M.

Concentración inicial de *E.coli*: 10³ UFC mL⁻¹.

Por último, en la Figura 4.85 se recoge la comparación entre el efecto del potencial eléctrico sobre la eficacia de los procesos fotoelectrocatalíticos de inactivación de *E.coli* y de oxidación de metanol. Se observa que la fuerte dependencia de los resultados respecto del tipo de contaminante ya que mientras que la aplicación de diferentes potenciales eléctricos no parece mejorar el proceso fotocatalítico de oxidación de metanol, sí parece tener un efecto positivo en la inactivación fotocatalítica bacteriana. De acuerdo con los resultados de las voltametrías cíclicas mostradas en la Figura 4.74, a potenciales superiores a 0,4 V parece alcanzarse un valor constante de intensidad de fotocorriente máxima, es decir, la máxima reducción posible de la recombinación de los portadores de carga. Por tanto, no se hubieran esperado mejoras notables del proceso fotocatalítico de inactivación bacteriana a potenciales superiores a 0,4 V. Este hecho, junto con las diferencias en el efecto de la aplicación de potencial eléctrico en la eficacia fotocatalítica observadas entre metanol y *E.coli* parecen confirma la hipótesis de que la mejora del proceso fotocatalítico de inactivación bacteriana al aplicar potencial eléctrico no se debe a la separación de cargas, sino a la mayor atracción de la bacteria a la superficie del catalizador, favoreciendo su interacción y en consecuencia el ataque de los radicales hidroxilo en la pared celular de la bacteria.

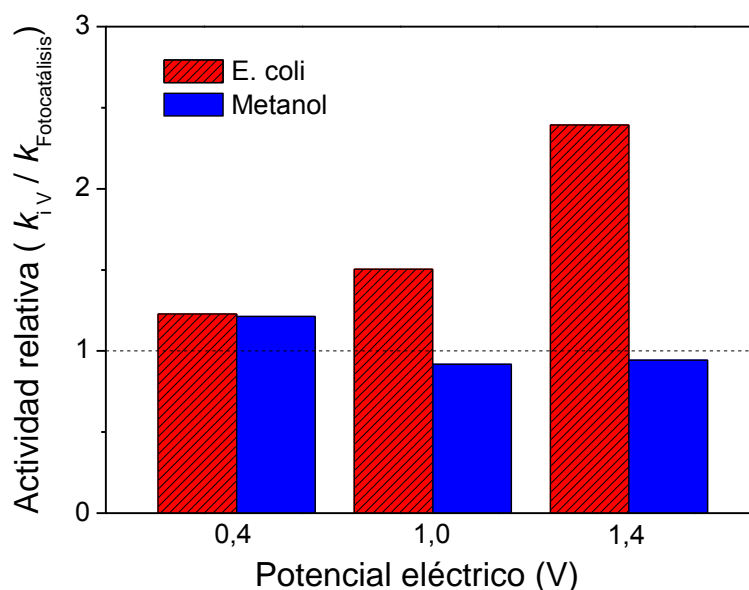


Figura 4.85. Comparación de la actividad relativa en la inactivación de *E.coli* y en la oxidación de metanol del proceso fotoelectrocatalítico aplicando diferentes potenciales eléctricos en relación con el proceso fotocatalítico.

4.4.2.4. Influencia de la composición química del agua.

Puesto que los experimentos anteriores se han realizado en un electrolito de Na_2SO_4 0,1 M, es necesario evaluar la viabilidad del proceso en aplicaciones reales como tratamiento terciario con el objetivo de eliminar contaminantes concretos para la posible reutilización del agua residual de salida de un tratamiento secundario. Por ello, se han realizado experimentos de oxidación de metanol e inactivación de *E.coli* en el agua residual sintética (ARS) utilizada a lo largo de esta investigación, cuya conductividad es significativamente menor ($40 \mu\text{S cm}^{-1}$).

La Figura 4.89 muestra los valores de la constante cinética de formación de formaldehído a partir de la oxidación fotocatalítica de metanol 0,1 M en ARS, así como al aplicar diferentes valores de potencial eléctrico. Se observa un claro incremento de los valores de k al aumentar el potencial eléctrico aplicado, siguiendo la misma tendencia los valores de intensidad de fotocorriente. Se podría pensar que puesto que el ARS tiene menor concentración de sales, los valores de k en efluente de depuradora deberían ser más elevados que en Na_2SO_4 0,1 M. Sin embargo, los valores de la constante cinética de formación fotocatalítica de formaldehído son similares o incluso menores en ARS ($1,04 \pm 0,11 \times 10^{-6} \text{ M min}^{-1}$) que en Na_2SO_4 0,1 M ($2,32 \pm 1,47 \times 10^{-6} \text{ M min}^{-1}$) (Figura 4.78), no pareciendo afectar significativamente la composición

química del agua a la oxidación de metanol. Por otro lado, los valores de k obtenidos al aplicar un potencial eléctrico de 1 V en ARS ($3,15 \pm 0,11 \times 10^{-6} \text{ M min}^{-1}$) son también comparables a los obtenidos en Na_2SO_4 0,1 M ($2,13 \pm 0,85 \times 10^{-6} \text{ M min}^{-1}$) (Figura 4.79). Sin embargo, se observa el incremento de estos valores con el aumento del potencial aplicado, a diferencia de lo observado en Na_2SO_4 0,1 M (Figura 4.82). Por tanto, el hecho de que la aplicación de un potencial eléctrico mejore el proceso fotocatalítico de oxidación de metanol en ARS pero no lo haga en Na_2SO_4 0,1 M no parecen deberse a la concentración de sales sino que podría deberse al tipo de electrolito. Como se ha mostrado en el apartado 4.2.4, el tipo de iones presentes en el agua condiciona en gran medida el proceso fotocatalítico, de forma que aunque la mayor conductividad del Na_2SO_4 0,1 M mejoraría a priori la parte electroquímica del proceso, una concentración tan elevada de sulfatos podría inducir una desactivación significativa del catalizador.

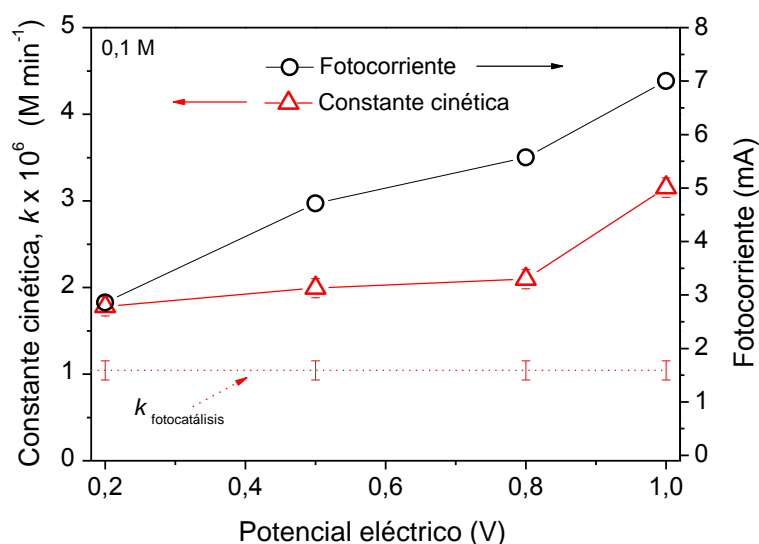


Figura 4.86. Constante cinética de formación de formaldehído a partir de la oxidación de metanol 0,1 M y fotocorriente registrada durante la reacción en función del potencial eléctrico aplicado. Electrodo: $\text{TiO}_2/\text{ITO}_{10}$ con 2 recubrimientos. Electrolito: agua residual sintética (ARS).

En cuanto a los valores de intensidad de fotocorriente, éstos no son tan altos como en Na_2SO_4 0,1 M (Figura 4.82) pudiéndose deber a la menor conductividad del electrolito. Sin embargo, son datos contradictorios puesto que se ha observado una mejora del proceso fotocatalítico de degradación de metanol al aplicar un potencial eléctrico ARS pero no en

Na_2SO_4 0,1 M. Por tanto, los datos de intensidad de fotocorriente no permiten predecir el efecto de la aplicación de un potencial eléctrico en diferentes electrolitos.

En cuanto a los resultados de la aplicación en procesos de desinfección, la Figura 4.87 muestra la curva de inactivación fotocatalítica de *E.coli* en ARS así como el efecto de mejora del proceso que produce la aplicación de un potencial eléctrico de 1 V.

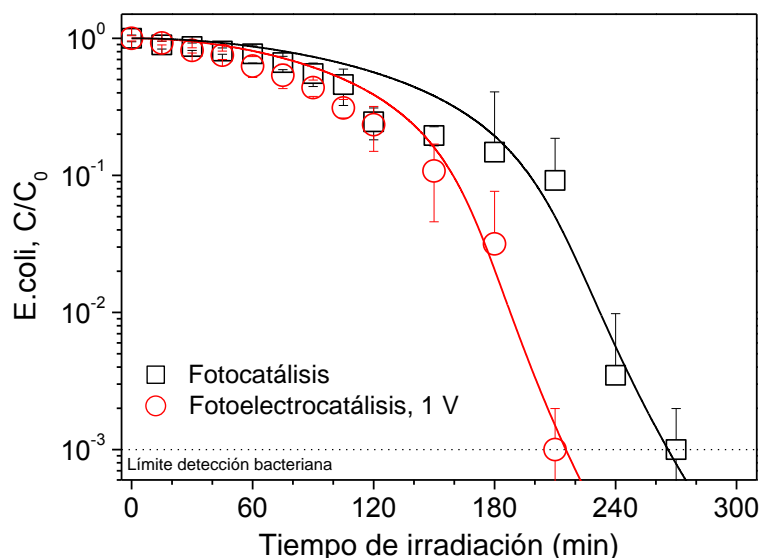


Figura 4.87. Curvas de inactivación fotocatalítica y fotoelectrocatalítica a 1 V de *E.coli* en agua residual sintética (ARS). Concentración inicial de *E.coli*: 10^3 UFC mL^{-1} . Barras de error calculadas a partir de ocho recuentos independientes. Curvas calculadas usando el modelo cinético representado por las ecuaciones 4.8 y 4.9.

La Figura 4.88 muestra el valor de la constante cinética de inactivación fotocatalítica bacteriana ($1,73 \times 10^4$ UFC $\text{L}^{-1} \text{min}^{-1}$) así como el valor de k obtenido al aplicar 1 V ($2,23 \times 10^4$ UFC $\text{L}^{-1} \text{min}^{-1}$). Además de confirmarse el aumento de la velocidad de inactivación fotocatalítica al aplicar un potencial eléctrico, resulta de interés la comparación con los valores de k obtenidos en Na_2SO_4 0,1 M, correspondientes a $1,45$ y $2,18 \times 10^4$ UFC $\text{L}^{-1} \text{min}^{-1}$ (Figura 4.84) para el proceso fotocatalítico y al aplicar 1 V respectivamente. El valor de la constante de inactivación fotocatalítica bacteriana en ARS es mayor que en sulfato a diferencia de lo observado en metanol. Por tanto, una menor concentración de sales favorece el proceso fotocatalítico al existir menos iones compitiendo con la bacteria por los radicales hidroxilo. Sin embargo, los valores de k obtenidos al aplicar 1 V en ARS y en Na_2SO_4 0,1 M

son similares, indicando que una reducción de la conductividad del medio puede conllevar una menor eficacia del proceso fotoelectrocatalítico si se compara con el proceso fotocatalítico. Por tanto se observa una mayor influencia de la composición química del agua en los procesos de inactivación bacteriana, siendo la bacteria más sensible que un compuesto químico como el metanol a la presencia de iones y materia orgánica. El valor de fotocorriente registrado al aplicar 1 V en ARS (Figura 4.88) es similar al valor obtenido en Na_2SO_4 0,1 M (Figura 4.84). Sin embargo, para que estos datos de intensidad hubieran correlacionado con los de actividad, se debería haber obtenido un dato de fotocorriente mayor en Na_2SO_4 0,1 M que en ARS, ya que el incremento en el valor de k fotocatalítico en comparación con el valor de k al aplicar 1 V es mayor en Na_2SO_4 0,1 M que ARS.

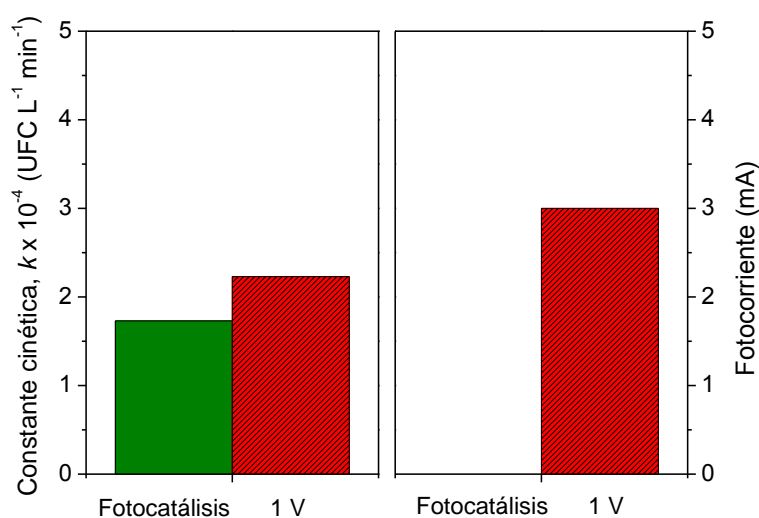


Figura 4.88. Actividad fotocatalítica y fotoelectrocatalítica en la inactivación de *E.coli* en agua residual sintética (ARS). Constante cinética de inactivación bacteriana (izquierda) y fotocorriente (derecha). Concentración inicial de *E.coli*: 10^3 UFC mL⁻¹.

Finalmente, la Figura 4.89 muestra la comparación del efecto de la aplicación de un potencial eléctrico de 1 V sobre la mejora de la eficacia de un proceso fotocatalítico de inactivación bacteriana y de oxidación de metanol. A diferencia de lo que se ha observado en Na_2SO_4 0,1 M (Figura 4.85), en ARS tanto la oxidación fotocatalítica de metanol como la inactivación fotocatalítica bacteriana parecen verse favorecidos al aplicar un potencial eléctrico. Sin embargo, en términos relativos es el proceso de oxidación de metanol el que parece verse más beneficiado en este caso.

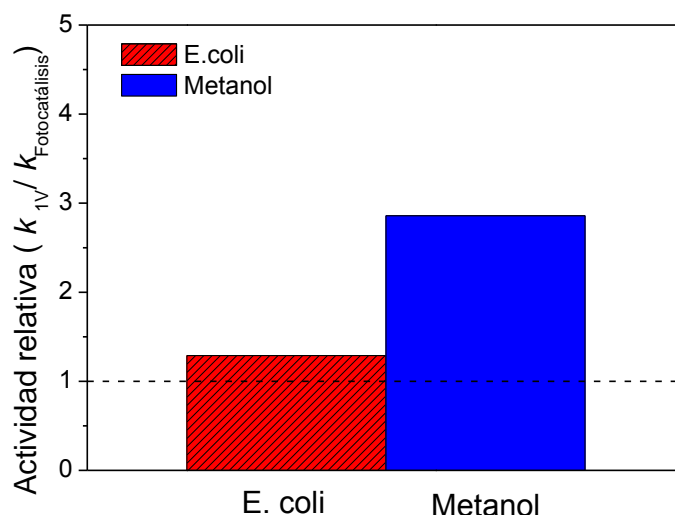


Figura 4.89. Comparación de la actividad relativa en la inactivación de *E.coli* y en la oxidación de metanol del proceso fotoelectrocatalítico aplicando un potencial eléctrico de 1 V en agua residual sintética (ARS).

4.4.3. Cambio de escala de los electrodos fotocatalíticos.

Para poder realizar la comparación entre los resultados obtenidos en los pequeños electrodos utilizados en la celda y en los electrodos de mayor tamaño del reactor fotoelectrocatalítico es necesario tener en cuenta las posibles diferencias en la iluminación de ambos sistemas. En la Figura 4.93 se muestran los resultados de las medidas actinométricas realizadas, de cuyas pendientes se obtienen valores de $0,01753 \text{ mEinstein min}^{-1}$ (correspondiente a $2,92 \times 10^{-7} \text{ Einstein s}^{-1}$) y $0,06074 \text{ mEinstein min}^{-1}$ (correspondiente a $1,01 \times 10^{-6} \text{ Einstein s}^{-1}$) para celda y reactor fotoelectrocatalítico respectivamente. En primer lugar cabe destacar que el valor de radiación incidente al sistema de reacción es muy superior al obtenido en la celda fotoelectroquímica, pese a que la celda utiliza cuatro lámparas análogas a la utilizada en el reactor. Este hecho viene a confirmar la elevada eficacia de los sistemas de iluminación anulares en comparación con la iluminación exterior, aunque obviamente el sistema de iluminación de la celda dista mucho de ser óptimo, habiendo sido diseñado el sistema para la realización de los ensayos electroquímicos y no para maximizar el aprovechamiento de la energía. Es importante destacar que en el caso de la celda fotoelectroquímica, al iluminarse el electrodo por la parte delantera de la capa de TiO_2 , la potencia de irradiación recibida es independiente del tipo de soporte conductor a diferencia de lo que ocurriría en el reactor, donde la radiación primero debe atravesar la capa de ITO. Si se

compara el valor de la potencia de radiación incidente en el caso de la utilización de un electrodo de vidrio conductor ITO10 sin recubrir ($1,01 \times 10^{-6}$ Einstein s^{-1}) con el obtenido en el mismo reactor utilizando como pared interna un vidrio de borosilicato ($2,77 \times 10^{-6}$ Einstein s^{-1}), se observa una cierta reducción de la potencia de radiación incidente al absorber el óxido de estaño dopado con indio de resistencia eléctrica $10 \Omega \text{ sq}^{-1}$ (ITO10) parte de la radiación. En conclusión, la comparación de ambos sistemas de reacción requiere tener en cuenta diversos factores, como son el área (25 cm^2 en los electrodos de la celda frente a 144 cm^2 de los electrodos del reactor) la potencia de irradiación, el tipo de iluminación (frontal o trasera), las pérdidas óhmicas, etc.

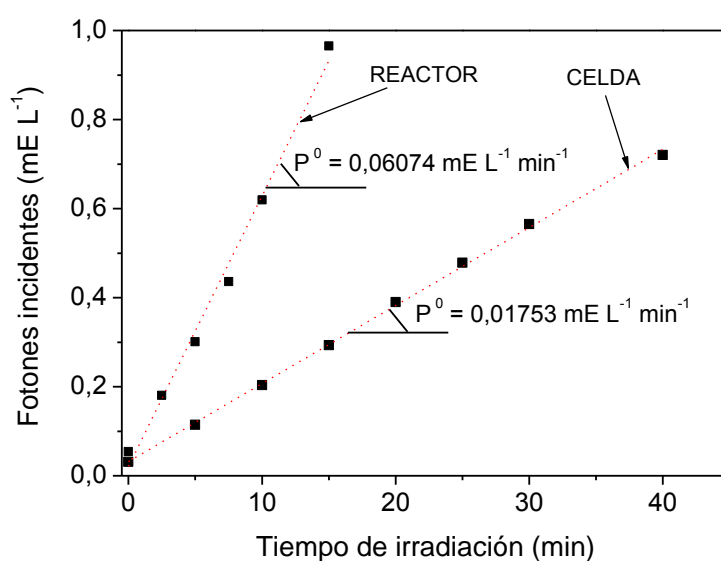


Figura 4.90. Determinación de la potencia de radiación incidente (P^0) en la celda y reactor fotoelectrocatalítico mediante ensayos actinométricos con ferrioxalato potásico.

