



UNIVERSIDAD DE ORIENTE
NÚCLEO DE SUCRE
INSTITUTO OCEANOGRÁFICO DE VENEZUELA
POSTGRADO EN CIENCIAS MARINAS
PROGRAMA DE MAESTRÍA MENCIÓN BIOLOGÍA MARINA



**COMPARACIÓN DE DOS FOTOTRATAMIENTOS (FOTOCATÁLISIS CON
DIÓXIDO DE TITANIO Y FOTÓLISIS DIRECTA) COMO MÉTODOS
ALTERNATIVOS PARA DEPURAR AGUA DE MAR DESTINADA A LA
ACUICULTURA**

TRABAJO DE GRADO PRESENTADO POR:

Licdo. José Félix Bernal Caraballo

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OPTAR AL TÍTULO DE MAGISTER
SCIENTIARUM EN CIENCIAS MARINAS, MENCIÓN BIOLOGÍA MARINA

Cumaná, 2017



TG - 03-2017

UNIVERSIDAD DE ORIENTE
CONSEJO DE ESTUDIOS DE POSTGRADO
NÚCLEO DE SUCRE
POSTGRADO EN CIENCIAS MARINAS

ACTA DE DEFENSA DE TRABAJO DE GRADO

Nosotros, *Dr. Miguel Guevara*, *Dr. Francisco Alfonso Pérez*, *M.Sc. Karla Rivas*, *M.Sc. María Iabichella*, integrantes del jurado designado por la Comisión Coordinadora del Programa de Postgrado en Ciencias Marinas, para examinar el Trabajo de Grado intitulado: **“COMPARACIÓN DE DOS FOTOTRATAMIENTOS (FOTOCATÁLISIS CON DIÓXIDO DE TITANIO Y FOTÓLISIS DIRECTA) COMO MÉTODOS ALTERNATIVOS PARA DEPURAR AGUA DE MAR DESTINADA A LA ACUICULTURA”**, presentado por el **Lcdo. José Félix Bernal Caraballo**, C.I.: **9.939.686**, a los fines de cumplir con el requisito legal para optar al grado de *Magister Scientiarum* en Ciencias Marinas, Mención Biología Marina.

Hacemos constar que hemos examinado el mismo e interrogado al postulante en sesión pública celebrada hoy, a las 9:00 a.m., en la Sala de Reuniones “Dr. Pedro Roa Morales”, del Instituto Oceanográfico de Venezuela.

Finalizada la defensa del trabajo por parte del postulante, el jurado decidió APROBARLO por considerar, sin hacerse solidario de las ideas expuestas por el autor, que el mismo, se ajusta a lo dispuesto y exigido en el Reglamento de Estudios de Postgrado de la institución.

En fe de lo anterior, se levanta la presente acta, que firmamos conjuntamente con la Coordinadora del Postgrado en Ciencias Marinas en la ciudad de Cumaná, a los quince días del mes de febrero de dos mil diecisiete.

Jurado Examinador:

Dr. Miguel Guevara

(Tutor).....

C.I.: 9.284.641

Dr. Francisco Alfonso Pérez

(Co-tutor).....

C.I.: 3.845.061

M.Sc. Karla Rivas

C.I.: 14.498.670

M.Sc. María Iabichella

C.I.: 5.082.666

Coordinadora Programa de Postgrado:

Dra. Mary Isabel Segnini de Bravo

C.I.: 3.818.434

Firma y Sello



**COMPARACIÓN DE DOS FOTOTRATAMIENTOS (FOTOCATÁLISIS CON
DIÓXIDO DE TITANIO Y FOTÓLISIS DIRECTA) COMO MÉTODOS
ALTERNATIVOS PARA DEPURAR AGUA DE MAR DESTINADA A LA
ACUICULTURA**

APROBADO POR:



Prof. Miguel Guevara

Asesor

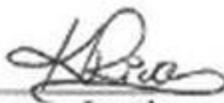


Prof. Francisco Pérez

Co-asesor



Jurado



Jurado

INDICE

DEDICATORIA.....	I
AGRADECIMIENTOS.....	II
LISTA DE FIGURAS.....	III
LISTA DE TABLAS.....	IV
RESUMEN.....	VI
INTRODUCCIÓN.....	1
METODOLOGÍA.....	6
Características del Reactor Solar.....	6
Ensayo 1. Evaluación físico-química y microbiológica del agua de mar sometida a dos fototratamientos (FH-TiO ₂ y FD) durante diferentes intervalos de tiempo.	7
Fotocatálisis heterogénea con dióxido de titanio (FH-TiO ₂).....	7
Fotólisis directa (FD).....	7
Análisis físico-químicos.....	7
Análisis Microbiológicos.....	8
Ensayo 2. Cultivo de la microalga <i>Tetraselmis chuii</i> con agua de mar proveniente del fototratamiento seleccionado.	9
Ensayo 3. Alimentación del rotífero <i>Brachionu plicatilis</i> usando la microalga <i>T. chuii</i> cultivada con agua de mar proveniente del fototratamiento seleccionado.	11
Cultivo de rotíferos.....	11
Ensayo 4. Evaluación del tiempo de desinfección efectiva del agua de mar sometida al fototratamiento seleccionado.	12
Análisis de resultados.....	13
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	14
Evaluación físico-química y microbiológica del agua de mar sometida a dos fototratamientos (FH-TiO ₂ y FD) durante diferentes intervalos de tiempo.	14
Resultados obtenidos con 0,25 g/L de TiO ₂	14
Análisis físico-químicos.....	14
Análisis Microbiológicos.....	17
Bacterias mesófilas (Unidades formadoras de colonias, UFC/ mL).....	17
Hongos(Unidades formadoras de colonias, UFC/mL).....	19
Cultivo de la microalga <i>Tetraselmis chuii</i> en agua de mar tratada con FH-TiO ₂ durante 180 minutos.	23
Alimentación del rotífero <i>Brachionus plicatilis</i> con la microalga <i>T. chuii</i> , cultivada en agua de mar tratada con FH-TiO ₂ durante 180 min.	24
Evaluación del tiempo de desinfección efectiva (TDE) del agua de mar sometida a FH-TiO ₂ durante 180 min.	26
Bacterias mesófilas (Unidades formadoras de colonias, UFC/mL).....	26
Hongos (Unidades formadoras de colonias, UFC/mL).....	27
CONCLUSIONES.....	32
RECOMENDACIONES.....	33
BIBLIOGRAFÍA.....	34
HOJA DE METADATOS.....	41

DEDICATORIA

A Dios todopoderoso.

A mis hijos: Mariana Valentina y Félix Manuel, la alegría de mi vida y mi gran impulso para seguir adelante.

A mi amada esposa Claudimar, por ser mi gran amor y apoyo incondicional.

A mi querida madre, por su determinación, valores y principios, los cuales me han enseñado a afrontar y ver la vida con empeño y constancia.

A los compañeros colegas y amigos entre ellos: Miguel, Rora, Lolymar, Rafa, Bere, Peñuela, que trabajan en el Laboratorio de Biotecnología de Microalgas, por ser no solo un equipo de trabajo excelente, también un equipo de gran calidad humana.

A nuestra querida Alma Mater, Universidad de Oriente, nuestra segunda casa.

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, mi más profundo agradecimiento al Dr. Miguel Guevara, no solo como asesor y docente, sino también como amigo siempre dedicado, dispuesto a brindarnos sus conocimientos, sus orientaciones y la manera incansable de trabajar, lo cual nos motivan a seguir su ejemplo como investigador y docente, igualmente al Prof. Alfonzo Pérez, por sus sugerencias y confianza depositada en nuestro equipo del Laboratorio de Cultivo de Microalgas para llevar a cabo este trabajo.

Agradecer los consejos y apoyo recibidos por colegas del Departamento de Biología, que han servido de estímulo para continuar hacia adelante como el Prof. José Imery, GedioMarín, Jorge Muñoz, mi compadre Edgar Zapata, también colegas del IOV-UDO, que han servido de estímulo como el Dr. Luis Freites, al Dr. Baumar Marín, profesores y amigos.

Al Consejo de Investigación de la Universidad de Oriente por la subvención de esta investigación a través del proyecto: CI. 02-030601-1903-14

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Esquema del proceso de fotocatalisis. Tomado de HERRMANN, 2005.....	3
Figura 2. Esquema del reactor solar.	6
Figura 3. Valores de pH del agua de mar sometida a dos fototratamientos (FH-TiO ₂ y FD) durante diferentes intervalos de tiempo.	16
Figura 4. Valores de temperatura del agua de mar sometida a dos fototratamientos (FH-TiO ₂ y FD) durante diferentes intervalos de tiempo.	16
Figura 5. Unidades formadoras de colonias (UFC/mL) de bacterias mesófilas en el agua de mar sometida a dos fototratamientos (FH-TiO ₂ y FD) durante diferentes intervalos de tiempo.	17
Figura 6. Unidades formadoras de colonias (UFC/mL) de hongos en agua de mar sometida a dos fototratamientos (FH-TiO ₂ y FD) durante diferentes intervalos de tiempo.	20
Figura 7. Crecimiento poblacional de <i>T. chuii</i> cultivada en agua de mar tratada con.....	24
Figura 8. Crecimiento poblacional del rotífero <i>B. plicatilis</i> alimentado con la microalga	25
Figura 9. Crecimiento de bacterias mesófilas (UFC/mL) en agua de mar, expuesta durante 180 min a FH-TiO ₂ y dejada en reposo durante diferentes intervalos de tiempo (tiempo de desinfección efectiva, TDE).	26
Figura 10. Crecimiento de hongos (UFC/mL) en agua de mar, expuesta durante 180 min a FH-TiO ₂ y dejada en reposo durante diferentes intervalos de tiempo (tiempo de desinfección efectiva, TDE).	28