La Figura 4.94 muestra una comparación del valor de densidad de fotocorriente y de actividad fotoelectrocatalítica en la oxidación de metanol 0,1 M al aplicar un potencial eléctrico de 1 V en términos de constante cinética entre la celda fotoelectroquímica y el reactor fotoelectrocatalítico, utilizando en ambos casos una configuración de dos electrodos. De esta forma se puede realizar una comparación adecuada de valores de fotocorriente al asegurar que se está aplicando el mismo potencial eléctrico en ambos sistemas. Además, puesto que los procesos fotoelectrocatalíticos son procesos de superficie, que dependen de la potencia de irradiación, la constante cinética que describe el proceso y los valores de

fotocorriente pueden dividirse por el área del electrodo y la potencia de irradiación, permitiendo la comparación de la actividad de electrodos de diferentes tamaños. Los valores de densidad de corriente obtenidos para ambos sistemas son comparables, lo que daría lugar a valores de k similares. De acuerdo a lo esperado, la Figura 4.94 muestra valores de k similares para ambos fotoelectrodos, lo que implica que los electrodos pueden ser cambiados de escala de forma razonables considerando las diferencias de superficie y de potencia de irradiación. Además, la existencia de pérdidas óhmicas en el potencial eléctrico aplicado que aparecen cuando los fotoelectrodos se aumentan de escala [218] no parecen afectar negativamente a la eficiencia del proceso de transferencia de cargas, como confirman los valores de k similares para la oxidación de metanol así como los valores de densidad de fotocorriente.

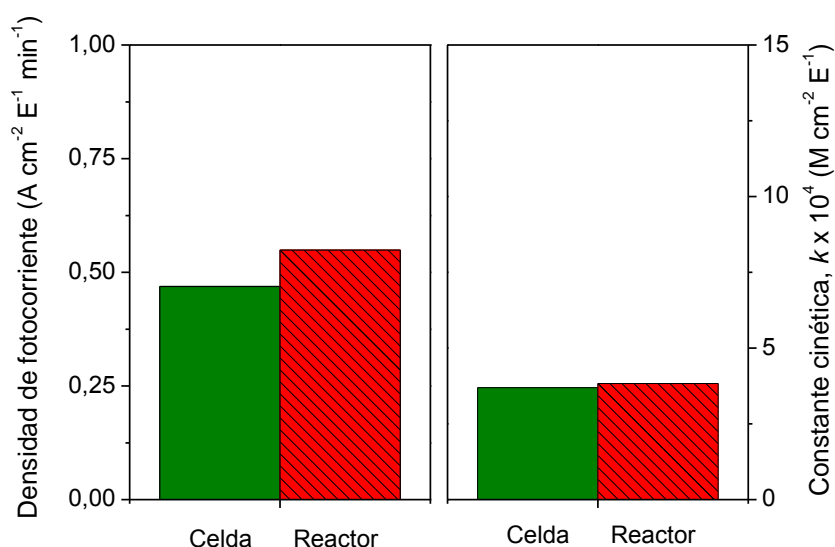


Figura 4.91. Comparación de la densidad de fotocorriente (izquierda) y de la constante cinética de formación de formaldehído (derecha) de electrodos $\text{TiO}_2/\text{ITO}_{10}$ de dos recubrimientos en la celda (25 cm^2 ; $P^0 = 2,92 \times 10^{-7} \text{ Einstein s}^{-1}$) y en el reactor ($141,4 \text{ cm}^2$; $P^0 = 1,01 \times 10^{-6} \text{ Einstein s}^{-1}$). Concentración inicial de metanol: 0,1 M. Potencial eléctrico aplicado: 1 V. Ambos sistemas en configuración de dos electrodos.

Las diferencias en forma de iluminación del fotoelectrodo de TiO_2/ITO entre ambos sistemas (incidiendo primeramente sobre la capa de TiO_2 para la celda o sobre el soporte conductor para el reactor) tampoco parecen dar lugar a diferencias en los valores de densidad de fotocorriente y actividad fotoelectrocatalítica. Por el contrario, otros autores [205, 227] han señalado diferencias en los valores de fotocorriente en función de la forma de iluminación del

fotoelectrodo, de forma que registraron valores de fotocorriente más elevados cuando la iluminación se produce incidiendo sobre la parte trasera del fotoelectrodo en comparación con los obtenidos iluminando sobre la parte frontal. Estos resultados se justificaron teniendo en cuenta que al iluminar frontalmente, el flujo de electrones debe atravesar la capa de TiO_2 hasta llegar al contacto eléctrico, pudiendo tener lugar ciertas pérdidas de electrones, disminuyendo el flujo de electrones registrado. Este hecho también justificaría la menor dependencia observada de los valores de fotocorriente con el espesor de la capa de TiO_2 para capas gruesas al iluminar por la parte trasera del electrodo.

La Figura 4.95 muestra la comparación del proceso fotoelectrocatalítico de inactivación bacteriana al aplicar un potencial eléctrico de 1 V entre la celda fotoelectroquímica y el reactor fotoelectrocatalítico, utilizando en ambos casos una configuración de dos electrodos. En este caso, a diferencia de lo esperado, la inactivación de *E.coli* parece estar más favorecida en la celda fotoelectroquímica, lo cuál podría deberse a las diferencias que existen en la forma de iluminar el fotoelectrodo entre ambos sistemas, tal y como se esquematiza en la Figura 4.96. Puesto que en el reactor el fotoelectrodo se ilumina por la parte trasera del mismo, es decir, incidiendo en el soporte conductor en primer lugar, la mayor parte de los huecos se formarán en la capa de TiO_2 . Sin embargo, sólo los huecos formados en la superficie del TiO_2 serán accesibles a la bacteria, a diferencia de lo que ocurre en el caso del metanol. En general, el menor tamaño de los compuestos químicos en comparación con la bacteria les permite acceder a huecos situados no sólo en la superficie del catalizador lo que hace que la velocidad de oxidación sea más independiente de la forma de iluminación del electrodo.

La Figura 4.97 muestra la comparación de la actividad fotocatalítica y fotoelectrocatalítica observada para los electrodos $\text{TiO}_2/\text{ITO}10$ entre la celda y el reactor en función del espesor de la capa de TiO_2 , ya que este factor parece dar lugar a diferencias entre ambos sistemas. La actividad fotocatalítica en términos de constante cinética de formación de formaldehído aumenta con el espesor de la capa de TiO_2 en ambos sistemas. Sin embargo, los valores de la constante cinética fotocatalítica parecen ser ligeramente más elevados en la celda que en el reactor. Esto podría sugerir que la iluminación de los electrodos TiO_2/ITO por su parte frontal daría lugar a una actividad fotocatalítica ligeramente mayor al incidir la luz directamente en la capa de TiO_2 , evitando una pequeña absorción de luz por el soporte conductor de ITO.

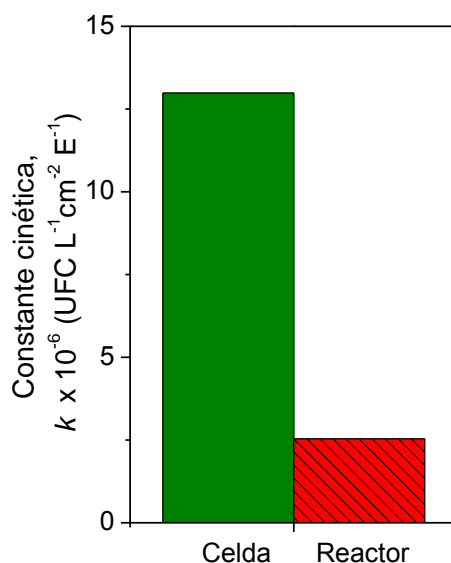


Figura 4.92. Comparación de la constante cinética de inactivación bacteriana de electrodos TiO₂/ITO10 de dos recubrimientos en la celda (25 cm²; $P^0 = 2,92 \times 10^{-7}$ Einstein s⁻¹) y en el reactor (141,4 cm²; $P^0 = 1,01 \times 10^{-6}$ Einstein s⁻¹). Concentración inicial de *E.coli*: 10³ UFC mL⁻¹. Potencial eléctrico aplicado: 1 V. Ambos sistemas en configuración de dos electrodos.

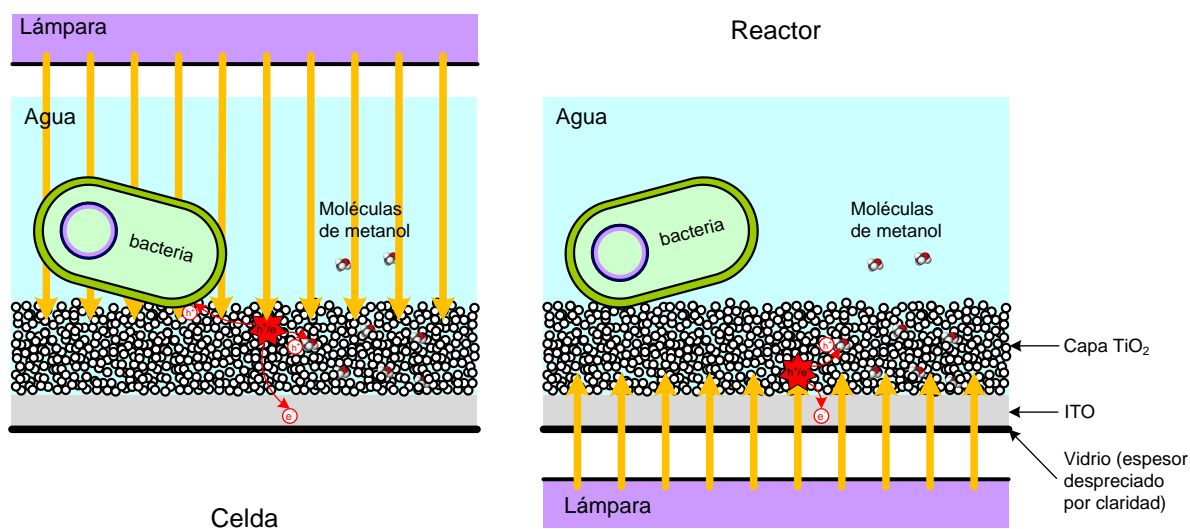


Figura 4.93. Representación esquemática de las diferencias entre los procesos de oxidación de metanol y de inactivación de *E.coli* que tienen lugar en la celda (izquierda) y en el reactor fotoelectrocatalítico (derecha).

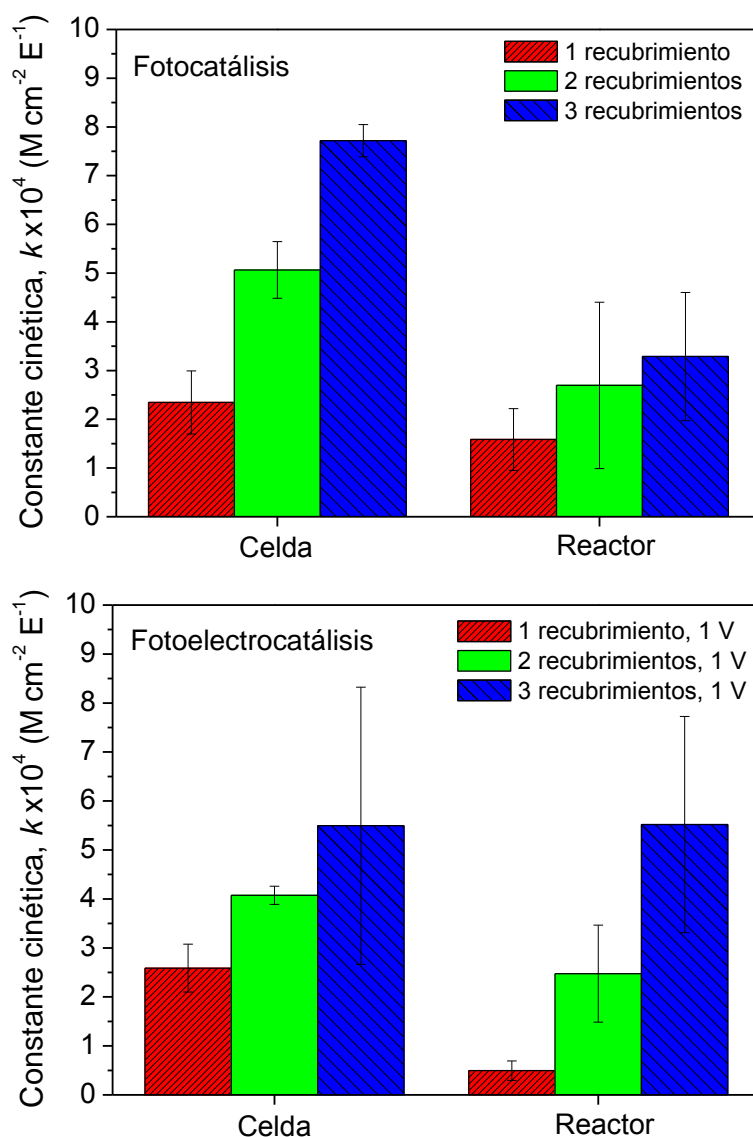


Figura 4.94. Comparación de la constante cinética de formación de formaldehído entre el proceso fotocatalítico (superior) y fotoelectrocatalítico (inferior) usando de electrodos $\text{TiO}_2/\text{ITO}10$ de dos recubrimientos en la celda (25 cm^2 ; $P^0 = 2,92 \times 10^{-7} \text{ Einstein s}^{-1}$) y en el reactor ($141,4 \text{ cm}^2$; $P^0 = 1,01 \times 10^{-6} \text{ Einstein s}^{-1}$). Concentración inicial de metanol: $0,1 \text{ M}$.

Cuando el transporte de electrones está implicado en el proceso general como consecuencia de la aplicación de un potencial eléctrico de 1 V , un aumento en el número de recubrimientos de 2 a 3 no se traduce en un aumento en el valor de k en la celda como ocurre en el proceso fotocatalítico. Por el contrario, en el reactor sí se observa un incremento en el valor de k al aumentar el número de recubrimientos de 2 a 3. Este hecho podría indicar una reducción en las pérdidas de electrones cuando el electrodo es iluminado por su parte trasera, directamente

sobre el soporte de ITO. Sin embargo, de acuerdo a esta hipótesis, los valores de constante cinética fotoelectrocatalítica deberían haber sido más elevados en el caso del reactor en comparación celda. Esto podría sugerir una reducción en las pérdidas de electrones a lo largo de la capa de TiO_2 podrían compensarse con un número de huecos ligeramente menor en la superficie del TiO_2 al iluminar por la parte trasera del electrodo. También, la existencia de ciertas pérdidas óhmicas como resultado de escalar el electrodo.

En resumen, no se han observado diferencias muy significativas al cambiar de escala el fotoelectrodo de $\text{TiO}_2/\text{ITO}10$, a pesar de que otros autores han apuntado la sensibilidad de este proceso dando lugar a diferencias importantes de comportamiento de los electrodos [215]. En cualquier caso la eficacia de los procesos fotoelectrocatalíticos parece ser superior en el reactor que en la celda con los electrodos de pequeños tamaño. Dado que a priori las pérdidas óhmicas en los electrodos de mayor tamaño producirían un comportamiento opuesto, este efecto puede ser debido a las diferencias en la forma de iluminar los electrodos. La iluminación del fotoelectrodo desde la parte trasera, incidiendo la luz UV-A en el soporte conductor en primer lugar tal y como sucede en el reactor parece favorecer el proceso fotoelectrocatalítico con respecto a una iluminación directa sobre la capa de TiO_2 del fotoelectrodo que tiene lugar en la celda. Por el contrario, este tipo de iluminación parece ser más útil en procesos fotocatalíticos dónde no tiene lugar un movimiento de electrones a través de la capa de TiO_2 . Los valores de intensidad de fotocorriente parecen correlacionarse con la actividad del proceso fotocatalítico de degradación de contaminantes al aplicar un potencial eléctrico en términos generales. Sin embargo, esta correlación no ocurre siempre en todos los casos. Destacar que los datos de fotocorriente no correlacionan con los de actividad entre diferentes electrolitos. Por otro lado, la aplicación de un potencial eléctrico parece tener aplicaciones concretas para cierto tipo de contaminantes. En particular, la aplicación de un potencial eléctrico apunta ser de gran utilidad para mejorar la degradación fotocatalítica de contaminantes cargados negativamente, en concreto microorganismos, no sólo en electrolitos de elevada conductividad sino también en sistemas reales de menor conductividad como son las aguas residuales. Sin embargo, el grado de eficacia del proceso depende notablemente del tipo de contaminante a eliminar y de la composición química de la suspensión en la que tiene lugar.

4.5. Aplicaciones.

4.5.1. Inactivación bacteriana y eliminación simultánea de contaminantes emergentes.

Como se ha comentado anteriormente, una de las aplicaciones más prometedora de la tecnología fotocatalítica puede ser su uso como tratamiento terciario para la desinfección de efluentes de salida de una depuradora de tratamiento de aguas residuales con vistas a su reutilización. Los estudios fotocatalíticos de inactivación bacteriana realizados a lo largo del presente trabajo de investigación han mostrado la eficacia de esta tecnología, posibilitando la reducción de altas concentraciones de bacteria hasta el límite de detección. Por otra parte, los sistemas fotocatalíticos desarrollados han mostrado también su actividad en la oxidación de contaminantes orgánicos como el azul de metileno o el metanol, por lo que la posibilidad de eliminar los contaminantes emergentes que puedan estar presentes en el agua durante el propio proceso de desinfección se postula con un valor añadido de esta tecnología frente a otros procesos de desinfección.

Para estudiar la viabilidad de esta posible aplicación fotocatalítica de inactivación bacteriana y eliminación simultánea de contaminantes emergentes se han llevado a cabo experimentos fotocatalíticos con el reactor con TiO_2 en suspensión e inmovilizado en anillos Raschig utilizando una suspensión con una concentración inicial de *E.coli* de 10^3 UFC mL^{-1} y con una mezcla de tres fármacos (4-acetamidoantipirina, 4-AAA; hidroclorotiazida, HCTZ; y sulfametoxazol, SMX) cada uno con valores iniciales de concentración de $20 \mu\text{gL}^{-1}$. La Figura 4.98 muestra los resultados obtenidos con TiO_2 en suspensión en agua desionizada (AD) y en agua residual sintética (ARS). En el caso de AD, se observa la reducción de la concentración de bacteria viable en aproximadamente un orden de magnitud únicamente como consecuencia de la irradiación de luz UV-A en ausencia de TiO_2 . Sin embargo, la viabilidad de la bacteria no se ve afectada en ARS, confirmando de nuevo que el estrés osmótico al que se ven sometidas la bacteria en AD parece debilitarlas. Por el contrario, los contaminantes emergentes estudiados no son tan sensibles al tratamiento como la bacteria, no mostrando apenas adsorción en oscuridad (Figura 4.98, insertada superior) ni fotólisis con radiación UV-A en ausencia de TiO_2 (Figura 4.98, insertada inferior).

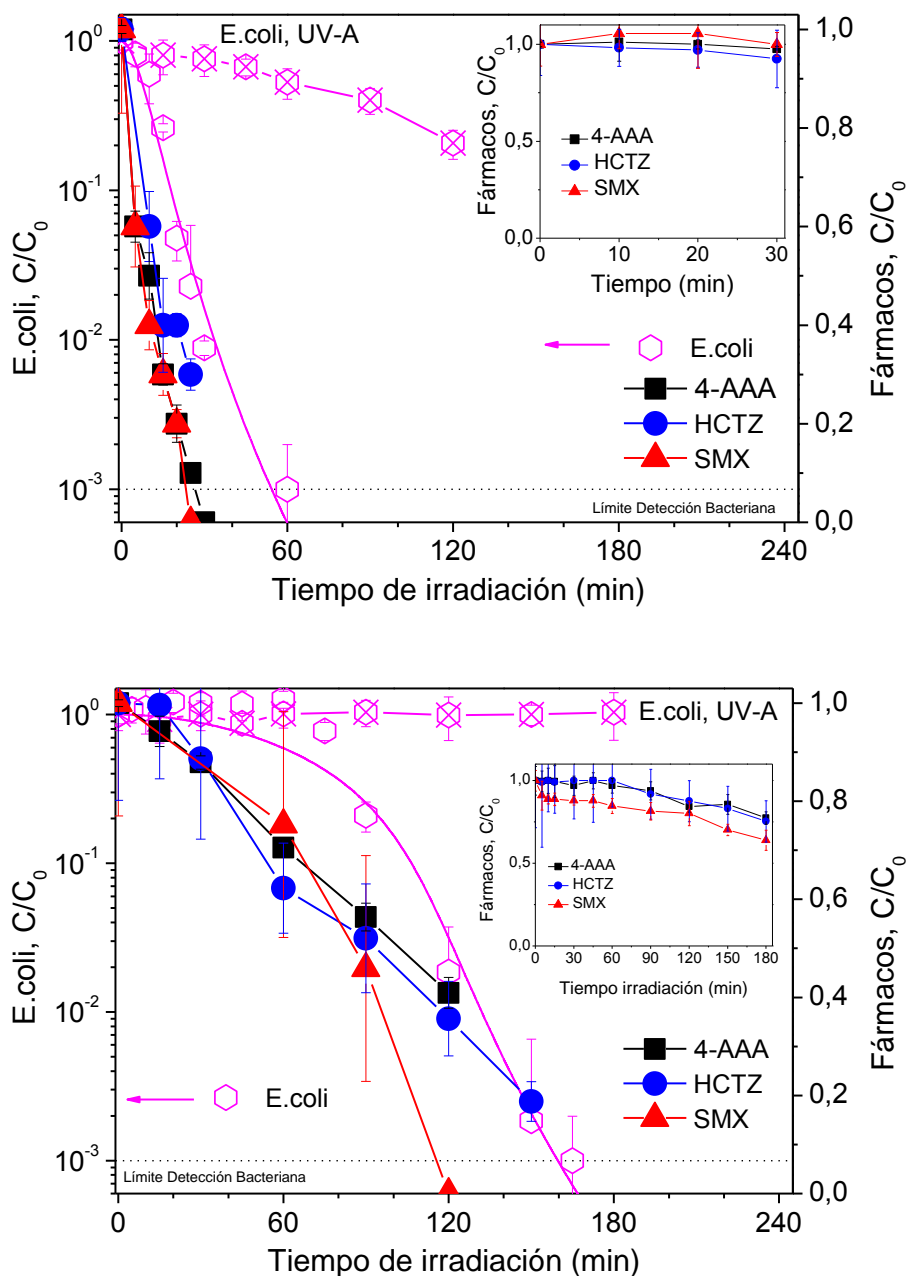


Figura 4.95. Inactivación fotocatalítica de *E.coli* y eliminación simultánea de fármacos en agua desionizada (AD, superior) y agua residual sintética (ARS, inferior) con TiO₂ en suspensión.

Concentración de TiO₂: 0,1 g L⁻¹. Potencia de irradiación: 2,77 x 10⁻⁶ Einstein s⁻¹.

Concentración inicial de bacteria: 10³ UFC mL⁻¹. Concentración inicial de fármacos: 20 µg L⁻¹.

Insertadas: Adsorción de fármacos con TiO₂ en oscuridad (superior) y degradación fotolítica de fármacos sin TiO₂ (inferior). Barras de error calculadas a partir de ocho recuentos

independientes de bacteria y de dos medidas de la concentración de fármacos. Curvas de inactivación calculadas usando el modelo cinético representado por las ecuaciones 4.8 y 4.9.

Destacar que tanto en AD como ARS se alcanza la inactivación completa de *E.coli* así como la degradación de los fármacos estudiados, de forma que al finalizar el tratamiento de inactivación de bacterias, los fármacos originales han sido completamente eliminados. De nuevo, se observa como era de esperar, que la aplicación de esta tecnología en efluentes de depuradora da lugar a un incremento significativo del tiempo de irradiación requerido para alcanzar la inactivación y degradación completa debido principalmente al efecto atrapador de radicales hidroxilo de las especies presentes en el agua y, en el caso de la inactivación bacteriana, a la reducción del estrés osmótico.

Experimentos de las mismas características se han llevado cabo también en un reactor de lecho fijo. Como se mostró en el apartado 4.3.4, este sistema fotocatalítico permite reducir la concentración de bacteria viable hasta alcanzar el límite de detección tras un tiempo de irradiación no mucho mayor en comparación con el sistema con TiO_2 en suspensión, evitando además la necesidad de recuperar el catalizador al final del tratamiento. Los resultados obtenidos en AD y en ARS se muestran en la Figura 4.99. Al igual que con el catalizador en suspensión, no existe adsorción de los fármacos, en este caso en la superficie ofrecida por el catalizador inmovilizado. Tampoco se observa que éstos se degraden fotocatalíticamente de forma significativa. En cuanto a los experimentos fotocatalíticos en AD, la Figura 4.99 muestra que a pesar de requerir un mayor tiempo de irradiación en comparación con el sistema fotocatalítico con catalizador en suspensión (Figura 4.98) esta configuración de reactor con TiO_2 inmovilizado también permite la reducción fotocatalítica completa de la concentración de bacteria viable, y de nuevo los fármacos estudiados son degradados durante el tratamiento. Es importante señalar también que la reacción de inactivación bacteriana en ausencia de fármacos conduce a resultados similares, descartando así que la presencia de fármacos pueda ser perjudicial para la bacteria, sobre todo debido a la presencia de antibióticos como el sulfametoxazol (SMX).

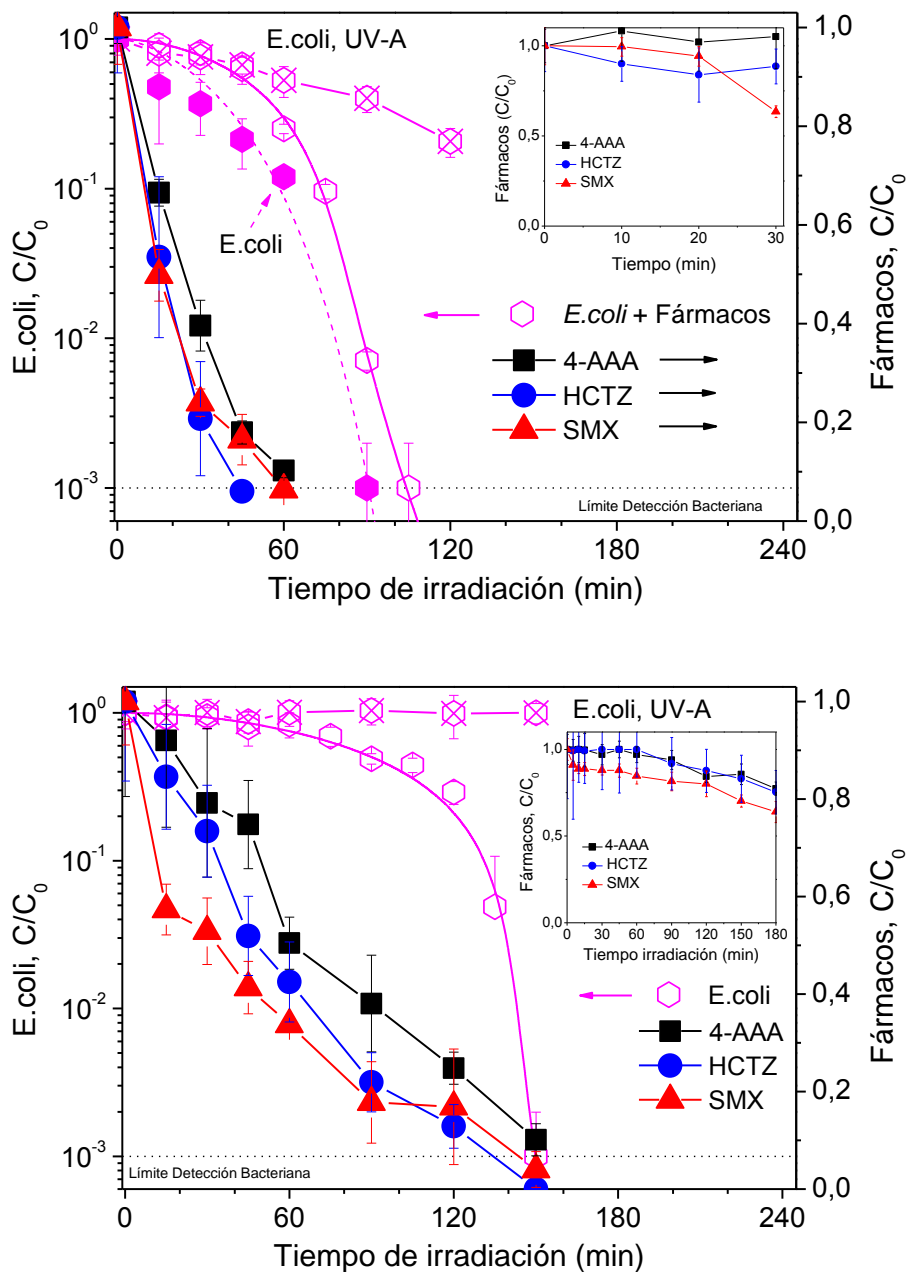


Figura 4.96. Inactivación fotocatalítica de *E. coli* y eliminación simultánea de fármacos en agua desionizada (AD, superior) y agua residual sintética (ARS, inferior) en el reactor de lecho fijo. Número de recubrimientos de TiO₂: 2. Potencia de irradiación: $2,77 \times 10^{-6}$ Einstein s⁻¹. Concentración inicial de bacteria: 10³ UFC mL⁻¹. Concentración inicial de fármacos: 20 µg L⁻¹. Insertadas: Adsorción de fármacos con TiO₂ en oscuridad (superior) y degradación fotocatalítica de fármacos sin TiO₂ (inferior). Barras de error calculadas a partir de ocho recuentos independientes de bacteria y de dos medidas de la concentración de fármacos. Curvas de inactivación calculadas usando el modelo cinético representado por las ecuaciones 4.8 y 4.9.

En cuanto a los resultados en ARS, también se consigue la reducción completa de la concentración de bacterias viables, así como la eliminación de los fármacos durante el proceso de inactivación bacteriana. Sin embargo, a pesar de que también es necesario un mayor tiempo de irradiación en comparación con AD, el aumento no es tan significativo como ocurre en el sistema con TiO_2 en suspensión (Figura 4.98). Por tanto, parece que el sistema de lecho fijo se ve afectado en menor medida por la composición química del agua. Además, las curvas de inactivación observadas en el reactor de lecho fijo tampoco parecen presentar un retardo final o cola como parece apreciarse al utilizar un sistema con catalizador en suspensión. Esto podría explicar el hecho de que en ARS, el tiempo de irradiación requerido para alcanzar tanto la inactivación como la degradación completa de *E.coli* y fármacos respectivamente sea similar tanto en el sistema con TiO_2 en suspensión (Figura 4.98) como con TiO_2 inmovilizado (Figura 4.99).

Los valores de las constantes cinéticas también confirman que ambos sistemas, en suspensión e inmovilizado, presentan una eficacia similar tanto en la degradación de fármacos como en la inactivación de bacterias en ARS. Los valores de constante cinética de pseudo-primer orden de degradación de fármacos en efluente de depuradora corresponden a 0,0074; 0,0108; y 0,0081 min^{-1} para 4-AAA, HCTZ, y SMX respectivamente usando TiO_2 en suspensión. Valores más altos se obtuvieron al usar TiO_2 inmovilizado, correspondientes a 0,0146 (4-AAA); 0,0177 (HCTZ); y 0,0184 min^{-1} (SMX). Ambos sistemas también dieron lugar a valores de constante cinética de inactivación similares, correspondientes a $3,06 \times 10^4$ y $2,78 \times 10^4$ $\text{UFC L}^{-1} \text{min}^{-1}$ con TiO_2 en suspensión e inmovilizado respectivamente. Para explicar esta similitud entre ambos sistemas, además de que el reactor de lecho fijo parece verse afectado en menor medida por la composición química del agua, también habría que considerar las diferencias existentes entre ambos sistemas en cuanto a la interacción bacteria- TiO_2 como se ha mencionado anteriormente en el apartado 4.3.4. Puesto que en un sistema inmovilizado los ataques de los radicales hidroxilo a la pared celular podrían tener lugar en zonas específicas de la bacteria y no por toda ella como sería lo esperable en un sistema en suspensión, estos ataques podrían llegar a ser más efectivos y requerir una menor cantidad de daños acumulados para dar lugar a la lisis celular. Además, también habría que tener en cuenta que la presencia de los anillos en el reactor puede favorecer la turbulencia del sistema así como generar un estrés mecánico adicional para la bacteria que podría favorecer su inactivación en comparación con otros sistemas inmovilizados. En cualquier caso estos

aspectos sólo aplican al proceso de inactivación bacteriana, por lo que los buenos resultados obtenidos en la oxidación de los fármacos indican que el sistema de lecho fijo presenta una actividad fotocatalítica intrínsecamente elevada.

A modo de conclusión, se puede decir que el uso de un reactor fotocatalítico de lecho fijo con TiO_2 inmovilizado en anillos Raschig parece asegurar la degradación de contaminantes durante el proceso de desinfección de efluentes de depuradora en tiempos similares a los obtenidos con un sistema en suspensión. Además, puesto que este tipo de sistema inmovilizado ha mostrado no perder actividad tras varios ciclos sucesivos de reutilización (apartado 4.3.3) y eliminaría la necesidad de recuperar el catalizador al acabar el tratamiento podría ser viable para desarrollar esta tecnología en aplicaciones en continuo a mayor escala.

4.5.2. Cambio de escala del proceso con TiO_2 en suspensión.

Para poder evaluar la posibilidad de llevar a cabo el proceso con una mayor capacidad de tratamiento se utilizó un reactor a escala poyata utilizando el catalizador en suspensión. Aunque no puede considerarse como una planta piloto, la comparación de los resultados obtenidos en este reactor de poyata respecto del sistema de laboratorio permitirá obtener algunas conclusiones respecto del cambio de escala del proceso. El cambio de escala respecto del reactor de laboratorio utilizado en los experimentos mostrados hasta este punto es de aproximadamente 6, con un volumen irradiado de 1250 cm^3 (frente a los 188.5 cm^3 del reactor de laboratorio) y con una potencia de radiación incidente de $1,80 \times 10^{-5} \text{ Einstein s}^{-1}$ (frente a los $2,77 \times 10^{-6}$ del reactor de laboratorio). Además, en este caso el sistema de reacción ya no puede considerarse de conversión diferencial, por lo que el sistema de recirculación en su conjunto no se comporta como mezcla perfecta, debiendo tenerse en cuenta el modelo de flujo en el análisis de los resultados obtenidos.

Optimización de la concentración de catalizador.

La Figura 4.97 muestra la influencia de la concentración de TiO_2 en la inactivación fotocatalítica de *E.coli* en agua desionizada (AD). Se observa un aumento significativo de la velocidad de inactivación al aumentar la concentración de catalizador hasta valores próximos a $0,1-0,2 \text{ g L}^{-1}$, existiendo un marcado descenso de la actividad para valores superiores. Como era de esperar, una mayor concentración de TiO_2 implica una mayor absorción de fotones y en

consecuencia una mayor tasa de formación de $\cdot\text{OH}$. Es destacable el importante retardo final o cola que se observa en las curvas de inactivación, mucho más evidentes que el observado en las curvas de inactivación utilizando el reactor fotocatalítico de laboratorio (Figura 4.6).

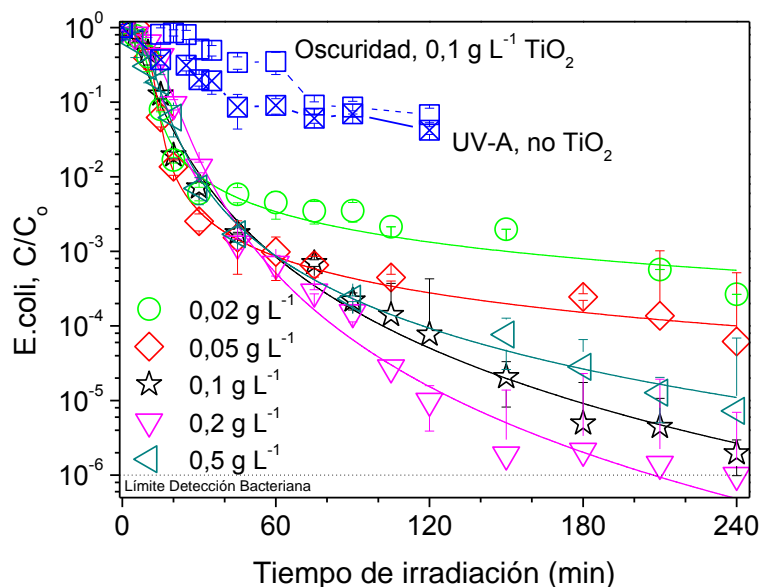


Figura 4.97. Influencia de la concentración de TiO_2 en la inactivación fotocatalítica de *E.coli* en agua desionizada (AD) en el reactor de poyata. Potencia de irradiación: $1,80 \times 10^{-5}$ Einstein s^{-1} . Volumen total: 4 L. Barras de error calculadas a partir de ocho recuentos independientes. Curvas calculadas usando el modelo cinético representado por las ecuaciones 4.8 y 4.9.

Para establecer una comparación de la influencia de la concentración de catalizador en la eficacia de inactivación fotocatalítica de *E.coli* entre los dos sistemas fotocatalíticos en suspensión en términos de constante cinética, éstos valores se han dividido por la potencia de irradiación incidente y se han corregido con la relación entre volumen total y volumen irradiado de cada reactor, permitiendo la comparación de la actividad de sistemas de diferentes tamaños. La Figura 4.98 muestra los resultados de dicha comparación en AD.

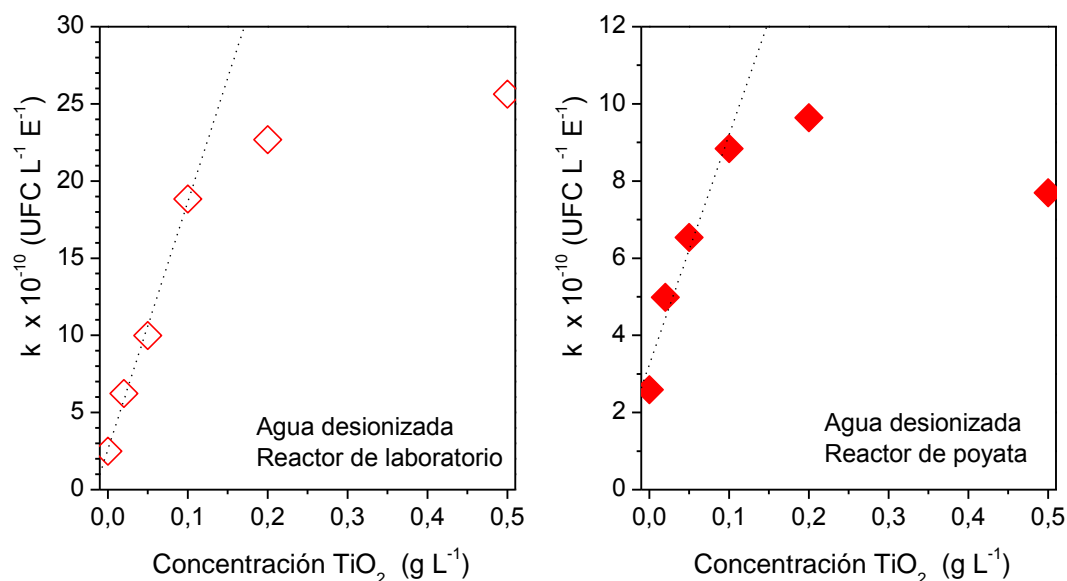


Figura 4.98. Comparación de la dependencia de las constantes cinéticas de inactivación de *E.coli* con la concentración de TiO₂ en agua desionizada (AD) entre los dos sistemas fotocatalíticos con TiO₂ en suspensión utilizados: reactor de laboratorio (izquierda; $V_{\text{tot}} = 1$ L; $V_{\text{irr}} = 188,5$ cm³; $P^0 = 2,77 \times 10^{-6}$ Einstein s⁻¹) y reactor de poyata (derecha; $V_{\text{tot}} = 4$ L; $V_{\text{irr}} = 1250$ cm³; $P^0 = 1,80 \times 10^{-5}$ Einstein s⁻¹).

En ambos sistemas se observa un aumento lineal de la actividad con la concentración de catalizador hasta valores próximos a 0,1 g L⁻¹. Por encima de dicho valores, el aumento de actividad con el catalizador no es tan significativo, de forma que finalmente parece alcanzarse un valor máximo correspondiente a la absorción óptima de fotones por el sistema, pudiendo incluso disminuir la actividad para concentraciones de catalizador superiores. Como se puede apreciar, los valores de las constantes cinéticas son comparativamente inferiores en el reactor de poyata, lo que implica un peor aprovechamiento de la radiación incidente.