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Resultado de la ANOVA II realizado a partir de las unidades formadoras de colonias (UFC/mL) de bacterias mesófilas en el agua de mar sometida a dos fototratamientos (FH-TiO ₂ y FD) durante diferentes intervalos de tiempo.....	18
Tabla 2. Prueba de rango múltiples basado en el número de unidades formadoras de colonias (UFC/mL) de bacterias mesófilas en el agua de mar sometida a dos fototratamientos (FH-TiO ₂ y FD).	18
Tabla 3. Prueba de rango múltiples basado en el número de unidades formadoras de colonias (UFC/mL) de bacterias mesófilas en el agua de mar sometida a dos fototratamientos (FH-TiO ₂ y FD) durante diferentes intervalos de tiempo.....	18
Tabla 4. Resultado de la ANOVA II realizado a partir de las unidades formadoras de colonias (UFC/mL) de hongos en el agua de mar sometida a dos fototratamientos (FH-TiO ₂ y FD) durante diferentes intervalos de tiempo.....	20
Tabla 5. Prueba de rango múltiples basado en el número de unidades formadoras de colonias (UFC/mL) de hongos en el agua de mar sometida a dos fototratamientos (FH-TiO ₂ y FD).	20
Tabla 6. Prueba de rango múltiples basado en el número de unidades formadoras de colonias (UFC) de hongos en el agua de mar sometida a dos fototratamientos (FH-TiO ₂ y FD) durante diferentes intervalos de tiempo.	21
Tabla 7. Análisis de varianza de las unidades formadoras de colonias (UFC/mL) de bacterias mesófilas en el agua de mar expuesta durante 180 min a FH-TiO ₂ y dejada en reposo durante diferentes intervalos de tiempo.	26
Tabla 8. Prueba de rango múltiples basado en el número de unidades formadoras de colonias (UFC/ mL) de bacterias mesófilas en agua de mar, expuesta durante 180 min a FH-TiO ₂ y dejada en reposo durante diferentes intervalos de tiempo.....	27
Tabla 9. Análisis de varianza de las unidades formadoras de colonias (UFC/mL) de hongos en el agua de mar expuesta durante 180 min a FH-TiO ₂ y dejada en reposo durante diferentes intervalos de tiempo.....	28

Tabla 10. Prueba de rango múltiples basado en el número de unidades formadoras de colonias (UFC/ mL) de hongos en agua de mar, expuesta durante 180 min a FH-TiO₂ y dejada en reposo durante diferentes intervalos de tiempo..... 28

RESUMEN

El agua utilizada en la acuicultura debe presentar excelente calidad microbiológica de manera que garantice el éxito de la producción en la acuicultura. Con este fin, esta industria utiliza como métodos de desinfección del agua, tratamientos con cloro, filtración y uso de radiación ultravioleta, que además de ser costosos, pueden generar compuestos residuales altamente tóxicos. Ante este escenario, la presente investigación planteó el uso de la fotólisis directa (FD) o desinfección solar y la fotocatalisis heterogénea con dióxido de titanio (FH-TiO₂) como métodos para la desinfección de agua de mar destinada para la acuicultura. La metodología empleada consistió en evaluar las características físico-químicas y microbiológicas del agua de mar sometida a dos fototratamientos (FH-TiO₂ y FD) durante diferentes intervalos de tiempo y analizar el uso del agua fototratada en los cultivos de la microalga *Tetraselmis chuii* y del rotífero *Brachionus plicatilis*. Los resultados obtenidos evidenciaron que la FH-TiO₂ durante 180 min fue el tratamiento que produjo el menor índice microbiológico (mesófilos aerobios totales: 207 UFC/mL y hongos: 1233 UFC/mL), se observó además que los parámetros de crecimiento de la microalga *T. chuii*, cultivada con el agua fototratada con FH-TiO₂, mostraron diferencias no significativas con los obtenidos en los cultivos controles. De igual forma, los parámetros de crecimiento del rotífero *B. plicatilis* alimentados con *T. chuii*, producida en agua fototratada con FH-TiO₂, fueron estadísticamente similares a los obtenidos en los cultivos controles. Por último, el tiempo de desinfección efectivo (TDE) fue de 48 horas (260 UFC/mL de bacterias mesófilas y 1200 UFC/mL de hongos). A partir de allí, estos microorganismos se desarrollaron rápidamente. Los resultados de esta investigación demuestran que la FH-TiO₂ es una tecnología que puede aportar soluciones innovadoras en el tratamiento del agua para la acuicultura.

Palabras clave: Fotólisis, fotocatalisis, bacterias, hongos, cultivos

INTRODUCCIÓN

La acuicultura es una actividad con un fuerte componente científico-técnico que se encuentra asociada a diversas disciplinas tales como la biología, ingeniería y economía, con a finalidad de maximizar la producción de organismos acuáticos cultivados, como peces, moluscos, crustáceos, algas, entre otros (FAO, 2006; MERINO & SAL, 2007). Aprovechando los recursos de cada área para mejorar y maximizar la producción de organismos.

En la actualidad, la producción proveniente de la acuicultura se estima en 64 millones de toneladas (FAO, 2012) y para lograr su sustentabilidad es necesario intensificar los cultivos, valiéndose de la tecnología que permita el óptimo tratamiento del agua, el cual es el recurso más utilizado en esta actividad (CASTELLO, 1993; FAO, 2006; MERINO & SAL, 2007).

El agua destinada para las labores de acuicultura es tratada con métodos convencionales, tanto físicos como químicos. Entre los métodos físicos se incluyen: filtración, tratamiento en autoclaves, pasteurización y la irradiación con luz ultravioleta (COUTTEAU, 2005). Estos métodos a pesar de ser efectivos en el tratamiento del agua presentan desventajas; en el caso de la filtración, ésta no remueve metales ni compuestos orgánicos tóxicos y además la velocidad de filtración disminuye al saturarse los filtros (MADIGAN *et al.*, 2000; LEAL, 2005; COUTTEAU, 2005).

Con respecto a los métodos químicos que más se emplean en acuicultura para eliminar bacterias y otros seres vivos se encuentran la ozonización y cloración, las cuales presentan una serie de desventajas, como la presencia de compuestos residuales, altamente tóxicos para los organismos cultivados (COUTTEAU, 2005; LITTER & LEAL, 2005).

En los últimos años, se han realizado investigaciones tendientes a la búsqueda de métodos alternativos para el tratamiento de agua destinada a la acuicultura, entre los que destacan la fotólisis directa (FD) y la fotocatalisis heterogénea con dióxido de titanio (FH-TiO₂). El primer método utiliza la radiación solar (UV-A e infrarrojo) para la desinfección de agua, mediante su exposición directa al sol, mientras que la fotocatalisis con dióxido de titanio es un proceso promovido también por energía UV, capaz de excitar a un semiconductor (catalizador), desarrollándose en su superficie reacciones de óxido-reducción en la que participan radicales altamente oxidantes ($\cdot\text{OH}^{\cdot}$, y $\cdot\text{O}_2^{\cdot}$) que degradan la

materia orgánica, destruyen las bacterias e impiden su recuperación al causar daño celular irreversible (FUJISHIMA *et al.*, 2000; IBÁÑEZ *et al.*, 2003 & GELOVER *et al.*, 2004).

La FD destruye microorganismos como las bacterias, las cuales son vulnerables en el espectro de luz UV-A (longitud de onda 320-400 nm), debido al daño fotoquímico de sus ácidos nucleicos. Los nucleótidos absorben la radiación UV, produciéndose unión entre los nucleótidos adyacentes, creando moléculas dobles o dímeros. La formación de un número suficiente de dímeros dentro de un microorganismo impide su reproducción, debido a que imposibilita la duplicación y transcripción del ADN (WRIGHT & CAIRNS, 2000). La principal ventaja de la FD es su simplicidad, ya que no necesita de una gran infraestructura; sin embargo, sus desventajas radican en que se requiere suficiente radiación solar. Se ha demostrado que la efectividad de la FD está directamente relacionada con la intensidad de la radiación solar y con los tiempos de exposición. Otra desventaja es que la FD es ineficiente para tratar grandes volúmenes de agua y aguas que presenten mucha turbidez (WRIGHT & CAIRNS, 2000; RINCÓN *et al.*, 2005).

Por otra parte, la FH-TiO₂ es un método que se enmarca dentro de los denominados Procesos Avanzados de Oxidación, PAOs (Advanced Oxidation Processes, AOPs). Esta técnica se basa en la capacidad de generar radicales hidroxilo en suficiente cantidad como para afectar a la purificación del agua. La FH-TiO₂, a diferencia de la mayoría de los procesos fotoquímicos, no es selectiva y puede emplearse para tratar mezclas complejas de contaminantes, utilizando la radiación solar como fuente primaria de energía (GLAZE *et al.*, 1987; BLANCO *et al.*, 1994).

Según HERRMAN (2005), (Fig. 1), cuando en la nanopartícula de TiO₂ incide luz suficientemente energética ($\lambda < 387$ nm), como para igualar o superar la diferencia de energía entre la banda de valencia (BV) y la banda de conducción (BC), tiene lugar la excitación de un electrón de la banda de valencia (BV) hacia la banda de conducción (BC). De esta manera se crea un espacio vacío en la banda de conducción, al cual se le denomina un hueco, con características similares a las del electrón pero de carga positiva. Estos huecos se mueven hacia la superficie del semiconductor y en la interfase reaccionan con los iones OH⁻ y/o con las moléculas de H₂O para formar radicales libres hidroxilo ([•]OH). Por otra parte, los electrones generados simultáneamente con los huecos, reaccionan con el oxígeno molecular para formar radicales superóxido y peróxido de hidrógeno; tanto el

radical superóxido como el peróxido de hidrógeno generan a su vez más radicales hidroxilo. Estos radicales hidroxilo ($\cdot\text{OH}$) presentan un elevado potencial de oxidación ($E^\circ = 2.8 \text{ V}$), lo que permite la completa mineralización de muchas sustancias orgánicas, quedando como residuos CO_2 y H_2O (FUJISHIMA *et al.*, 2000; IBÁÑEZ *et al.*, 2003; GARCÉS *et al.*, 2004).