La Figura 4.99 muestra la influencia de la concentración de catalizador en la inactivación fotocatalítica de *E.coli* en agua residual sintética (ARS). Un aumento de la concentración de catalizador da lugar nuevamente al previsible aumento en la velocidad de inactivación bacteriana. Se observa una tendencia similar a la obtenida en AD, con una concentración de catalizador óptima en el intervalo 0,1-0,2 g L⁻¹ de TiO₂, sin que en este caso se observe un descenso claro para concentraciones superiores. Estos resultados confirman el hecho de que la concentración óptima de catalizador depende fundamentalmente de la potencia de irradiación y de la geometría del reactor, no de la composición química de la suspensión. Destacar de

nuevo una mayor deceleración final del proceso en el sistema a mayor escala en comparación con el sistema fotocatalítico de laboratorio (Figura 4.7). Aunque la forma de las curvas es claramente diferente de las obtenidas en AD, es remarcable que en este caso no se produce un incremento significativo del tiempo de irradiación necesario para alcanzar la inactivación completa de *E.coli* en ARS en comparación con AD, por lo que los resultados parecen estar menos influenciados por la composición del agua que en el reactor de laboratorio. El motivo es que la deceleración del proceso que tiene lugar como consecuencia de la liberación al medio de los componentes intracelulares como consecuencia de la lisis celular parece condicionar en gran medida el proceso tanto en AD como en ARS.

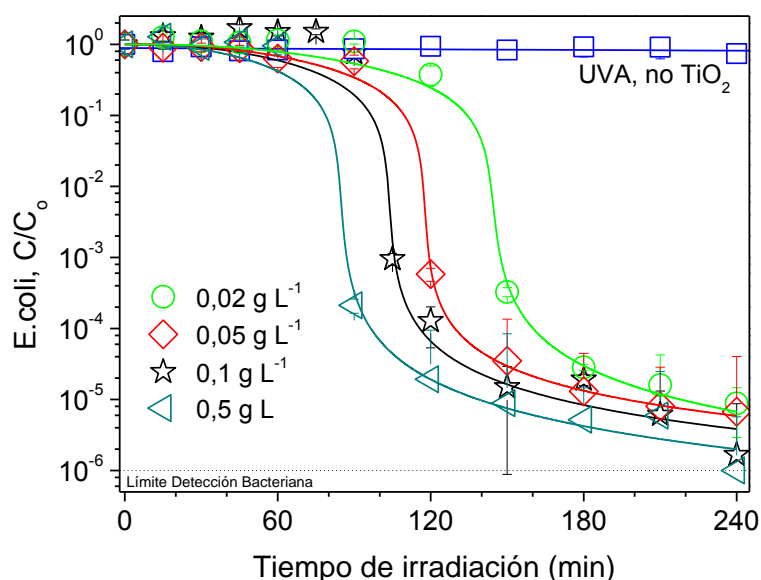


Figura 4.99. Influencia de la concentración de TiO_2 en la inactivación fotocatalítica de *E.coli* en agua residual sintética (ARS) en el reactor de poyata. Potencia de irradiación: $1,80 \times 10^{-5}$ Einstein s^{-1} . Volumen total: 4 L. Barras de error calculadas a partir de ocho recuentos independientes. Curvas calculadas usando el modelo cinético representado por las ecuaciones 4.8 y 4.9.

La Figura 4.100 muestra la influencia de la concentración de catalizador en la actividad del proceso fotocatalítico en términos de constante cinética equivalente entre ambos sistemas fotocatalíticos en suspensión. En este caso, al igual que en agua desionizada (Figura 4.98) se observa un aumento lineal de la actividad al aumentar la concentración de catalizador hasta valores próximos a $0,1 \text{ g L}^{-1}$. A partir de este valor, los incrementos en actividad no son tan notables. De nuevo, se observa que los valores de constante cinética son ligeramente mayores

en el reactor de laboratorio en comparación con el reactor de poyata, aunque en este caso las diferencias son menos significativas. El motivo es que si se comparan los valores de constante cinética obtenidos en ARS (Figura 4.100) con los obtenidos en AD (Figura 4.98), en el reactor de laboratorio se observa un descenso significativo de la actividad, mientras que en el reactor de poyata la reducción de actividad es comparativamente muy inferior.

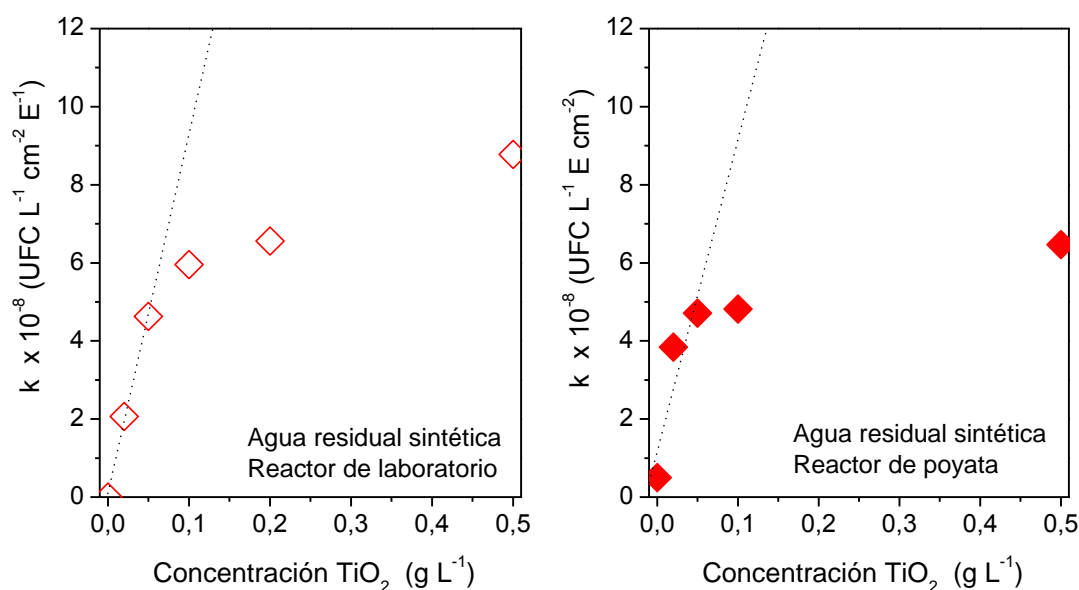


Figura 4.100. Comparación de la dependencia de las constantes cinéticas de inactivación de *E.coli* con la concentración de TiO_2 en agua residual sintética (ARS) entre los dos sistemas fotocatalíticos con TiO_2 en suspensión utilizados: reactor de laboratorio (izquierda; $V_{\text{tot}} = 1 \text{ L}$; $V_{\text{irr}} = 188,5 \text{ cm}^3$; $P^0 = 2,77 \times 10^{-6} \text{ Einstein s}^{-1}$) y reactor de poyata (derecha; $V_{\text{tot}} = 4 \text{ L}$; $V_{\text{irr}} = 1250 \text{ cm}^3$; $P^0 = 1,80 \times 10^{-5} \text{ Einstein s}^{-1}$).

Como conclusión, puede decirse que la concentración óptima de catalizador en ambos reactores es similar, en torno a $0,1 \text{ g L}^{-1}$ dado que este valor depende fundamentalmente del flujo de radiación incidente (potencia de irradiación dividada por la superficie irradiada) y de la geometría del sistema, siendo ambos factores similares en los dos sistemas de reacción. En cuanto a la influencia de la composición química del agua, el reactor de poyata parece ser menos sensible a este factor, mostrando resultados más parecidos en AD y ARS que en el caso del reactor de laboratorio. Sin embargo, es importante destacar que los valores de las constantes cinéticas obtenidas en el reactor de poyata son en cualquier caso inferiores a los obtenidos en el reactor de laboratorio, lo que indica un peor aprovechamiento de la radiación.

Influencia de la concentración inicial de bacteria.

La Figura 4.101 muestra la influencia de la concentración inicial de bacteria en la inactivación fotocatalítica en AD. Como era de esperar, se observa un incremento del tiempo de irradiación requerido hasta alcanzar el límite de detección con el aumento en la concentración de bacteria, debido al aumento de la competencia de una mayor cantidad de bacterias por el mismo número de $\cdot\text{OH}$.

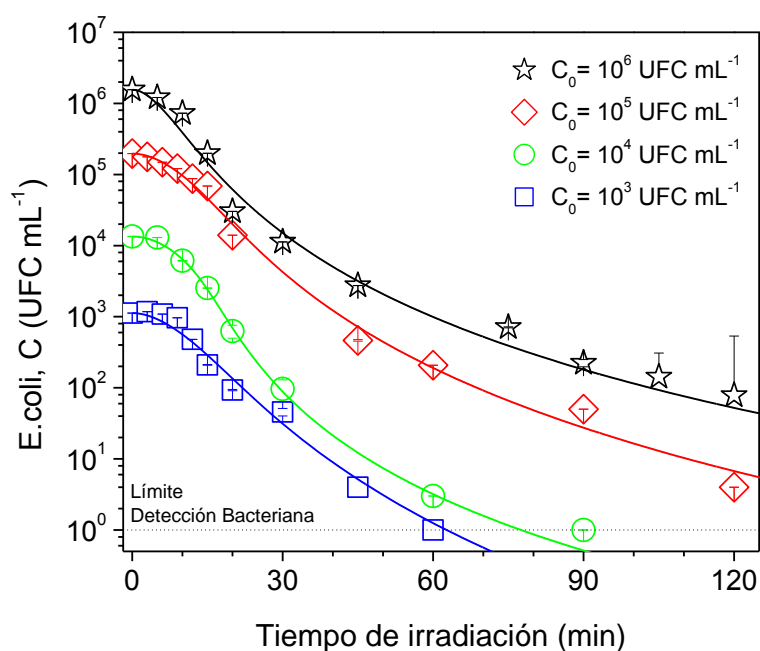


Figura 4.101. Influencia de la concentración inicial de bacteria en la inactivación fotocatalítica de *E. coli* en agua desionizada (AD) en el reactor de poyata. Concentración TiO_2 : $0,1 \text{ g L}^{-1}$. Potencia de irradiación: $1,80 \times 10^{-5} \text{ E s}^{-1}$. Volumen total: 4 L. Barras de error calculadas a partir de ocho recuentos. Curvas calculadas usando el modelo cinético representado por las ecuaciones 4.8 y 4.9.

La Figura 4.102 muestra la comparación de los perfiles de inactivación relativa obtenidos para diferentes concentraciones iniciales de *E. coli* en AD en ambos sistemas fotocatalíticos con TiO_2 en suspensión. En ambos casos, todos los experimentos solapan, indicando que se requieren tiempos de irradiación similares para conseguir una reducción equivalente en la concentración de bacteria viable de tres órdenes de magnitud para concentraciones iniciales de bacteria en el intervalo de 10^4 a 10^6 UFC mL $^{-1}$ en comparación con la de 10^3 UFC mL $^{-1}$. Por otro lado, es destacable la necesidad de aplicar tiempos de irradiación superiores en el

caso del reactor de poyata que en el caso del reactor de laboratorio, siendo la diferencia tanto más significativa cuanto mayor es la concentración inicial de bacterias.

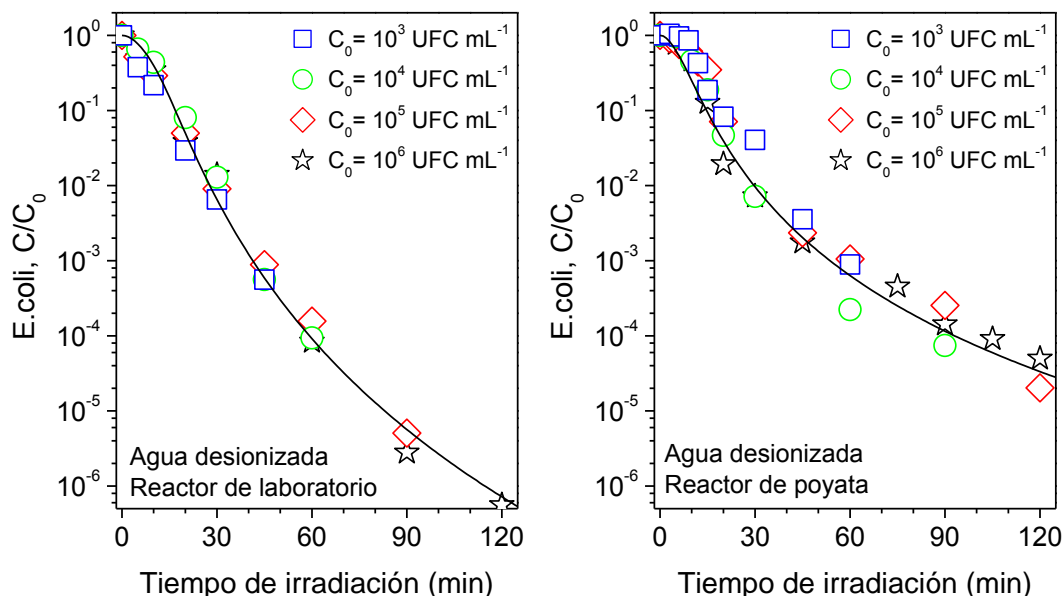


Figura 4.102. Comparación de la influencia de la concentración inicial de bacteria en la inactivación fotocatalítica de *E.coli* relativa en agua desionizada (AD) entre los dos sistemas fotocatalíticos con TiO_2 en suspensión utilizados: reactor de laboratorio (izquierda) y reactor de poyata (derecha). Curvas calculadas con el modelo cinético de las ecuaciones 4.8 y 4.9.

La Figura 4.106 muestra la influencia de la concentración inicial de bacteria en la inactivación fotocatalítica en ARS, observándose una tendencia similar a la obtenida en AD en los tiempos de irradiación requeridos para alcanzar el límite de detección.

Por otra parte, en la Figura 4.107 se muestra la comparación de la influencia de la concentración inicial de *E. coli* en la eficacia relativa de inactivación bacteriana en ARS entre ambos sistemas fotocatalíticos con TiO_2 en suspensión. En ambos casos, como se ha observado en AD, todos los experimentos solapan, indicando que el tiempo necesario para conseguir un determinado nivel de reducción de la concentración de bacterias viables no depende de la concentración inicial de las mismas.

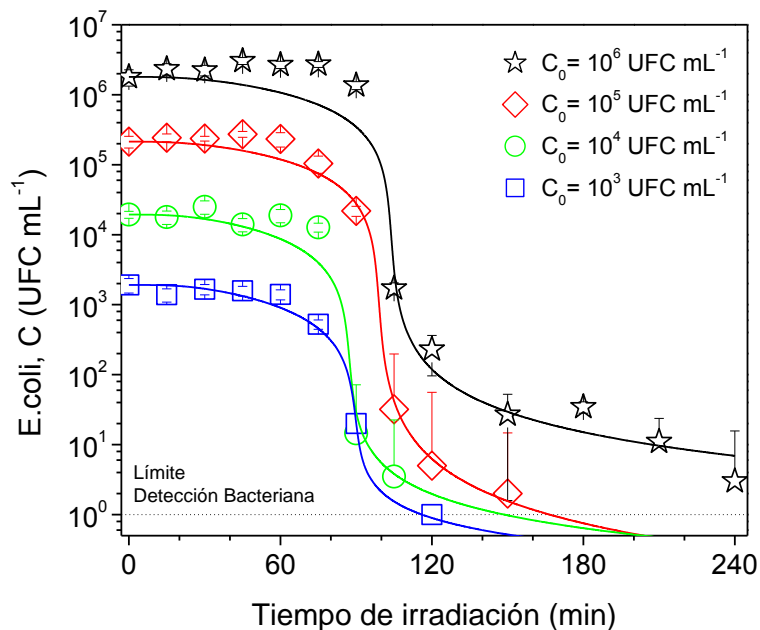


Figura 4.103. Influencia de la concentración inicial de bacteria en la inactivación fotocatalítica de *E.coli* en agua residual sintética (ARS). Concentración TiO_2 : $0,1 \text{ g L}^{-1}$. Potencia de irradiación: $1,80 \times 10^{-5} \text{ E s}^{-1}$. Volumen total: 4 L. Barras de error calculadas a partir de ocho recuentos independientes. Curvas calculadas usando el modelo cinético representado por las ecuaciones 4.8 y 4.9.

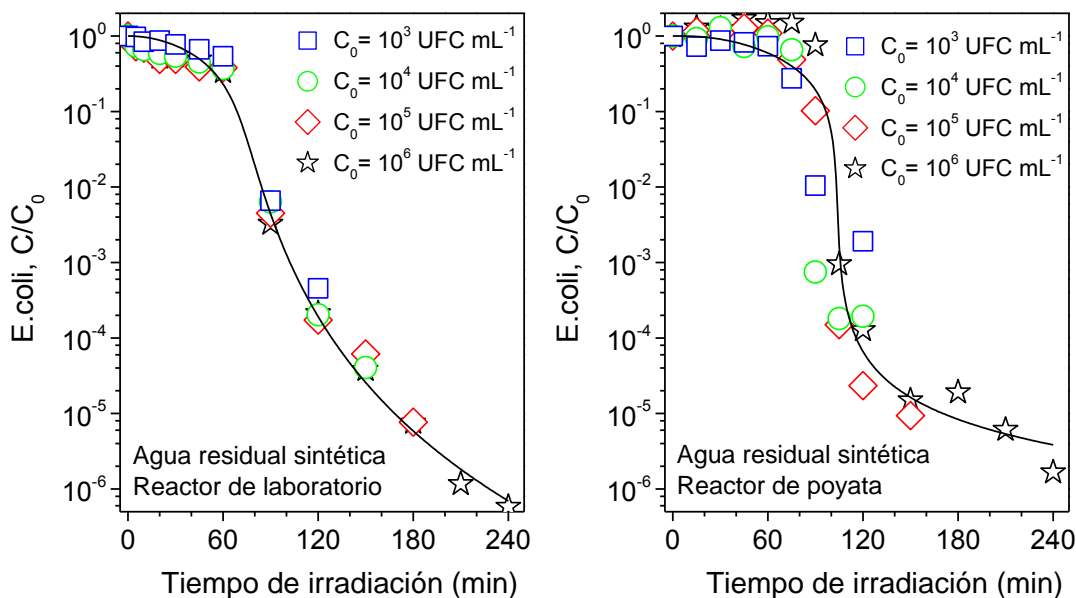


Figura 4.104. Comparación de la influencia de la concentración inicial de bacteria en la inactivación fotocatalítica de *E.coli* relativa en agua residual sintética (ARS) entre los dos sistemas fotocatalíticos con TiO_2 en suspensión: reactor de laboratorio (izquierda) y reactor de poyata (derecha). Curvas calculadas con el modelo cinético de las ecuaciones 4.8 y 4.9.

Destacar que la inactivación completa de valores bajos de concentración inicial de bacteria en ARS en el reactor de poyata sí requiere de un aumento del tiempo de irradiación en comparación con AD (Figura 4.102). Sin embargo, para concentraciones iniciales de bacteria de 10^6 UFC mL⁻¹ (Figuras 4.100 y 4.102) no se observa una influencia significativa de la composición química del agua en el tiempo de irradiación necesario. También se observa que ambos sistemas fotocatalíticos requieren de tiempos de irradiación similares hasta alcanzar la inactivación completa en ARS, incluso para los valores de concentración de bacteria más elevados, a diferencia de lo observado en AD, en que la inactivación completa de concentraciones de bacteria de 10^6 UFC mL⁻¹ requería de un mayor tiempo de irradiación en el reactor de poyata (Figura 4.102). Estas observaciones apuntarían de nuevo, a que la desaceleración final del proceso fotocatalítico producida por la liberación al medio de los componentes intracelulares condiciona en gran medida la eficacia del proceso en el reactor de poyata, mientras que en este caso no parece afectar tanto la composición química del agua.

Eliminación simultánea de contaminantes emergentes.