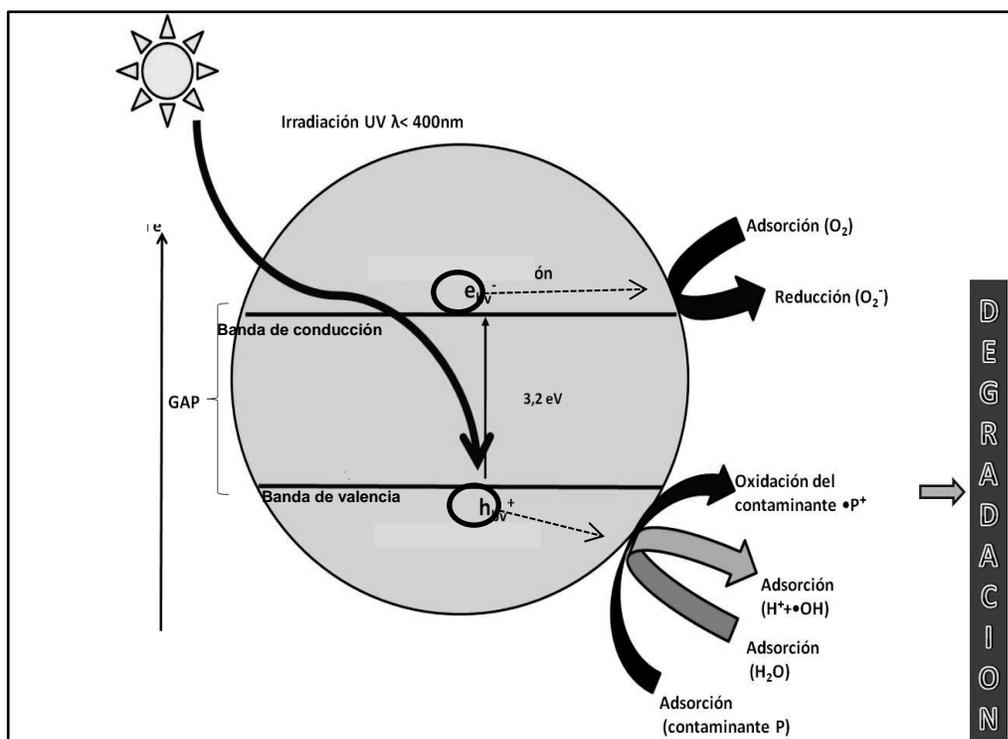


Figura 1. Esquema del proceso de fotocatalisis. Tomado de HERRMANN, 2005.

La FH-TiO₂ presenta una serie de ventajas con respecto a los métodos convencionales y a la FD, estas ventajas incluyen: la transformación y tratamiento de contaminantes químicos a muy baja concentración (por ejemplo, ppb), disminución de la concentración de compuestos residuales originados por métodos químicos y menor consumo de energía. Entre las limitantes que posee este método, se incluye su ineficiencia para tratar grandes volúmenes de agua o muestras de agua que posean elevadas concentraciones de contaminantes. Pero a pesar de estas limitaciones, la FH-TiO₂ en fase líquida ofrece un amplio campo de aplicaciones que le permite competir con los tratamientos convencionales (MALDONADO *et al.*, 2010).

En cuanto a las aplicaciones de estas técnicas, tenemos los trabajos de RINCÓN *et al.* (2005), quienes compararon el efecto bactericida de la FD y FH-TiO₂ en *Escherichia coli*,

ambas técnicas fueron eficientes, pero con la FH-TiO₂ este proceso fue tres veces más rápido que el logrado con la FD. De igual forma, CLAURE (2006) logró la inactivación total de bacterias coliformes fecales en muestras de dos litros de agua al exponerlas al sol durante 8 horas. UBOMBA-JASWA *et al.* (2008) igualmente inactivaron *E. coli* enteropatógena. Además, demostraron que existe una sinergia entre la radiación ultravioleta y temperatura.

La FH-TiO₂ se ha aplicado en diversos campos, tal como lo demuestran los siguientes trabajos: ROBERTSON *et al.* (1997) demostró la efectividad de la fotocatalisis con TiO₂ en la degradación de microcistina, la cual es una toxina hepatotóxica en mamíferos, producida por algunas cianobacterias. JARAMILLO & PABÓN (2002) utilizaron luz artificial (lámparas UV) para activar el catalizador (TiO₂) en el tratamiento de efluentes industriales contaminadas con fenol; los resultados obtenidos mostraron la reducción en un 96% de la concentración inicial de este compuesto. CHO *et al.* (2004) demostraron una correlación lineal positiva entre las concentraciones de OH⁻ y las tasas de inactivación de *E. coli*, durante el proceso fotocatalítico. GELOVER *et al.* (2004) comprobaron la efectividad de la FH-TiO₂ en la inactivación de coliformes totales y parásitos (huevos de helmintos), disminuyendo las concentraciones de estos organismos a los 30 minutos de exposición, mientras que los huevos de helminto, la fotocatalisis redujo la viabilidad de estos parásitos a cero en seis horas de exposición al sol. GOGNIAT & DUKAN (2007) demostraron que los radicales •OH producen daños en el ADN de *E. coli*. HARRELKAS *et al.* (2008) lograron eliminar más del 90% del color y además redujeron los contaminantes químicos tóxicos en textiles que contenían antraquinonas y ftalocianina al aplicar FH-TiO₂ dióxido de titanio inmovilizado. GARCÍA *et al.* (2008) inactivaron huevos de helmintos mediante FH-TiO₂ en aguas residuales de Cuernavaca. MACHUCA & COLINA (2011) trataron mezclas de pesticidas con FH-TiO₂, obteniendo la degradación completa de estas sustancias. VENEGAS (2011) aplicó fotocatalisis en aguas residuales proveniente de un campo de acuicultura intensiva, obteniendo como resultado la degradación de la materia orgánica, permitiendo además su esterilización y reutilización. PANTOJA-ESPINOZA *et al.* (2015), inactivaron bacterias *E. coli* y coliformes totales presentes en efluentes municipales de Salamanca, España, mediante fotólisis (radiación UV-C) y FH-TiO₂.