Finalmente, una vez realizada la evaluación del sistema fotocatalítico con TiO₂ en suspensión a mayor escala, se llevaron a cabo experimentos de eliminación simultánea de contaminantes emergentes durante el proceso de desinfección. La Figura 4.108 muestra los resultados obtenidos en agua desionizada (AD) y agua residual sintética (ARS). En cuanto a los experimentos no fotocatalíticos de referencia, la viabilidad de la bacteria sólo parece verse afectada por la radiación UV-A en ausencia de catalizador. De nuevo, en AD, bajo condiciones de estrés osmótico, la concentración de bacteria viable se reduce drásticamente tras dos horas de irradiación, mientras que en ARS la viabilidad de la bacteria no se ve tan afectada. En cuanto a los fármacos, su concentración no se ve afectada significativamente en oscuridad como consecuencia de la adsorción de los mismos en el catalizador (Figura 4.108 insertada superior). Tampoco se observa una degradación fotolítica de los fármacos notable salvo en el caso del diclofenaco, que parece más sensible a la exposición a la luz UV-A (Figura 4.108, insertada inferior).

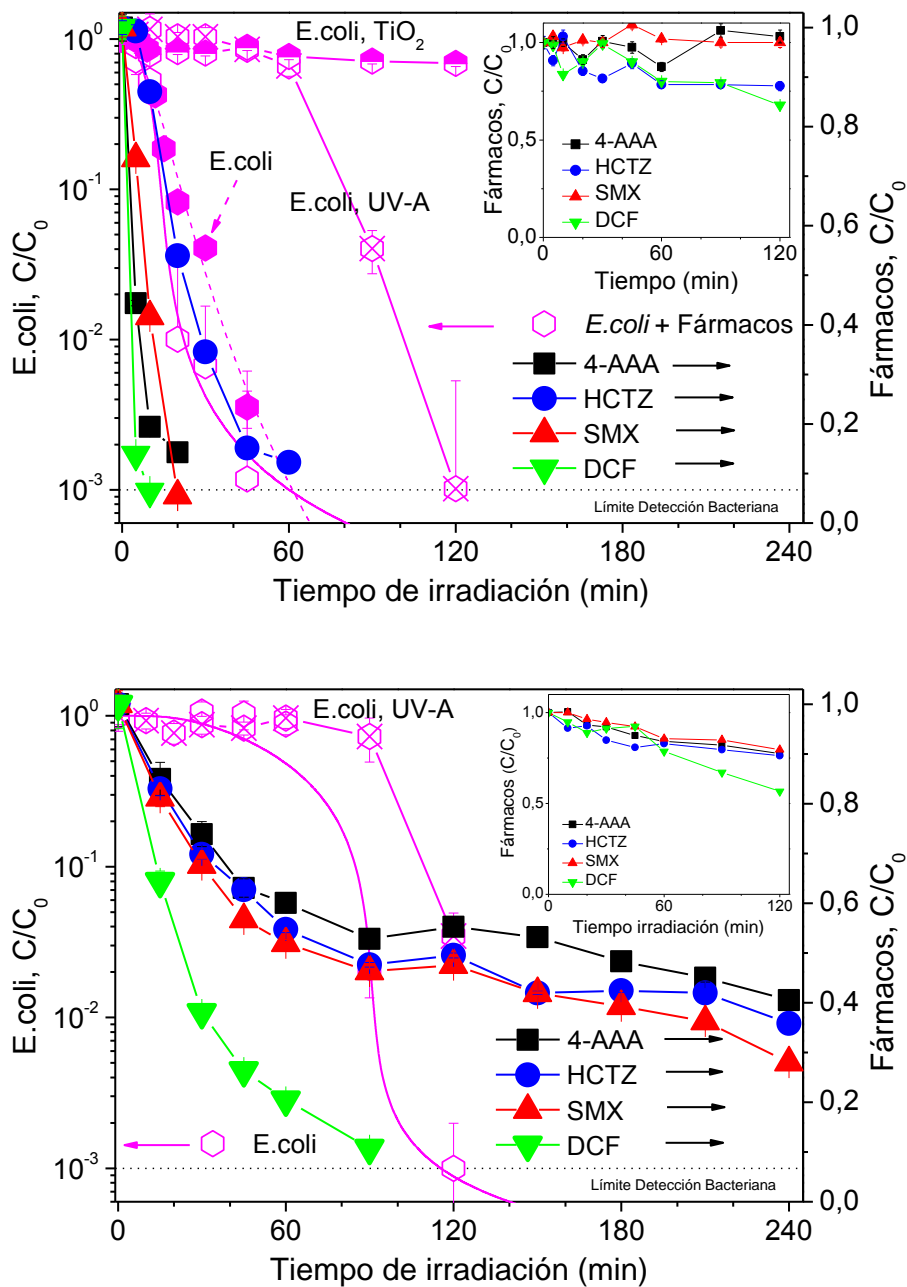


Figura 4.105. Inactivación fotocatalítica de *E.coli* y eliminación simultánea de fármacos en agua desionizada (AD, superior) y agua residual sintética (ARS, inferior) en el reactor de poyata con TiO₂ en suspensión. Concentración de TiO₂: 0,1 g L⁻¹. Potencia de irradiación: 1,80 x 10⁻⁵ E s⁻¹. Volumen total: 4 L. Concentración inicial de bacteria: 10³ UFC mL⁻¹. Concentración inicial de fármacos: 20 µg L⁻¹. Insertadas: Adsorción de fármacos con TiO₂ en oscuridad (superior) y degradación fotolítica de fármacos sin TiO₂ (inferior). Barras de error calculadas a partir de ocho recuentos independientes de bacteria y de dos medidas de la concentración de fármacos. Curvas de inactivación calculadas usando el modelo cinético representado por las ecuaciones 4.8 y 4.9.

La Figura 4.108 muestra como en AD es posible alcanzar la inactivación bacteriana tras aproximadamente una hora de irradiación tanto en ausencia como en presencia de los fármacos, descartándose nuevamente los posible efectos de la presencia de los mismos en la viabilidad bacteriana. En cuanto a los fármacos, éstos se eliminan totalmente durante el proceso de inactivación.

En cuanto a los resultados en ARS, aunque es necesario un mayor tiempo de irradiación en comparación con AD, se alcanza la inactivación completa tras aproximadamente dos horas de irradiación. Respecto a los fármacos, el diclofenaco por su naturaleza más sensible a la exposición a la radiación UV-A es el único cuya concentración se reduce completamente durante el proceso fotocatalítico de inactivación. Sin embargo, la concentración del resto de fármacos, aunque no totalmente, se reduce significativamente, alcanzando una conversión de aproximadamente el 50-60 % durante el tratamiento. Estos resultados contrastan con los obtenidos hasta el momento, en los que la eliminación de los fármacos se alcanzaba en todos los casos durante el proceso de desinfección.

Teniendo en cuenta las características de ambos reactores en cuanto a que ambos operan: i) con un flujo de radiación incidente comparable; ii) misma geometría a diferente escala; iii) igual concentración de catalizador; y iv) igual concentraciones iniciales de bacteria y fármacos, el único factor que podría justificar las diferencias observadas entre ambos reactores son las diferencias existentes en cuanto al régimen de flujo. El reactor de laboratorio opera con un caudal de recirculación de $2,5 \text{ L min}^{-1}$, dando lugar a un tiempo de residencia de la suspensión en el reactor fotocatalítico irradiado de 4,5 s y número de Reynolds de 663, lo que implica que el sistema se encuentra teóricamente en régimen de flujo laminar. Sin embargo, el reducido tiempo de residencia y las condiciones de mezcla debido a la corta longitud del reactor y a la turbulencia generada a la entrada del reactor (la suspensión impacta directamente contra la pared del reactor cuando entra al mismo), puede suponerse que el sistema de recirculación en su conjunto se comporta como un reactor de mezcla perfecta. En cambio, pese a que en el reactor de poyata el caudal utilizado y el número de Reynolds fueron algo superiores ($3,9 \text{ L min}^{-1}$, correspondiente a un valor del número de Reynolds de 1035), no existen condiciones de mezcla, por lo que se puede considerar que el sistema opera en

régimen de flujo laminar. En estas condiciones, y teniendo en cuenta que los coeficientes de difusión de las bacterias presentan valores típicos un orden de magnitud inferiores que los de compuestos químicos (p.ej. $D_{Ecoli-Agua}^0 = 9,2 \times 10^{-7} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ [240] frente a $D_{CH_3OH-Agua}^0 = 1,28 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ [241]) es razonable suponer que puedan aparecer fenómenos de control difusivo, especialmente para concentraciones elevadas de catalizador, tal y como se representa en la Figura 4.109.

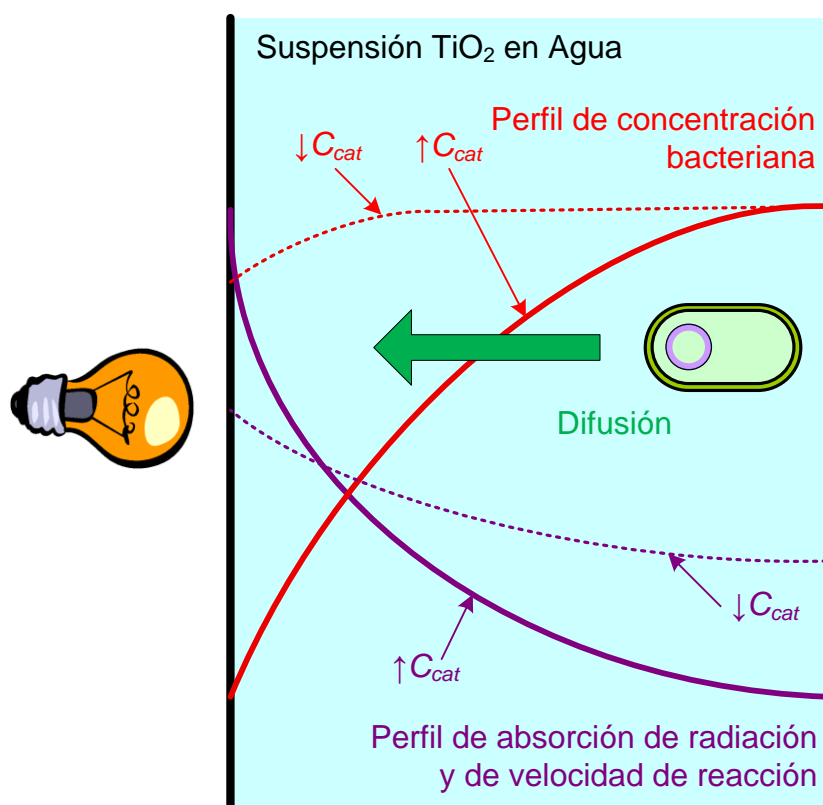


Figura 4.106. Representación esquemática de los perfiles de absorción de radiación y de concentración bacteria cerca de la pared irradiada del reactor.

La importancia relativa de la difusión en la cinética global del proceso dependerá de la concentración de catalizador. Para bajos valores de concentración, el perfil de absorción de radiación (y por consiguiente de velocidad de reacción) no será muy pronunciado, por lo que el perfil de concentración de bacterias tampoco lo será. En cambio, para valores elevados de la concentración de catalizador, la velocidad de reacción cerca de la pared irradiada será tan elevada que empezarán a producirse limitaciones difusionales, puesto que los reducidos

coeficientes de difusión de las bacterias impondrán unos perfiles de concentración muy pronunciados. Esta hipótesis se confirma con los resultados mostrados en la Figura 4.101 donde se observa claramente la existencia de un máximo en la dependencia de la actividad con la concentración de catalizador en el caso del reactor de poyata, mientras que no se observa dicho máximo en el reactor de laboratorio ya que este opera en condiciones de mezcla perfecta. Este efecto podría producirse también en el caso de los contaminantes químicos, pero dado que su difusividad es mayor tendrá lugar para concentraciones de catalizador muy superiores.

CAPÍTULO 5: CONCLUSIONES

5. CONCLUSIONES.

Las principales conclusiones de este trabajo de investigación se detallan a continuación:

1. El mecanismo fotocatalítico de inactivación bacteriana se basa en el ataque sucesivo de radicales $\cdot\text{OH}$ y otras especies oxidantes, generadas al activar el TiO_2 con radiación UV-A, en la pared celular hasta dar lugar a la lisis celular o daños irreversibles. Este aspecto es también confirmado por el más que satisfactorio ajuste de los resultados experimentales obtenidos a lo largo del trabajo realizado utilizando un modelo cinético basado en un mecanismo de reacción en serie.
2. El estudio de las principales variables del proceso muestra que parámetros operacionales como la concentración de catalizador e intensidad de radiación sólo influyen en la absorción de fotones, no dependiendo de la aplicación fotocatalítica específica. Por tanto, la optimización y diseño del reactor podría realizarse con compuestos químicos y extrapolarse a aplicaciones de inactivación bacteriana. Por el contrario, el proceso fotocatalítico de inactivación bacteriana ha mostrado ser más sensible que los procesos de oxidación de compuestos orgánicos a la composición química del agua, al verse afectados los primeros por estrés osmótico en ausencia de sales, especies con poder desinfectante como cloruros, u otras que influyen en la interacción bacteria- TiO_2 o que pueden ser usadas como nutrientes, dificultando el proceso de inactivación. Puesto que la composición química del agua afecta notablemente al tiempo de irradiación necesario para alcanzar una inactivación completa, los resultados obtenidos usando compuestos orgánicos no pueden ser extrapolados a procesos de inactivación.
3. La configuración del TiO_2 en el reactor fotocatalítico afecta considerablemente a la interacción bacteria- TiO_2 ya que la inmovilización del TiO_2 tanto en un reactor de pared como de lecho fijo da lugar a perfiles de inactivación diferentes al observado con TiO_2 en suspensión. Esto se debe a un contacto bacteria-catalizador más eficaz en sistemas inmovilizados donde los ataques de los radicales $\cdot\text{OH}$ y por tanto los daños bacterianos se focalizan en una zona concreta de la pared celular donde tiene lugar la interacción con el TiO_2 .

4. El reactor de lecho fijo permite llevar a cabo procesos de inactivación bacteria en tiempos menores en comparación con el reactor de pared debido a una mayor superficie activa, turbulencia y adhesión bacteria-catalizador. Además, el reactor de lecho fijo permite alcanzar una inactivación completa en tiempos comparables a los requeridos con TiO_2 en suspensión en aguas residuales sintéticas (ARS). Además, la velocidad de inactivación del proceso parece verse menos afectada negativamente en ARS en un reactor de lecho fijo que con TiO_2 en suspensión. La adhesión observada en este reactor en ARS en comparación con agua desionizada podría contrarrestar el efecto negativo de las especies iónicas y materia orgánica presente en el agua. El estrés mecánico que podría tener lugar en el reactor debido a los choques de las bacterias contra los anillos Raschig podría dar lugar a formas de resistencia en su pared celular que también pueden favorecer la adhesión bacteriana. Por tanto, la adhesión de la bacteria al catalizador influye considerablemente en el proceso.
5. En el caso de los procesos fotoelectrocatalíticos, tanto la composición y tamaño de las formas cristalinas del TiO_2 como la estructura de la capa de TiO_2 presente en los fotoelectrodos influye tanto en la separación de los portadores de carga a través de la película de TiO_2 al aplicar un potencial eléctrico como en la transferencia de los mismos en superficie, interviniendo ambos procesos en los procesos fotoelectrocatalíticos. La interacción TiO_2 -soporte conductor así como la conductividad del soporte también es importante al influir la eficacia del transporte de electrones desde la capa de TiO_2 hasta el soporte. Destacar que no siempre el grosor de la película de TiO_2 óptimo observado en procesos fotocatalíticos que permite la máxima absorción de radiación UV-A, corresponde al óptimo en procesos fotoelectrocatalíticos. Un grosor elevado en este proceso puede aumentar la resistencia en el transporte de electrones a través de la capa de TiO_2 . Además, otros factores como la forma de iluminación del fotoelectrodo también puede afectar a la actividad del proceso. Por tanto, la complejidad del proceso no siempre garantiza la posibilidad de utilizar los datos de fotocorriente como indicador de actividad absoluta del proceso.
6. La eficacia fotocatalítica de inactivación bacteriana se ve incrementada al aplicar un potencial eléctrico, ya que la bacteria negativamente cargada es atraída hacia la superficie del TiO_2 , más positivamente cargado debido a la aplicación de dicho potencial eléctrico. Los procesos fotoelectrocatalíticos de inactivación bacteriana también podrían llevarse a

cabo en suspensiones con bajos niveles de conductividad como efluentes de plantas de tratamiento de aguas residuales.

7. El proceso fotocatalítico de inactivación de bacterias y eliminación simultánea de contaminantes emergentes se ha mostrado viable tanto a escala de laboratorio como en los ensayos realizados en un reactor de poyata a mayor escala. Sin embargo, para poder realizar el diseño y cambio de escala del proceso es necesario el desarrollo de modelos que tengan en cuenta de forma explícita todos los aspectos implicados en el proceso, desde la velocidad de absorción de fotones en cada punto del reactor hasta los fenómenos de transferencia de materia que con toda probabilidad pueden tener un efecto significativo en los reactores a gran escala. Para ello, será necesario llevar a cabo la modelización en detalle de la fluidodinámica del proceso, especialmente en el caso de sistemas con catalizador inmovilizado donde el régimen de flujo distará mucho de ser ideal. Aunque estos aspectos se encuentran ya fuera del alcance de la presente investigación, su desarrollo futuro supondrá un apoyo fundamental para el desarrollo de herramientas de ingeniería que posibiliten la implantación comercial de estos procesos.

Como principal conclusión, se puede destacar que los sistemas fotocatalíticos desarrollados mediante inmovilización de TiO_2 en un reactor de lecho fijo permitieron alcanzar una desinfección completa en tiempos comparables a los del TiO_2 en suspensión, sin mostrar una pérdida significativa de actividad tras varios ciclos de reutilización en aguas residuales sintéticas, eliminando la necesidad de recuperar el catalizador al final del tratamiento y permitiendo la eliminación de una diferentes tipos de fármacos durante el proceso. Por tanto, este sistema fotocatalítico podría ser efectivo como tratamiento terciario para desinfección y eliminación de microcontaminantes emergentes de forma simultánea en efluentes de salida del tratamiento secundario de depuradoras, permitiendo su reutilización.

BIBLIOGRAFÍA

BIBLIOGRAFÍA.

[1] Directiva del Consejo, de 21 de mayo de 1991 sobre el tratamiento de las aguas residuales urbanas (91/271/CEE). D.O.U.E. L 135, 0040-0052. Diario Oficial de la Unión Europea (1991).

[2] Directiva del Consejo, de 3 de noviembre de 1998 relativa a la calidad de las aguas destinadas a consumo humano (98/83/CE). D.O.C.E. L 330/33. Diario Oficial de la Unión Europea (1998).

[3] “*Emerging issues in water and infectious diseases*”. World Health Organization, 2003.

[4] “*Water, Sanitation and Hygiene Links to Health. Facts and Figures*”. World Health Organization, 2004.

[5] “*Water and Sanitation Related Diseases Fact Sheets*”. World Health Organization, 2006.

[6] Singleton, P y Sainsbury, D. “*Dictionary of Microbiology and Molecular Biology*”. John Wiley & Sons, Chichester, Reino Unido, 2001.

[7] Liberti, L., Notarnicola, M. y Petruzzelli, D. “*Advanced treatment for municipal wastewater reuse in agriculture. UV disinfection: parasite removal and by-product formation*”. Desalination, 152 (2002) 315-324.

[8] Letterman, R.D. “*Water quality and treatment: a handbook of community water supplies*”. McGraw-Hill, 1999.

[9] Mac Kenzie, W.R., Hoxie, N.J., Proctor, M.E., Gradus, M.S., Blair, K.A., Peterson, D.E., Kazmierczak, J.J., Addiss, D.G., Fox, K.R., Rose, J.B. y Davis, J.P. “*A massive outbreak in Milwaukee of Cryptosporidium Infection transmitted through the public water supply*”. The New England Journal of Medicine, 331 (1994) 161-167.

[10] “*International notes outbreak of hemorrhagic colitis – Ottawa, Canada*”. U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention, Morbidity and Mortality Weekly Report, 32 (10) (1983) 133-134.

- [11] “*Update: Multistate outbreak of Escherichia coli O157:H7 Infections from hamburgers – Western United States, 1992-1993*”. U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention, Morbidity and Mortality Weekly Report, 42, 14 (1993) 258-263.
- [12] “*Outbreak of Escherichia coli O157:H7 Infections associated with drinking unpasteurized commercial apple juice – British Columbia, California, Colorado and Washington, October 1996*”. U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention, Morbidity and Mortality Weekly Report, 45, 44 (1996) 975.
- [13] “*Public Health Dispatch: Outbreak of Escherichia coli O157:H7 and Campylobacter among attendees of the Washington County Fair – New York, 1999*”. U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention, Morbidity and Mortality Weekly Report, 48 (36) (1999) 803.
- [14] Morgan, G.M., Newman, C., Palmer, S.R., Allen, J.B., Shepherd, W., Rampling, A.M., Warren, R.E., Gross, R.J., Scotland, S.M. y Smith, H.R. “*1st Recognized Community Outbreak of Hemorrhagic Colitis Due to Verotoxin-Producing Escherichia coli O157:H7 in the UK*”. Epidemiology and Infection, 101 (1) (1988) 83-91.
- [15] Dev, V.J., Main, M. y Gould, I. “*Waterborne outbreak of Escherichia coli O157:H7*”. The Lancet, 337 (1991) 1412.
- [16] “*A surveillance study of E.coli O157:H7 and Enterobacteriaceae in Irish retail minced beef and beef burgers*”. Food Safety Authority of Ireland, 2002.
- [17] Effler, P., Isaäcson, M.A., Arntze, L., Heenan, R., Canter, P., Barrett, T., Mambo, C., Levine, W., Zaidi, A. y Griffin, P.M. “*Factors Contributing to the Emergence of Escherichia coli O157 in Africa*”. Emerging Infectious Diseases, 7 (2001) 812-819.
- [18] Watanabe, Y., Ozasa, K., Mermin, J.H., Griffin, P.M., Masuda, K., Imashuku, S. y Sawada, T. “*Factory Outbreak of Escherichia coli O157:H7 Infection in Japan*”. Emerging Infectious Diseases, 5 (1999) 424-428.
- [19] “*Canadian probe of fatal E.coli outbreak expands*”. CNN NewsNet, Mayo 26, 2000. <http://archives.cnn.com/2000/HEALTH/05/26/canada.ecoli.03/>

- [20] Blanco, J., Blanco, M., Blanco, J.E., Mora, A., Alonso, M.P., González, E.A. y Bernárdez Hermida, M.I. “*Brotos causados por ECVT O157:H7 en España*”. Laboratorio de Referencia de *E.coli* (LREC) <http://www.lugo.usc.es/ecoli/BROTOS.html>, 2006.
- [21] “*Guidelines for drinking water quality*”. 3ª ed. World Health Organization, 2004.
- [22] LeChevalier, M.W. y Au, K.K. “*Water treatment and pathogen control: process efficiency in achieving safe drinking water*”. IWA Publishing for the World Health Organization, Londres, Reino Unido, 2004.
- [23] Schegel, H.G. “*General Microbiology*”. Cambridge University Press, Cambridge, Reino Unido, 1992.
- [24] Hammod, S.M., Lambert, P.A. y Rycroft, A.N. “*The bacterial cell surface*”. Kapitán Szabo Publishers, Washington D.C., 1984.
- [25] Konhauser, K. “*Introduction to Geomicrobiology*”, 1ª ed., Wiley-Blackwell, Reino Unido, 2007.
- [26] Dalrymple, O.K., Stefanakos, E., Trotz, M.A. y Goswami, D.Y. “*A review of the mechanisms and modelling of photocatalytic disinfection*”. Applied Catalysis B: Environmental, 98 (2010) 27-38.
- [27] Quek, P. H. y Hu, J. “*Indicators for photoreactivation and dark repair studies following ultraviolet disinfection*”. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, 35 (6) (2008) 533-541.
- [28] “*National Institutes of Health Guidelines for research involving recombinant DNA molecules*”. U.S. Department of Health and Human Services, 1986.
- [29] “*Real Decreto 1620/2007, de 7 de diciembre, por el que se establece el régimen jurídico de la reutilización de las aguas depuradas*”. B.O.E. 294, de 8 de diciembre de 2007, 50639-50661. Boletín Oficial del Estado. (2007).
- [30] Ikehata, K., Naghashkar, N.J. y Gamal El-Din, M. “*Degradation of aqueous pharmaceuticals by ozonization and advanced oxidation processes: A review*”. Ozone: Science and Engineering, 28 (2006) 353-414.

-
- [31] Rosal, R., Rodríguez, A., Perdigón-Melón, J.A., Petre, A., García-Calvo, E., Gómez, M.J., Agüera A., y Fernández-Alba, A.R. “*Occurrence of emerging pollutants in urban wastewater and their removal through biological treatment followed by ozonation*”. *Water Research*, 44 (2010) 578-588.
- [32] Metcalf, R. (Ed.) “*Ingeniería de aguas residuales. Tratamiento, vertido y reutilización*”. Mc Graw Hill, Madrid, España, 1995.
- [33] Spellman, F.R. “*Handbook of water and wastewater treatment plant operations*”. Lewis Publishers, Florida, EE.UU., 2003.
- [34] Blesa, M.A. y Sánchez, B. (Eds.) “*Eliminación de contaminantes por fotocatalisis heterogénea*”. CIEMAT, Madrid, España, 2004.
- [35] “*Emergency disinfection of drinking water*”. EPA 810-F-93-002. U.S. Environmental Protection Agency, 2006.
- [36] “*The AOT Handbook*”. Calgon Carbon Oxidation Technologies, Ontario, 1996.
- [37] “*Handbook on advanced photochemical oxidation processes*”. Office of Research and Development, U.S. Environmental Protection Agency, Washington, 1998.
- [38] Cho, M., Chung, H., Choi, W. y Yoon, J. “*Linear correlation between inactivation of E.coli and $\cdot\text{OH}$ radical concentration in TiO_2 photocatalytic disinfection*”. *Water Research*, 38 (2004) 1069-1077.
- [39] Gerischer, H. “*Electrochemical techniques for the study of photosensitization*”. *Journal of Photochemistry and Photobiology*, 16 (1972) 243-260.
- [40] Fujishima, A. y Honda, K. “*Electrochemical photolysis of water at a semiconductor electrode*”. *Nature*, 238 (1972) 37-38.
- [41] Bard, A.J. “*Design of semiconductor photo-electrochemical systems for solar-energy conversion*”. *Journal of Physical Chemistry*, 86 (1982) 172-177.
- [42] Blake, D. “*Bibliography of work on the photocatalytic removal of hazardous compounds from water and air*”. National Renewable Energy Laboratory (NREL), Golden, CO., Mayo

1994. 1ª actualización: Octubre 1994. 2ª actualización: Octubre 1996. 3ª actualización: Enero 1999. 4ª actualización: Octubre 2001.

[43] Ollis, D.F., Pellizzetti, E. y Serpone, N. “*Photocatalyzed destruction of water contaminants*”. *Environmental Science and Technology*, 25 (1991) 1522-1529.

[44] Legrini, O., Oliveros, E. y Braun, A.M. “*Photochemical processes for water treatment*”. *Chemical Reviews*, 93 (1993) 671-698.

[45] Fox, M. y Dulay, M. “*Heterogeneous photocatalysis*”. *Chemical Reviews*, 93 (1993) 341-357.

[46] Ollis, D.F. y Al-Ekabi, H. (Eds.) “*Photocatalytic purification and treatment of water and air*”. Elsevier, Amsterdam, Alemania, 1993.

[47] Mills, A., Davies, R.H. y Worsley, D. “*Water purification by semiconductor photocatalysis*”. *Chemical Society Reviews*, 22 (1993) 417-425.

[48] Hoffmann, M.R., Martin, S.T., Choi, W. y Bahnemann, D.W. “*Environmental applications of semiconductor photocatalysis*”. *Chemical Reviews*, 95 (1995) 69-96.

[49] Linsebigler, A.L., Lu, G., Yates, J.T. “*Photocatalysis on TiO₂ surface: Principles, mechanisms and selected results*”. *Chemical Reviews*, 95 (1995) 735-758.

[50] Schiavello, M. (Ed.). “*Heterogeneous photocatalysis*”. Wiley, Chichester, Reino Unido, 1997.

[51] Ollis, D.F. “*Heterogeneous photocatalysis*”. *Cat Tech*, 2 (1998) 149-157.

[52] Herrmann, J.M. “*Heterogeneous photocatalysis: fundamentals and applications to the removal of various types of aqueous pollutants*”. *Catalysis Today*, 53 (1999) 115-129.

[53] Parsons, S. (Ed.) “*Advanced oxidation processes for water and wastewater treatment*”. IWA Publishing, Londres, Reino Unido, 2004.

[54] Bott, A.W. “*Electrochemistry of semiconductors*”. *Current Separations*, 17 (3) (1998) 87-90.

- [55] Karlin, K.D. (Ed.) *“Progress in Inorganic Chemistry”*. John Wiley & Sons, Inc., California, EE.UU., 1994.
- [56] Bard, A.J., Stratmann, M. y Licht, S. (Eds.) *“Encyclopedia of Electrochemistry”*. Wiley-VCH, Weinheim, Alemania, 2001.
- [57] Martin, S.T., Herrmann, H. y Hoffmann, M.R. *“Time-resolved microwave conductivity. Part 2: Quantum-sized TiO₂ and the effect of adsorbates and light intensity on charge-carrier dynamics”*. Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions, 90 (1994) 3323-3330.
- [58] Ward, M.D., White, J.R. y Bard, A.J. *“Electrochemical investigations of the energetics of particulate titanium dioxide photocatalysts”*. Journal of the American Chemical Society, 105 (1983) 27-31.
- [59] Frank, S.N. y Bard, A.J. *“Heterogeneous photocatalytic oxidation of cyanide and sulfite in aqueous solutions at semiconductor powders”*. Journal of Physical Chemistry, 15 (1977) 1484-1488.
- [60] Blesa, M.A. y Blanco, J. (Eds.) *“Tecnologías solares para la descontaminación y desinfección de aguas”*. Escuela de Posgrado UNSAM, Argentina, 2005.
- [61] Lee, J.J., Coia, G.M. y Lewis, N.S. *“Current density versus potential characteristics of dye-sensitized nanostructured semiconductor photoelectrodes. 1. Analytical expressions”*. Journal of Physical Chemistry B, 108 (2004) 5269-5281.
- [62] Lee, J.J., Coia, G.M. y Lewis, N.S. *“Current density versus potential characteristics of dye-sensitized nanostructured semiconductor photoelectrodes. 2. Simulations”*. Journal of Physical Chemistry B, 108 (2004) 5282-5293.
- [63] Gautron, L., Lemasson, P. y Marucco, J.F. *“Correlation between the non-stoichiometry of titanium dioxide and its photochemical behaviour”*. Faraday Discussions of the Chemical Society, 70 (1980) 81-91.
- [64] Dare-Edwards, M.P., Goodenough, J.B., Hamnett, A., Seddon K.R. y Wright, R.D. *“Sensitisation of semiconducting electrodes with ruthenium-based dyes”*. Faraday Discussions of the Chemical Society, 70 (1980) 285-298.

- [65] Butterfield, I.M., Christensen, P.A., Hamnett, A., Shaw, K.E., Walker, G.M., Walker, S.A. y Howarth, C.R. “*Applied studies on immobilized titanium dioxide films as catalysts for the photoelectrochemical detoxification of water*”. *Journal of Applied Electrochemistry*, 27 (1997) 385-395.
- [66] Pozzo, R.L., Baltanás, M.A. y Cassano, A.E. “*Supported titanium oxide as photocatalyst in water decontamination: State of the art*”. *Catalysis Today*, 39 (1997) 219-231.
- [67] Chen, D., Li, F. y Ray, A.K. “*External and internal mass transfer effect on photocatalytic degradation*”. *Catalysis Today*, 66 (2001) 475-485.
- [68] Gerischer, H. y Heller, A. “*The role of oxygen in photooxidation of organic molecules on semiconductor particles*”. *Journal of Physical Chemistry*, 95 (1991) 5261-5267.
- [69] Byrne, J.A., Davidson, A., Dunlop, P.S.M. y Eggins, B.R. “*Water treatment using nanocrystalline TiO₂ electrodes*”. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 148 (2002) 365-374.
- [70] Waldner, G., Pourmodjib, M., Bauer, R., y Neumann-Spallart, M. “*Photoelectrocatalytic degradation of 4-chlorophenol and oxalic acid on titanium dioxide electrodes*”. *Chemosphere*, 50 (2003) 989-998.
- [71] Byrne, J.A., Eggins, B.R., Brown, N.M.D., McKinney, B. y Rouse, M. “*Immobilisation of TiO₂ powder for the treatment of polluted water*”. *Applied Catalysis B: Environmental*, 17 (1998) 25-36.
- [72] Zhang, W., An, T., Cui, M., Sheng, G. y Fu, J. “*Effects of anions on the photocatalytic and photoelectrocatalytic degradation of reactive dye in a packed-bed reactor*”. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 80 (2005) 223-229.
- [73] Candal, R.J., Zeltner, W.A. y Anderson, M.A. “*Effects of pH and applied potential on photocurrent and oxidation rate of saline solutions of formic acid in a photoelectrocatalytic reactor*”. *Environmental Science and Technology*, 34 (2000) 3443-3451.
- [74] Harper, J.C., Christensen, P.A., Egerton, T.A. y Scott, K. “*Mass transport characterization of a novel gas sparged photoelectrochemical reactor*”. *Journal of Applied Electrochemistry*, 31 (2001) 267-273.

- [75] Morrison, S.R. “*Electrochemistry at semiconductor and oxidized metal electrodes*”, Plenum Press. New York, EE.UU., 1980.
- [76] Memming, R. “*Photoinduced charge-transfer processes at semiconductor electrodes and particles*”. Topics in Current Chemistry, 169 (1994) 105-181.
- [77] Vinodgopal, K. y Kamat, P.V. “*Electrochemically assisted photocatalysis using nanocrystalline semiconductor thin-films*”. Solar Energy Materials and Solar Cells, 38 (1995) 401-410.
- [78] Chen, X. y Mao, S.S. “*Titanium dioxide nanomaterials: Synthesis, properties, modifications, and applications*”. Chemical Reviews, 107 (7) (2007) 2891-2959.
- [79] Vinodgopal, K., Hotchandani, S. y Kamat, P.V. “*Electrochemically assisted photocatalysis. TiO₂ particulate film electrodes for photocatalytic degradation of 4-chlorophenol*”. Journal of Physics and Chemistry, 97 (1993) 9040-9044.
- [80] Kim, D.H. y Anderson, M.A. “*Photoelectrocatalytic degradation of formic acid using a porous TiO₂ thin film electrode*”. Environmental Science and Technology, 28 (1994) 479-483.
- [81] Hidaka, H., Kazuhiko, T. S., Zhao, J. y Serpone, N. “*Photoelectrochemical decomposition of amino acids on a TiO₂/OTE particulate film electrode*”. Journal of Photochemistry and Photobiology A, 109 (1997) 165-170.
- [82] Kesselman, J.M., Lewis, N.S. y Hoffmann, M.R. “*Photoelectrochemical degradation of 4-chlorocatechol at TiO₂ electrodes: Comparison between sorption and photoreactivity*”. Environmental Science and Technology, 31(8) (1997) 2298-2305.
- [83] Martínez-Huitle, C.A. y Brillas, E. “*Decontamination of wastewaters containing synthetic organic dyes by electrochemical methods: A general review*”. Applied Catalysis B: Environmental, 87 (3-4) (2009) 105-145.
- [84] Egerton, T.A., Christensen, P.A., Kosa, S.A.M. y Onoka, B. “*Photoelectrocatalysis by titanium dioxide for water treatment*”. International Journal of Environment and Pollution, 27 (2006) 2-19.

- [85] Matsunaga, T., Tomoda, R., Nakajima, T. y Wake, H. “*Photoelectrochemical sterilization of microbial cells by semiconductor powders*”. *Fems Microbiology Letters*, 29 (1985) 211-214.
- [86] Ireland, J.C., Klostermann, P., Rice, E.W. y Clark, R.M. “*Inactivation of Escherichia coli by titanium dioxide photocatalytic oxidation*”. *Applied and Environmental Microbiology*, 59 (1993) 1668-1670.
- [87] Wei, C., Lin, W.Y., Zainal, Z., Williams, N.E., Zhu, K., Kruzic, A.P., Smith, R.L. y Rajeshwar, K. “*Bactericidal activity of TiO₂ photocatalyst in aqueous media toward a solar-assisted water disinfection system*”. *Environmental Science and Technology*, 28 (1994) 934-938.
- [88] Bekbölet, M. y Araz, C.V. “*Inactivation of Escherichia coli by photocatalytic oxidation*”. *Chemosphere*, 32 (1996) 959-965.
- [89] Block, S.S., Seng, V.P. y Goswami, D.W. “*Chemically enhanced sunlight for killing bacteria*”. *Journal of Solar Energy Engineering-Transactions of the ASME*, 119 (1997) 85-91.
- [90] Bekbölet, M. “*Photocatalytic bactericidal activity of TiO₂ in aqueous suspensions of E.coli*”. *Water Science and Technology*, 34 (11-12) (1997) 95-100.
- [91] Stevenson, M., Bullock, K., Lin, W.Y. y Rajeshwar, K. “*Sonolytic enhancement of the bactericidal activity of irradiated titanium dioxide suspension in water*”. *Research on Chemical Intermediates*, 23 (1997) 311-323.
- [92] Kikuchi, Y., Sunada, K., Iyoda, T., Hashimoto, K. y Fujishima, A. “*Photocatalytic bactericidal effect of TiO₂ thin film: dynamic view of the active oxygen species responsible for the effect*”. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 106 (1997) 51-56.
- [93] Jacoby, W.A., Maness, P.C., Wolfrum, E.J., Blake, D.M. y Fennell, J.A. “*Mineralization of bacterial cell mass on a photocatalytic surface in air*”. *Environmental Science and Technology*, 32 (1998) 2650-2653.
- [94] Sunada, K., Kikuchi, Y., Hashimoto, K. y Fujishima, A. “*Bactericidal and detoxification effects of TiO₂ thin film photocatalysts*”. *Environmental Science and Technology*, 32 (1998) 726-728.

- [95] Maness, P.C., Smolinski, S., Blake, D.M., Huang, Z., Wolfrum, E.J. y Jacobi, W.A. “*Bactericidal activity of photocatalytic TiO₂ reaction: Toward an understanding of its killing mechanism*”. Applied and Environmental Microbiology, 65 (1999) 4094-4098.
- [96] Huang, Z., Maness, P.C., Blake, D.M., Wolfrum, E.J., Smolinski, S. y Jacobi, W.A. “*Bactericidal mode of titanium dioxide photocatalysis*”. Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry, 130 (2000) 163-170.
- [97] Rincón, A.G. y Pulgarín, C. “*Photocatalytic inactivation of E.coli: Effect of (continuous-intermittent) light intensity and of (suspended-fixed) TiO₂ concentration*”. Applied Catalysis B: Environmental, 44 (2003) 263-284.
- [98] Rincón, A.G. y Pulgarín, C. “*Effect of pH, inorganic ions, organic matter and H₂O₂ on E.coli K-12 photocatalytic inactivation by TiO₂: Implications in solar water disinfection*”. Applied Catalysis B: Environmental, 51 (2004) 283-302.
- [99] Rincón, A.G. y Pulgarín, C. “*Field solar E.coli inactivation in the absence and presence of TiO₂: is UV solar dose an appropriate parameter for standardization of water solar disinfection?*”. Solar Energy, 77 (2004) 635-648.
- [100] Rincón, A.G. y Pulgarín, C. “*Bactericidal action of illuminated TiO₂ on pure Escherichia coli and natural bacterial consortia: Post-irradiation events in the dark and assessment of the effective disinfection time*”. Applied Catalysis B: Environmental, 49 (2004) 99-112.
- [101] Sjogren, J.C. y Sierka, R. “*Inactivation of phage MS2 by iron-aided titanium dioxide photocatalysis*”. Applied and Environmental Microbiology, 60 (1994) 344-347.
- [102] Sichel, C., de Cara, M., Tello, J., Blanco, J. y Fernández-Ibáñez, P. “*Solar photocatalytic disinfection of agricultural pathogenic fungi: Fusarium species*”. Applied Catalysis B: Environmental, 74 (2007) 152-160.
- [103] Sokmen, M., Degerli, S. y Aslan, A. “*Photocatalytic disinfection of Giardia intestinalis and Acanthamoeba castellanii cysts in water*”. Experimental Parasitology, 119 (2008) 44-48.