Por todo lo expuesto anteriormente, la FD y la FH-TiO₂ son metodologías que podrían aportar soluciones innovadoras para el tratamiento de agua destinada a las labores

de acuicultura; por lo que esta investigación planteó la evaluación de ambos métodos para depurar agua de mar destinada a la acuicultura.

METODOLOGÍA

Características del Reactor Solar

El reactor solar constó de dos tubos de vidrio de 5 mm de espesor (Fig. 2a y 2b), 3,6 cm de diámetro, 60 cm de largo y una reducción de 1,14 cm en cada extremo. Ambos tubos, se conectaron entre sí, por uno de sus extremos reducidos, a través de una manguera plástica de 30 cm de largo (Fig. c). Uno de los tubos (Fig. 2a) drenaba el agua, a través de una manguera al reservorio y el otro tubo (Fig. 2b) se conectó a una bomba de ½ pulgada (HP/450 de 110 voltios y 8w de potencia), inmersa en el reservorio (Fig. b), el cual contenía 4 L de agua de mar filtrada. Esta agua fue impulsada (33 mL/seg), con la ayuda de la bomba, a través de los tubos de vidrio, haciendo de esta manera un circuito cerrado.

El reactor se colocó sobre una mesa, forrada en papel aluminio, manteniendo una inclinación de 45° con respecto a la horizontal. La misma se ubicó en uno de los jardines del Instituto Oceanográfico de Venezuela para que recibiera luz solar.

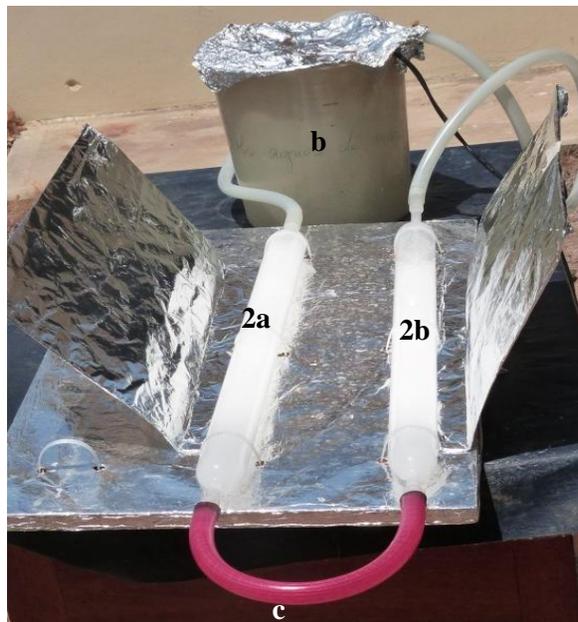


Figura 2. Esquema del reactor solar.

Ensayo 1. Evaluación físico-química y microbiológica del agua de mar sometida a dos fototratamientos (FH-TiO₂ y FD) durante diferentes intervalos de tiempo.

Los fototratamientos se realizaron en las horas de mayor intensidad solar (10 am – 3 pm).

Fotocatálisis heterogénea con dióxido de titanio (FH-TiO₂)

El TiO₂ utilizado es marca Sigma P-25, con un área superficial entre 51 y 55 m²/g. con partículas 25 nm. Se evaluaron tres concentraciones de TiO₂ (0,25; 1,0 y 2,5g/L) separadamente, siguiendo las recomendaciones de FERNÁNDEZ *et al.*, (1999); MALATO *et al.* (2004) y RINCÓN *et al.* (2005), para cada concentración se realizaron cuatro bioensayos. En el reservorio se colocaron 4 L de agua de mar (37 ups), filtrada con filtros de cartucho de 10 µm de tamaño de poro y luego se agregó en ésta la cantidad respectiva de TiO₂. Seguidamente, se encendió la bomba y se dejó recircular el sistema reservorio-reactor en oscuridad (protegido con plástico negro) durante 15 minutos para asegurar que la suspensión fuera homogénea. Transcurrido este tiempo se destapó el sistema reservorio-reactor para iniciar así el proceso de fotocatalisis heterogénea (tiempo cero) durante 180 minutos. Desde el tiempo cero y cada 60 minutos, en un matraz Erlenmeyer, previamente esterilizado, se tomaron tres muestras de 50 mL, del agua de mar contenida en el reservorio, para realizar los diferentes análisis físico-químicos y microbiológicos descritos más adelante.