- [104] Blake, D.M., Maness, P.C., Huang, Z., Wolfrum, E.J. y Huang, J. “*Application of the photocatalytic chemistry of titanium dioxide to disinfection and the killing of cancer cells*”. *Separation and Purification Methods*, 28 (1999) 1-50.
- [105] Ibáñez, J.A., Litter, M.I. y Pizarro, R.A. “*Photocatalytic bactericidal effect of TiO₂ on Enterobacter cloacae: Comparative study with other Gram (–) bacteria*”. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 157 (2003) 81-85.
- [106] Rincón, A.G y Pulgarín, C. “*Use of coaxial photocatalytic reactor (CAPHORE) in the TiO₂ photoassisted treatment of mixed E. coli and Bacillus sp. and bacterial community present in wastewater*”. *Catalysis Today*, 101 (2005) 331-344.
- [107] Araña, J., Herrera, J.A., Doña Rodríguez, J.M., González, O., Viera, A., Pérez, J., Marrero, P.M. y Espino, V. “*TiO₂-photocatalysis as a tertiary treatment of naturally treated wastewater*”. *Catalysis Today*, 76 (2002) 279-289.
- [108] Rincón, A.G., Pulgarín, C., Adler, N. y Peringer, P. “*Interaction between E. coli inactivation and DBP-precursors —dihydroxybenzene isomers — in the photocatalytic process of drinking-water disinfection with TiO₂*”. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 139 (2001) 233-241.
- [109] Fernández, P., Blanco, J., Sichel, C. y Malato, S. “*Water disinfection by solar photocatalysis using compound parabolic collectors*”. *Catalysis Today*, 101 (2005) 345-352.
- [110] Malato, S., Blanco, J., Alarcón, D.C., Maldonado, M.I., Fernández-Ibáñez, P. y Gernjak, W. “*Photocatalytic decontamination and disinfection of water with solar collectors*”. *Catalysis Today*, 122 (2007) 137-149.
- [111] Sunada, K., Watanabe, T. y Hashimoto, K. “*Studies on photokilling of bacteria on TiO₂ thin film*”. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 156 (2003) 227-233.
- [112] Malato, S., Fernández-Ibáñez, P., Maldonado, M.I., Blanco, J. y Gernjak, W. “*Decontamination and disinfection of water by solar photocatalysis: Recent overview and trends*”. *Catalysis Today*, 147 (2009) 1-59.

- [113] Cohen-Yaniv, V., Narkis, N. y Armon, R. “*Photocatalytic inactivation of Flavobacterium and E. coli in water by a continuous stirred tank reactor (CSTR) fed with suspended/immobilised TiO₂ medium*”. *Water Science & Technology*, 58 (2008) 247-252.
- [114] Gumy, D., Morais, C., Pulgarín, C., Giraldo, S., Hajdy, R. y Kiwi, J. “*Catalytic activity of commercial TiO₂ powders for the abatement of the bacteria (E. coli) under solar simulated light: Influence of the isoelectric point*”. *Applied Catalysis B: Environmental*, 63 (2006) 76-84.
- [115] Dunlop, P.S.M., Byrne, J.A., Mange, N. y Eggins, B.R. “*The photocatalytic removal of bacterial pollutants from drinking water*”. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 148 (2002) 355-363.
- [116] Sichel, C., Tello, J., de Cara, M. y Fernández-Ibáñez, P. “*Effect of UV solar intensity and dose on the photocatalytic disinfection of bacteria and fungi*. *Catalysis Today*, 129 (2007) 152-160.
- [117] Benabbou, A.K., Derriche, Z., Felix, C., Lejeune, P. y Guillard, C. “*Photocatalytic inactivation of Escherichia coli. Effect of concentration of TiO₂ and microorganism, nature and intensity of UV irradiation*”. *Applied Catalysis B: Environmental*, 76 (2007) 257-263.
- [118] Chen, F., Yang, X., Xu, F., Wu, Q. y Zhang, Y. “*Correlation of photocatalytic bactericidal effect and organic matter degradation of TiO₂. Part I: Observation of phenomena*. *Environmental Science & Technology*, 43 (2009) 1180-1184.
- [119] Chong, M.N., Jin, B., Chow, C.W.K. y Saint, C. “*Recent developments in photocatalytic water treatment technology: A review*”. *Water Research*, 44 (2010) 2997-3027.
- [120] Srinivasan, C. y Somasundaram, N. “*Bactericidal and detoxification effects of irradiated semiconductor catalyst, TiO₂*”. *Review Articles*, 85 (10) (2003) 1431-1438.
- [121] Sichel, C., Blanco, J., Malato, S. y Fernández-Ibáñez, P. “*Effects of experimental conditions on E. coli survival during solar photocatalytic water disinfection*”. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 189 (2007) 239-246.
- [122] Bui, T.-H., Felix, C., Pigeot-Remy, S., Herrmann, J.-M., Lejeune, P. y Guillard, C. “*Photocatalytic inactivation of wild and hyper-adherent E. coli strains in presence of*

suspended or supported TiO₂. Influence of the isoelectric point of the particle size and of the adsorptive properties of titania". Journal of Advanced Oxidation Technology, 11 (2008) 510-518.

[123] Gomes, A.I., Santos, J., Vilar, V.J.P. y Boaventura, R.A.R. "*Inactivation of bacteria E. coli and photodegradation of humic acids using natural sunlight*". Applied Catalysis B: Environmental, 88 (2009) 283-291.

[124] Gomes, A.I., Vilar, V.J.P y Boaventura, R.A.R. "*Synthetic and natural waters disinfection using natural solar radiation in a pilot plant with CPCs*". Catalysis Today, 144 (2009) 55-61.

[125] Rincón A.G. y Pulgarín, C. "*Solar photolytic and photocatalytic disinfection of water at laboratory and field scale. Effect of the chemical composition of water and study of the postirradiation events*". Journal of Solar Energy Engineering, 29 (2007) 100-110.

[126] Coleman, H.M., Marquis, C.P., Scott, J.A., Chin, S.S. y Amal, R. "*Bactericidal effects of titanium dioxide-based photocatalysts*". Chemical Engineering Journal, 113 (1) (2005) 55-63.

[127] Alrousan, D.M.A., Dunlop, P.S.M., McMurray, T.A. y Byrne, J.A. "*Photocatalytic inactivation of E.coli in surface water using immobilised nanoparticle TiO₂ films*". Water Research, 43 (1) (2009) 47-54.

[128] Li, B. y Logan, B. "*Bacterial adhesion to glass and metal-oxide surfaces*". Colloids and Surfaces B, 36 (2004) 81-90.

[129] Gogniat, G., Thyssen, M., Denis, M., Pulgarín, C. y Dukan, S. "*The bactericidal effect of TiO₂ photocatalysis involves adsorption onto catalyst and the loss of membrane integrity*". Microbiology Letter, 258 (2006) 18-24.

[130] Herrera, J.A., Doña Rodríguez, J.M., Viera, A., Tello, E., Valdés, C., Arana, J. y Pérez, J. "*The photocatalytic disinfection of urban waste waters*". Chemosphere, 41 (2000) 323-327.

[131] Guillard, C., Bui, T-H., Felix, C., Moules, V., Lina, B. y Lejeune, P. "*Microbiological disinfection of water and air by photocatalysis*". C.R. Chimie, 11 (2008) 107-113.

- [132] Cushnie, T.P., Robertson, P.K.J., Officer, S., Pollard, P.M., McCullagh, C. y Robertson, J.M.C. “*Variables to be considered when assessing the photocatalytic destruction of bacterial pathogens*”. *Chemosphere*, 74 (2009) 1374-1378.
- [133] Robertson, J.M.C., Robertson, P.K.J. y Lawton, L.A. “*A comparison of the effectiveness of TiO₂ photocatalysis and UVA photolysis for the destruction of three pathogenic micro-organisms*”. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 175 (2005) 51-56.
- [134] McCullagh, C., Robertson, J.M.C., Bahnemann, D.W. y Robertson, P.K.J. “*The application of TiO₂ photocatalysis for disinfection of water contaminated with pathogenic micro-organisms: a review*”. *Research on Chemical Intermediates*, 33 (2007) 359-375.
- [135] Fu, G., Vary, P.S. y Lin, C.-T. “*Anatase TiO₂ nanocomposites for antimicrobial coatings*”. *Journal of Physical Chemistry B*, 109 (2005) 8889-8898.
- [136] Page, K., Palgrave, R.G., Parkin, I.P., Wilson, M., Savin, S.L.P. y Chadwick, A.V. “*Titania and silver-titania composite films on glass- potent antimicrobial coatings*”. *Journal of Materials Chemistry*, 17 (2007) 95-104.
- [137] Gummy, D., Rincón, A.G., Hadju, R. y Pulgarín, C. “*Solar photocatalysis for detoxification and disinfection of water: Different types of suspended and fixed TiO₂ catalysts study*”. *Solar Energy*, 80 (2006) 1376-1381.
- [138] Pratap, M., Heon, H. y Subrahmanyam, M. “*Photocatalytic disinfection of Escherichia coli over titanium (IV) oxide supported on H β zeolite*”. *Catalysis Letters*, 123 (2008) 56-64.
- [139] Butterfield, I.M., Christensen, P.A., Curtis, T.P. y Gunlazuardi, J. “*Water disinfection using an immobilised titanium dioxide film in a photochemical reactor with electric field enhancement*”. *Water Research*, 31 (1997) 675-677.
- [140] Curtis, T.P., Walker, G., Dowling, B.M. y Christensen, P.A. “*Fate of Cryptosporidium oocysts in an immobilised titanium dioxide reactor with electric field enhancement*”. *Water Research*, 36 (2002) 2410-2413.
- [141] Harper, J.C., Christensen, P.A., Egerton, T.A., Curtis T.P. y Gunlazuardi, J. “*Effect of catalyst type on the kinetics of the photoelectrochemical disinfection of water inoculated with E.coli*”. *Journal of Applied Electrochemistry*, 31 (2001) 623-628.

- [142] Christensen, P.A., Curtis, T.P., Egerton, T.A., Kosa, S.A.M. y Tinlin, J.R. “*Photoelectrocatalytic and photocatalytic disinfection of E. coli suspensions by titanium dioxide*”. Applied Catalysis B: Environmental, 41 (2003) 371-386.
- [143] Egerton, T.A., Kosa, S.A.M. y Christensen, P.A. “*Photoelectrocatalytic disinfection of E. coli suspensions by iron doped TiO₂*”. Physical Chemistry Chemical Physics, 8 (2006) 398-406.
- [144] Dunlop, P.S.M., McMurray, T.A., Hamilton, J.W.J. y Byrne, J.A. “*Photocatalytic inactivation of Clostridium perfringens spores on TiO₂ electrodes*”. Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry, 196 (2008) 113-119.
- [145] Baram, N., Starosvetsky, D., Starosvetsky, J., Epshtein, M., Armon, R. y Ein-Eli, Y. “*Enhanced photo-efficiency of immobilized TiO₂ catalyst via intense anodic bias*”. Electrochemistry Communications, 9 (2007) 1684-1688.
- [146] Baram, N., Starosvetsky, D., Starosvetsky, J., Epshtein, M., Armon, R. y Ein-Eli, Y. “*Enhanced inactivation of E. coli bacteria using immobilized porous TiO₂ photoelectrocatalysis*”. Electrochimica Acta, 54 (2009) 3381-3386.
- [147] Philippidis, N., Nikolakaki, E., Sotiropoulos, S. y Poullos, I. “*Photoelectrocatalytic inactivation of E. coli XL-1 blue colonies in water*”. Journal of Chemical Technology and Biotechnology, 85 (2010) 1054-1060.
- [148] Cho, M., Cates, E.L. y Kim, J.H. “*Inactivation and surface interactions of MS-2 bacteriophage in a TiO₂ photoelectrocatalytic reactor*”. Water Research, 45 (2011) 2104-2110.
- [149] Li, G., Liu, X., Zhang, H., An, T., Zhang, S., Carroll, A.R. y Zhao, H. “*In situ photoelectrocatalytic generation of bactericide for instant inactivation and rapid decomposition of Gram-negative bacteria*”. Journal of Catalysis, 277 (2011) 88-94.
- [150] Buffle, M.O., Schumacher, J., Salhi, E.; Jekel, M. y von Gunten, U. “*Measurement of the initial phase of ozone decomposition in water and wastewater by means of a continuous quench-flow system: Application to disinfection and pharmaceutical oxidation*”. Water Research, 40 (2006) 1884-1894.

- [151] Kruithof, J.C., Kamp, P.C. y Martijn, B.J. “*UV/H₂O₂ treatment: A practical solution for organic contaminant control and primary disinfection*”. *Ozone: Science and Engineering*, 29 (2007) 273-280.
- [152] Gagnon, C., Lajeunesse, A., Cejka, P., Gagné, F. y Hausler, R. “*Degradation of selected acidic and neutral pharmaceutical products in a primary-treated wastewater by disinfection processes*”. *Ozone: Science and Engineering*, 30 (2008) 387-392.
- [153] Gerrity, D., Gamage, S., Holady, J.C., Mawhinney, D.B., Quiñones, O., Trenholm, R.A. y Snyder, S.A. “*Pilot-scale evaluation of ozone and biological activated carbon for trace organic contaminant migration and disinfection*”. *Water Research*, 45 (2011) 2155-2165.
- [154] Gregory, J. “*Particles in water. Properties and processes*”. IWA Publishing, Londres, Reino Unido, 2006.
- [155] Kositzki, M., Poullos, I., Malato, S., Cáceres, J. y Campos, A. “*Solar photocatalytic treatment of synthetic municipal wastewater*”. *Water Research*, 38 (2004) 1147-1154.
- [156] “*Test-Aerobic Sewage Treatment 303A*”. Estándar para el estudio de sistemas de tratamiento de aguas por lodos activados. OCDE, 1999.
- [157] Chen, G. y Walker, S.L. “*Role of solution chemistry and ion valence on the adhesion kinetics of groundwater and marine bacteria*”. *Langmuir*, 23 (2007) 7162-7169.
- [158] Hong, Y. y Brown, D.G. “*Cell surface acid-base properties of Escherichia coli and Bacillus brevis and variation as a function of growth phase, nitrogen source and C:N ratio*”. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 50 (2006) 112-119.
- [159] Carneiro, S., Amaral, A.L., Veloso, A.C.A., Dias, T., Peres, A.M., Ferreira, E.C. y Rocha, I. “*Assessment of physiological conditions in E. coli fermentations by epifluorescent microscopy and image analysis*”. *Biotechnology Progress*, 25 (2009) 882-891.
- [160] Méndez-Hermida, F., Ares-Mazás, E., McGuigan, K.G., Boyle, M., Sichel, C. y Fernández-Ibáñez, P. “*Disinfection of drinking water contaminated with Cryptosporidium parvum oocysts under natural sunlight and using the photocatalyst TiO₂*”. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 88 (2007) 105-111.

- [161] Hatchard, C.G. y Parker, C.A. “*A new sensitive chemical actinometer II. Potassium ferrioxalate as a standard chemical actinometer*”. Proceedings of the Royal Society A, 235 (1956) 518-536.
- [162] Braun, A., Maurette, M.-T. y Oliveros, E. “*Photochemical Technology*”. Wiley, Chichester, Reino Unido, 1991.
- [163] Sun, L. y Bolton. J.R. “*Determination of the quantum yield for the photochemical generation of hydroxyl radicals in TiO₂ suspensions*”. Journal of Physical Chemistry, 100 (1996) 4127-4134.
- [164] Nash, T. “*Colorimetric estimation of formaldehyde by means of the Hantzsch reaction*”. Biochemical Journal, 55 (1953) 416-421.
- [165] Valcárcel, Y., González, S., Rodríguez-Gil, J.L., Gil, A. y Catalá, M. “*Detection of pharmaceutically active compounds in the rivers and tap water of the Madrid Region (Spain) and potential ecotoxicological risk*”. Chemosphere, 84 (2011) 1336-1348.
- [166] Walker, S. L., Redman, J.A. y Elimelech, M. “*Role of cell surface lipopolysaccharides in Escherichia coli K12 adhesion and transport*”. Langmuir, 20 (2004) 7736-7746.
- [167] Shaomin, L., Gaoli, G., Bihua, X., Wenqi, G. y Guangjum, M. “*Disruption of bacterial cells by photocatalysis of montmorillonite supported titanium dioxide*”. Journal of Wuhan University of Technology- Material Science Edition, 24 (2009) 557-561.
- [168] Nadtochenko, V.A., Rincon, A.G., Stanca, S.E., J. Kiwi. “*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, 169 (2005) 131-137.
- [169] Goulhen-Chollet, F., Josset, S., Keller, N., Keller, V. y Lett, M.-C. “*Monitoring the bactericidal effect of UV-A photocatalysis: A first approach through 1D and 2D protein electrophoresis*”. Catalysis Today, 147 (2009) 169-172.
- [170] Liu, P., Duan, W., Wang, Q. y Li, X. “*The damage of outer membrane of Escherichia coli in the presence of TiO₂ combined with UV light*”. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 78 (2010) 171-176.

- [171] Marugán, J., van Grieken, R., Sordo, C. y Cruz, C. “*Kinetics of the photocatalytic disinfection of Escherichia coli suspensions*”. Applied Catalysis B: Environmental, 82 (2008) 27-36. “*Corrigendum*”, Applied Catalysis B: Environmental, 88 (2009) 582-583.
- [172] Marugán, J., van Grieken, R., Cassano, A. E. y Alfano, O. M. “*Kinetic modelling of the photocatalytic inactivation of bacteria*”. Water Science & Technology, 61 (2010) 1547-1553.
- [173] Vincze, L. y Kemp, T.J. “*Light-flux and Light-flux density-dependence on the photomineralization rate of 2,4-dichlorophenol and chloroacetic acid in the presence of TiO₂*”. Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry, 87 (1995) 257-260.
- [174] Sökmen, M. y Özkan, A. “*Decolourising textile wastewater with modified titania. The effects of inorganic anions on the photocatalysis*”. Journal of Photochemistry and Photobiology A, 147 (2002) 77-81.
- [175] Guillard, C., Lachheb, H., Houas, A., Ksibi, M., Elaloui, E. y Herrmann, J.M. “*Influence of chemical structure of dyes, of pH and of inorganic salts on their photocatalytic degradation by TiO₂ comparison of the efficiency of powder and supported TiO₂*”. Journal of Photochemistry and Photobiology A, 158 (2003) 27-36.
- [176] Guillard, C., Puzenat, E., Lachheb, H., Houas, A. y Herrmann, J.M. “*Why inorganic salts decrease the TiO₂ photocatalytic efficiency*”. International Journal of Photoenergy, 7 (2005) 1-9.
- [177] Kerr, M., Fitzgerald, M., Sheridan, J.J., McDowll, D.A. y Blair, I.S. “*Survival of Escherichia coli O157:H7 in bottled natural mineral water*”. Journal of Applied Microbiology, 87 (1999) 833-841.
- [178] Skorb, E.V., Antonouskaya, L.I., Belyasova, N.A., Shchukin, D.G., Möhwald, H. y Sviridov, D.V. “*Antibacterial activity of thin-film photocatalysts based on metal-modified TiO₂ and TiO₂:In₂O₃ nanocomposite*”. Applied Catalysis B: Environmental, 84 (2008) 94-99.
- [179] Demidova, T.N. y Hamblin, R. “*Effect of cell-photosensitizer binding and cell density on microbial photoinactivation*” Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 49 (2005) 2329-2335.

- [180] Portinga, A.T., Bos, R., Norde, W. y Busscher, H.J. “*Electric double layer interactions in bacterial adhesion to surfaces*”. Surface Science Reports, 47 (2002) 1-32.
- [181] Sinton, L.W., Hall, C.H., Lynch, P.A. y Davies-Colley, R.J. “*Sunlight inactivation of fecal indicator bacteria and bacteriophages from waste stabilization pond effluent in fresh and saline waters*”. Applied and Environmental Microbiology, 68 (2002) 1122-1131.
- [182] Hu, C., Hu, X., Guo, J. y Qu, J. “*Efficient destruction of pathogenic bacteria with NiO/SrBi₂O₄ under visible light irradiation*”. Journal of the American Chemical Society, 40 (2006) 5508-5513.
- [183] Pal, A., Pehkonen, S.O., Yu, L.E. y Ray, M.B.V. “*Photocatalytic inactivation of Gram-positive and Gram-negative bacteria using fluorescent light*”. Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry, 186 (2007) 335-341.
- [184] Chung, C.-J., Lin, H.-I., Chou, C.-M., Hsieh, P.-Y., Hsiao, C.-H., Shi, Z.-Y. y He, J.-L. “*Inactivation of Staphylococcus aureus and Escherichia coli under various light sources on photocatalytic titanium dioxide thin film*”. Surface & Coatings Technology, 203 (2009) 1081-1085.
- [185] Liu, H.L. y Yang, T.C.-K. “*Photocatalytic inactivation of Escherichia coli and Lactobacillus helveticus by ZnO and TiO₂ activated with ultraviolet light*”. Process Biochemistry, 39 (2003) 475-481.
- [186] Lan, Y., Hu, C., Hu, X. y Qu, J. “*Efficient destruction of pathogenic bacteria with AgBr/TiO₂ under visible light irradiation*”. Applied Catalysis B: Environmental, 69 (2007) 354-360.
- [187] Villén, L., Manjón, F., García-Fresnadillo, D. y Orellana, G. “*Solar water disinfection by photocatalytic singlet oxygen production in heterogeneous medium*”. Applied Catalysis B: Environmental, 69 (2006) 1-9.
- [188] Shim, Y., Lee, H.-J., Lee, S., Moon, S.-H. y Cho, J. “*Effects of natural organic matter and ionic species on membrane surface charge*”. Environmental Science & Technology, 36 (2002) 3864-3871.

- [189] Kim, H. N., Hong, Y.H., Lee, I., Bradford, S.A. y Walker, S.L. “*Surface characteristics and adhesion behaviour of Escherichia coli O157:H7: Role of extracellular macromolecules*”. *Biomacromolecules*, 10 (2009) 2556-2564.
- [190] Manjón, F., Villén, L., García-Fresnadillo, D. y Orellana, G. “*On the factors influencing the performance of solar reactors for water disinfection with photosensitized singlet oxygen*”. *Environmental Science & Technology*, 42 (2008) 301-307.
- [191] Blanco-Gálvez, J., Fernández-Ibáñez, P. y Malato-Rodríguez, S. “*Solar photocatalytic detoxification and disinfection of water: recent overview*”. *Journal of Solar Energy Engineering*, 129 (2007) 4-15.
- [192] Marugán, J., López-Muñoz, M.J., Aguado, J. y van Grieken, R. “*On the comparison of photocatalysts activity: A novel procedure for the measurement of titania surface in TiO₂/SiO₂ materials*”. *Catalysis Today*, 124 (2007) 103-109.
- [193] Marugán, J., Hufschmidt, D., López-Muñoz, M.J., Selzer, V. y Bahnemann, D. “*Photonic efficiency for methanol photooxidation and hydroxyl radical generation on silica-supported TiO₂ photocatalysts*”. *Applied Catalysis B: Environmental*, 62 (2006) 201-207.
- [194] Marugán, J., Hufschmidt, D., Sagawe, G., Selzer, V. y Bahnemann, D. “*Optical density and photonic efficiency of silica-supported TiO₂ photocatalysts*”. *Water Research*, 40 (2006) 833-839.
- [195] Chowdhury, I. y Walker, S. L. “*Deposition mechanisms of TiO₂ nanoparticles in a parallel plate system*”. *Journal of Colloid and Interface Science*, 369 (1) (2012) 16-22.
- [196] Cao, H., Tsai, F. T.-C. y Rusch, K.A. “*Salinity and soluble organic matter on virus sorption in sand and soil columns*”. *Ground Water*, 48 (2010) 42-52.
- [197] Johnson, W.P., Martin, M.J., Gross, M.J. y Logan, B.E. “*Facilitation of bacterial transport through porous media by changes in solution and surface properties*”. *Colloids and Surfaces A*, 107 (1996) 263-271.
- [198] Parent, M.E. y Velegol, D. “*E. coli adhesion to silica in the presence of humic acid*”. *Colloids and Surfaces B*, 39 (2004) 45-51.

- [199] Hwang, G., Kang, S., El-Din, M.G. y Liu, Y. “*Impact of conditioning films on the initial adhesion of Burkholderia cepacia*”. Colloids and Surfaces B, 91 (2012) 181-188.
- [200] Kerchove, A.J. y Elimelech, M. “*Calcium and magnesium cations enhance the adhesion of motile and nonmotile Pseudomonas aeruginosa on alginate films*”. Langmuir, 24 (2008) 3392-3399.
- [201] Simoni, S., Bosna, T.N.P. y Zehnder, A.J.B. “*Bivalent cations increase both the subpopulation of adhering bacteria and their adhesion efficiency in sand columns*”. Environmental Science & Technology, 34 (2000) 1011-1017.
- [202] Li, Q. y Elimelech, M. “*Organic fouling and chemical cleaning of nanofiltration membranes: Measurements and mechanisms*”. Environmental Science & Technology, 38 (2004) 4683-4693.
- [203] Chowdhury, I., Cwiertny, D. M. y Walker, S.L. “*Combined factors influencing the aggregation and deposition of nano-TiO₂ in the presence of humic acid and bacteria*”. Environmental Science & Technology, 46 (13) (2012) 6968-6976.
- [204] Kim, J.K, Choi, H.S, Kim, E., Lee, Y.S., Kim, Y.H. y Kim, S.W. “*Comparative effects of TiO₂-immobilized photocatalytic supporters on the bactericidal efficiency of a novel photoreactor*”. Biotechnology Letters, 24 (2002) 1397–1400.
- [205] Waldner, G. y Krýsa, J. “*Photocurrents and degradation rates on particulate TiO₂ layers. Effect of layer thickness, concentration of oxidizable substance and illumination direction*”. Electrochimica Acta, 50 (2005) 4498-4504.
- [206] Christensen, P.A., Egerton, T.A., Kosa, S.A.M., Tinlin, J.R. y Scott, K. “*The photoelectrocatalytic oxidation of aqueous nitrophenol using a novel reactor*”. Journal of Applied Electrochemistry, 35 (2005) 683-692.
- [207] Ma, Y., Qiu, J.-B., Cao, Y.-A., Guan, Z.-S. y Yao, J.-N. “*Photocatalytic activity of TiO₂ films grown on different substrates*”. Chemosphere, 44 (2001) 1087-1092.
- [208] Li, X.Z., He, C., Graham, N. y Xiong, Y. “*Photoelectrocatalytic degradation of bisphenol A in aqueous solution using a Au-TiO₂/ITO film*”. Journal of Applied Electrochemistry, 35 (2005) 741-750.

- [209] Jiang, D., Zhao, H., Shanqing, Z. y John, R. “*Characterization of photoelectrocatalytic processes at nanoporous TiO₂ film electrodes: Photocatalytic oxidation of glucose*”. Journal of Physical Chemistry B, 107 (2003) 12774-12780.
- [210] He, C., Li, X.Z., Graham, N. y Wang, Y. “*Preparation of TiO₂/ITO and TiO₂/Ti photoelectrodes by magnetron sputtering for photocatalytic application*”. Applied Catalysis A-General, 305 (2006) 54-63.
- [211] Christensen, P.A., Eameain, J. y Hamnett, A. “*In situ FTIR studies of the photoelectrochemical behaviour of thermal TiO₂ films as a function of temperature*”. Physical Chemistry Chemical Physics, 1(23) (1999) 5315-5321.
- [212] Mintsouli, I., Philippidis, N., Poullos, I. y Sotiropoulos, S. “*Photoelectrochemical characterisation of thermal and particulate titanium dioxide electrodes*”. Journal of Applied Electrochemistry, 36 (2005) 436-474.
- [213] Georgieva, J., Armyanov, S., Valova, E., Poullos, I. y Sotiropoulos, S. “*Preparation and photoelectrochemical characterisation of electrosynthesised titanium dioxide deposits on stainless steel substrates*”. Electrochimica Acta, 51 (2006) 2076-2087.
- [214] Palmas, S., Polcaro, A.M., Rodríguez, J., Da Pozzo, A., Vacca, A., Mascia, M., Delogu, F. y Ricci, P.C. “*Effect of the mechanical activation on the photoelectrochemical properties of anatase powders*”. International Journal of Hydrogen Energy, 34 (2009) 9662-9670.
- [215] Marugán, J., Christensen, P.A., Egerton, T.A., y Purnama, H. “*Synthesis, characterization and activity of photocatalytic sol-gel TiO₂ powders and electrodes*”. Applied Catalysis B: Environmental, 89 (2009) 273-283.
- [216] Byrne, J.A. y Eggins, B.R. “*Photoelectrochemistry of oxalate on particulate TiO₂ electrodes*”. Journal of Electroanalytical Chemistry, 457 (1998) 61-72.
- [217] Byrne, J.A., Eggins, B.R., Linqette-Mailley, S. y Dunlop, P.S.M. “*The effect of hole acceptors on the photocurrent response of particulate TiO₂ anodes*”. The Analyst, 123 (1998) 2007-2012.
- [218] Uzunova, M., Kostadinov, M., Georgieva, J., Dushkin, C., Todorovsky, D., Philippidis, N., Poullos, I. y Sotiropoulos, S. “*Photoelectrochemical characterisation and photocatalytic*

activity of composite La₂O₃-TiO₂ coatings on stainless steel". Applied Catalysis B: Environmental, 73 (2007) 23-33.

[219] Hitchman, M.L. y Tian, F. "*Studies of TiO₂ thin films prepared by chemical vapour deposition for photocatalytic and photoelectrocatalytic degradation of 4-chlorophenol*". Journal of Electroanalytical Chemistry, 538-539 (2002) 165-172.

[220] Li, J., Zheng, L., Li, L., Xian, Y. y Jin, L. "*Fabrication of TiO₂/Ti electrode by laser-assisted anodic oxidation and its application on photoelectrocatalytic degradation of methylene blue*". Journal of Hazardous Materials B, 139 (2007) 72-78.

[221] Zhao, H., Jiang, D., Zhang, S. y Wen, W. "*Photoelectrocatalytic oxidation of organic compounds at nanoporous TiO₂ electrodes in a thin-layer photoelectrochemical cell*". Journal of Catalysis, 250 (2007) 102-109.

[222] Shinde, P.S., Sadale, S.B., Patil, P.S., Bhosale, P.N., Brüger, A., Neumann-Spallart, M. y Bhosale, C.H. "*Properties of spray deposited titanium dioxide thin films and their application in photoelectrocatalysis*". Solar Energy Materials & Solar Cells, 92 (2008) 283-290.

[223] Leng, W.H., Zhang, Z. y Zhang, J.Q. "*Photoelectrocatalytic degradation of aniline over rutile TiO₂/Ti electrode thermally formed at 600 °C*". Journal of Molecular Catalysis A-Chemical, 206 (2003) 239-252.

[224] Li, X.Z., Li, F.B., Fan, C.M. y Sun, Y.P. "*Photoelectrocatalytic degradation of humic acid in aqueous solution using a Ti/TiO₂ mesh photoelectrode*". Water Research, 36 (2002) 2215-2224.

[225] Gan, W.Y., Lee, M.W., Amal, R., Zhao, H. y Chiang, K. "*Photoelectrocatalytic activity of mesoporous TiO₂ films prepared using the sol-gel method with tri-block copolymer as structure directing agent*". Journal Applied of Electrochemistry, 38 (2008) 703-712.

[226] He, C., Xiong Y., Shu, D., Zhu, X. y Li, X. "*Preparation and photoelectrocatalytic activity of Pt(TiO₂)-TiO₂ hybrid films*". Thin Solid Films, 503 (2006) 1-7.

- [227] Heikkilä, M., Puukilainen, E., Ritala, M. y Leskelä, M. “*Effect of thickness of ALD grown TiO₂ films on photoelectrocatalysis*”. Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry, 204 (2009) 200-208.
- [228] Schoenmakers, G.H., Vanmaekelbergh, D. y Kelly, J.J. “*The mechanism of current-doubling reactions at ZnO photoanodes*”. Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions, 93 (6) (1997) 1127-1132.
- [229] An, T., Xiong, Y., Li, G., Zhu, X., Sheng, G. y Fu, J. “*Improving ultraviolet light transmission in a packed-bed photoelectrocatalytic reactor for removal of oxalic acid from wastewater*”. Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry, 181 (2006) 158-165.
- [230] McMurray, T.A., Byrne, J.A., Dunlop, P.S.M. y McAdams, E.T. “*Photocatalytic and electrochemically assisted photocatalytic oxidation of formic acid on TiO₂ films under UVA and UVB irradiation*”. Journal of Applied Electrochemistry, 35 (2005) 723-731.
- [231] Egerton, T.A., Purnama, H., Purwajanti, S. y Zafar, M. “*Decolouration of dye solution using photoelectrocatalysis and photocatalysis*”. Journal of Advanced Oxidation Technology, 9 (2006) 79-85.
- [232] Rodríguez, J., Gómez, M., Lindquist, S.-E. y Granqvist, C.G. “*Photo-electrocatalytic degradation of 4-chlorophenol over sputter deposited Ti oxide films*”. Thin Solid Films, 360 (2000) 250-255.
- [233] Macedo, L.C., Zaia, D.A.M., Moore, G.J. y de Santana, H. “*Degradation of leather dye on TiO₂: A study of applied experimental parameters on photoelectrocatalysis*”. Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry, 185 (2007) 86-93.
- [234] Adams, W.A., Bakker, M.G. y Quickenden, T.I. “*Photovoltaic properties of ordered mesoporous silica thin film electrodes encapsulating titanium dioxide particles*”. Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry, 181 (2006) 166-173.
- [235] Song, X.-M., Wu, J.-M. y Yan, M. “*Photocatalytic and photoelectrocatalytic degradation of aqueous Rhodamine B by low-temperature deposited anatase thin films*”. Materials Chemistry and Physics, 112 (2008) 510-515.

- [236] Cheng, X.F., Leng, W.H., Liu, D.P., Xu, Y.M., Zhang, J.Q. y Cao, C.N. “*Electrochemical preparation and characterization of surface-fluorinated TiO₂ nanoporous film and its enhanced photoelectrochemical and photocatalytic properties*”. Journal of Physical Chemistry C, 112 (2008) 8725-8734.
- [237] Gan, W.Y., Zhao, H. y Amal, R. “*Photoelectrocatalytic activity of mesoporous TiO₂ thin film electrodes*”. Applied Catalysis A: General, 354 (2009) 8-16.
- [238] Gan, W.Y., Friedmann, D., Amal, R., Zhang, S., Chiang, K. y Zhao, H. “*A comparative study between photocatalytic and photoelectrocatalytic properties of Pt deposited TiO₂ thin films for glucose degradation*”. Chemical Engineering Journal, 158 (2010) 482-488.
- [239] Shinde, P.S., Patil, P.S., Bhosale, P.N., Brüger, A., Nauer, G., Neumann-Spallart, M. y Bhosale, C.H. “*UVA and solar light assisted photoelectrocatalytic degradation of AO7 dye in water using spray deposited TiO₂ thin films*”. Applied Catalysis B: Environmental, 89 (2009) 288-294.
- [240] Ford, R.M. y Harvey R.W. “*Role of chemotaxis in the transport of bacteria through saturated porous media*”, Advance Water Research, 30 (2007) 1608-1617.
- [241] Coulson, J.M., Richardson, J. F., Backhurst, J.R. y Mato Vazquez, F. “*Ingeniería Química (Tomo I)*”. Reverté, 1979.

ANEXO: PUBLICACIONES RELACIONADAS

A continuación se muestra una relación de las publicaciones realizadas durante el desarrollo de esta tesis doctoral.

- [1] Pablos, C., van Grieken, R., Marugán, J., Chowdhury, I. y Walker, S.L. “*Study of bacterial adhesion onto immobilized TiO₂: Effect on the photocatalytic activity for disinfection applications*”. *Catalysis Today* (2013) (in press).
<http://dx.doi.org/10.1016/j.cattod.2012.12.010>
- [2] Marugán, J., van Grieken, R., Pablos, C., Satuf, M.L., Cassano, A.E. y Alfano, O.M. “*Modelling of a bench-scale photocatalytic reactor for water disinfection from laboratory-scale kinetic data*”. *Chemical Engineering Journal* (2012) (in press).
<http://dx.doi.org/10.1016/j.cej.2012.11.082>
- [3] Pablos, C., Marugán, J., van Grieken, R. y Serrano, E. “*Emerging micropollutant oxidation during disinfection processes using UV-C, UV-C/H₂O₂, UV-A/TiO₂ and UV-A/TiO₂/H₂O₂*”. *Water Research*, 47 (2013) 1237-1245.
- [4] Pablos, C., van Grieken, R., Marugán, J. y Muñoz, A. “*Simultaneous photocatalytic oxidation of pharmaceuticals and inactivation of Escherichia coli in wastewater treatment plant effluents with suspended and immobilised TiO₂*”. *Water Science and Technology*, 65.11 (2012) 2016-2023.
- [5] Marugán, J., Bru, D., Pablos, C. y Catalá, M. “*Comparative evaluation of acute toxicity by Vibrio fischeri and fern spore based bioassays in the follow-up of toxic chemicals degradation by photocatalysis*”. *Journal of Hazardous Materials*, 213-214 (2012) 117-122.
- [6] Marugán, J., van Grieken, R., Pablos, C., Satuf, M.L., Cassano, A.E. y Alfano, O.M. “*Rigorous kinetic modelling with explicit radiation absorption effects of the photocatalytic inactivation of bacteria in water using suspended titanium dioxide*”. *Applied Catalysis B: Environmental*, 102 (2011) 404-416.

-
- [7] Pablos, C., van Grieken, R., Marugán, J. y Moreno, B. “*Photocatalytic inactivation of bacteria in a fixed-bed reactor: Mechanistic insights by epifluorescence microscopy*”. *Catalysis Today*, 161 (2011) 133-139.
- [8] Marugán, J., van Grieken, R. y Pablos, C. “*Photocatalytic disinfection of water*”. *Water Disinfection*, Buchanan, Kelly M. (Eds.) ISBN: 978-1-61122-021-6: 1-29, Nova Science Publishers, Hauppauge, New York, 2011.
- [9] van Grieken, R., Marugán, J., Pablos, C., Furones, L. y López, A. “*Comparison between the photocatalytic inactivation of Gram-positive E. faecalis and Gram-negative E. coli faecal contamination indicator microorganisms*”. *Applied Catalysis B: Environmental*, 100 (2010) 212-220.
- [10] Marugán, J., van Grieken, R. y Pablos, C. “*Kinetics and influence of water composition on photocatalytic disinfection and photocatalytic oxidation of pollutants*”. *Environmental Technology*, 31(13) (2010) 1435-1440.
- [11] Marugán, J., van Grieken, R., Pablos, C. y Sordo, C. “*Analogies and differences between photocatalytic oxidation of chemicals and photocatalytic inactivation of microorganisms*”. *Water Research*, 44 (2010) 789-796.
- [12] van Grieken, R., Marugán, J., Sordo, C., Martínez, P. y Pablos, C. “*Photocatalytic inactivation of bacteria in water using suspended and immobilized silver-TiO₂*”. *Applied Catalysis B: Environmental*, 93 (2009) 112-118.
- [13] van Grieken, R., Marugán, J., Sordo, C. y Pablos, C. “*Comparison of the photocatalytic disinfection of E.coli suspensions in slurry, wall and fixed-bed reactors*”. *Catalysis Today*, 144 (2009) 48-54.