Fotólisis directa (FD)

La FD directa se realizó bajo las mismas condiciones mostradas anteriormente pero sin el uso de TiO₂ igualmente se realizaron cuatro bioensayos. Cabe señalar que los primeros bioensayos realizados correspondieron a la FD, una vez culminados los cuatro ensayos, se prosiguió con la FH-TiO₂. Los análisis físico-químicos y microbiológicos se realizaron siguiendo los lineamientos descritos a continuación:

Análisis físico-químicos

A las muestras de agua, antes, durante y después de ser fototratadas, se les determinó: la temperatura con un termómetro de mercurio de 0,1° C de apreciación, el pH

con un pHmetro marca AP 10 y la salinidad con un refractómetro manual Atago de apreciación de 0,1%.

Análisis Microbiológicos

Bacterias mesófilas (Unidades formadoras de colonias, UFC)

Estas fueron determinadas de acuerdo a las recomendaciones de la APHA (1998). A cada una de las muestras de agua se le realizaron diluciones seriadas. Para ello, se agregó 1 mL de la muestra en un tubo con 9 mL de agua de mar estéril y se homogenizó con la ayuda de un vortex. Esta muestra representó la dilución 10^{-1} . Posteriormente, a partir de ella se tomó 1 mL de la solución y se sembró en un tubo con 9 mL de agua de mar estéril, con lo cual se obtuvo la dilución de 10^{-2} , este procedimiento se repitió para obtener la dilución final de 10^{-3} . De cada una de las diluciones por separado, se tomó 0,1 mL con una pipeta esterilizada y se agregó mediante el método de extensión en placas sobre la superficie de Agar Marino 2216 (Difco), servido en placas de Petri (15 mL). Las placas inoculadas se incubaron 37°C por 24 horas, para posteriormente contar las colonias bacterianas (entre 30 y 300). Un número menor de 30 colonias supone la presencia de errores debido a fluctuaciones estadísticas; por otro lado, un número mayor de 300 puede ser excesivo para contarlas exactamente (MADIGAN *et al.*, 2000). Con los datos obtenidos se calculó el número de unidades formadoras de colonias (UFC/mL) con la siguiente fórmula:

$$\text{UFC/mL} = \frac{\text{NXD}}{\text{V}}$$

Donde:

UFC = unidades formadoras de colonias/ mL

N = n° de colonias

D = dilución

V = Volumen de agua sembrado en mL

Hongos (Unidades formadoras de colonias, UFC)

Estas fueron determinadas de acuerdo a las recomendaciones de APHA (1998). El procedimiento para las diluciones fue similar al proceso que se realizó para las pruebas bacteriológicas, a excepción de la inoculación en las placas. Para ello, se tomó 1 mL de cada dilución, por separado y se colocó en placas de Petri previamente esterilizadas, luego se añadió de 15-20 mL del medio Agar Papa Dextrosa (APD, Difco), previamente fundido a una temperatura de 40 °C; posteriormente, se homogenizó con movimientos giratorios suaves sobre el mesón. Se incubaron a 25 °C durante 5 días, realizando lecturas a las 72 horas para observar el crecimiento de las colonias y efectuar el contaje, seleccionando aquellas placas con un número menor a 150 UFC. Con los datos obtenidos se calculó el número de unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC/L) con la siguiente fórmula:

$$\text{UFC/mL} = \frac{\text{NXD}}{\text{V}}$$

Donde:

UFC = unidades formadoras de colonias/mL

N = n° de colonias

D = dilución

V = Volumen de agua sembrado en mL

Ensayo 2. Cultivo de la microalga *Tetraselmis chuii* con agua de mar proveniente del fototratamiento seleccionado.

El fototratamiento (FD o FH-TiO₂) que produjo el índice microbiológico significativamente menor, de acuerdo con los análisis estadísticos que se realizaron, se seleccionó y se repitió. El agua de mar tratada se utilizó para cultivar a la microalga *T. chuii*, la cual es de uso común en la acuicultura, con lo cual se demostraría sí el agua de mar fototratada puede o no ser usada en las salas de cultivo de microalgas.

La microalga *T. chuii* perteneciente al Banco de Germoplasma de algas de la Universidad de Oriente, ubicado en el Departamento de Biología Pesquera del Instituto Oceanográfico de Venezuela, Universidad de Oriente. Se cultivó, por triplicado, durante 10 días, en matraces de 250 mL de capacidad que contenían 150 mL de agua de mar

proveniente del fototratamiento seleccionado y enriquecida con el medio f/2 (GUILLARD & RYTHER, 1962). Cultivos similares de esta microalga, las cuales sirvieron como controles, se realizaron en agua de mar tratada con la metodología rutinaria del laboratorio (filtración, esterilización en autoclave). Los cultivos se iniciaron con un inóculo de 1×10^5 cel/mL, recibieron aireación constante de 100 mL/min, irradiancia continua de $100 \mu\text{moles/m}^2/\text{s}$ y temperatura de 23 ± 1 °C.

Diariamente, se tomaron alícuotas de 1 mL de cada cultivo, se fijaron con una gota de Lugol al 1% y se contabilizó la densidad poblacional con la ayuda de una cámara de Neubauer de 0,1 mm de profundidad y un microscopio óptico marca LEICA. Para calcular la densidad celular se utilizó la siguiente relación:

$$D=C \times 10.000$$

Donde:

D = Número de células/ mL.

C = Promedio de células contadas en cuatro cuadrantes de la cámara.

10 000 = Constante para convertir de microlitros a mililitros

Los datos de densidad celular se graficaron y a partir de estos gráficos se determinaron las tasas de crecimiento instantáneo y los tiempos de duplicación siguiendo recomendaciones de MADIGAN *et al.* (2000), Estos cálculos se hicieron con las siguientes formulas:

Tasa instantánea de crecimiento

$$K = \frac{\log_{10} X_t - \log_{10} X_0}{0,301(t_t - t_0)} ;$$

Donde:

K= Tasa instantánea de crecimiento (div/ día)

$t_t - t_0$ = Tiempo final e inicial de cultivo.

X_t, X_0 = Densidad celular final e inicial.

Tiempo de duplicación

$$TD = \frac{1}{K} ;$$

Donde:

TD= Tiempo de duplicación (día)

K= Tasa instantánea de crecimiento (div/día)

Ensayo 3. Alimentación del rotífero *Brachionu splicatilis* usando la microalga *T. chuii* cultivada con agua de mar proveniente del fototratamiento seleccionado.

Cultivo de rotíferos

La cepa del rotífero *B. plicatilis* se aisló de las salinas de Araya, Venezuela (10°30'-10°40'N y 63°32'-64°21'W) y se encuentra depositada en la colección de cultivos planctónicos del Laboratorio de Acuicultura, extensión Plancton del Departamento de Biología Pesquera, del Instituto Oceanográfico de Venezuela, Universidad de Oriente.

Los cultivos de *B. plicatilis* se realizaron por cuadruplicado, durante 7 días, en matraces de 500 mL que contenían 250 mL de agua de mar previamente sometida al fototratamiento seleccionado. Los cultivos se iniciaron con una densidad de 100 rotíferos/mL, se mantuvieron con aireación continua (50 mL/min) y se les proporcionó alimentación al inicio del ensayo. Como alimento se utilizó una dieta simple (900.000 cel/mL) de la microalga *T. chuii*, la cual fue cultivada en agua de mar proveniente del fototratamiento seleccionado. Paralelamente, en similares condiciones, se realizaron cultivos de *B. plicatilis* alimentados con la misma microalga, pero cultivada con agua de mar tratada con la metodología rutinaria del laboratorio.

Diariamente se tomaron alícuotas de 1 mL de cada cultivo, se fijaron con una gota de Lugol al 1% y se contabilizó la densidad poblacional con la ayuda de una cámara de Bogorov y una lupa estereoscópica marca LEICA. Los datos de densidad se graficaron y a partir de éstas, se calcularon las tasas de crecimiento instantáneo. Además la fecundidad (número de huevos/hembra) y productividad (rot/L/día) se determinaron mediante las siguientes fórmulas de NAVARRO & YUFERA (1998):

Densidad diaria de rotíferos

$$D=CxFd$$

Donde:

D= Número de rotíferos/mL

C=Promedio de rotíferos contados en la cámara de Bogorov en un volumen conocido.

Fd= Factor de dilución.

Tasa instantánea de crecimiento (K):

$$K = \frac{\ln N_t - \ln N_0}{T}$$

Donde:

K= Tasa instantánea de crecimiento (rotíferos/día)

N₀ = Número inicial de rotíferos

N_t= Número de rotíferos en el tiempo T

T = Tiempo en días

Fecundidad

$$F = \frac{\text{Número de huevos totales}}{\text{Hembras ovadas}}$$

Donde:

F = Fecundidad (huevos/hembra)

Productividad

$$P = \frac{D_{\max} - D_0}{T}$$

Donde:

P = Productividad (Rot/L/día)

D_{max} = Densidad máxima de rotíferos alcanzada al final de la fase de crecimiento exponencial.

D₀ = Densidad inicial de rotíferos.

T= tiempo en días

Ensayo 4. Evaluación del tiempo de desinfección efectiva del agua de mar sometida al fototratamiento seleccionado.

El tiempo de desinfección efectivo (TDE) se llevó a cabo con el propósito de asegurar que no exista recrecimiento bacteriano antes del uso del agua (RINCÓN *et al.*, 2005). Para determinar este parámetro, el agua de mar expuesta al fototratamiento

seleccionado, se almacenó en oscuridad durante 96 horas y cada 24 horas se tomaron muestras para realizar los tratamientos microbiológicos descritos anteriormente.

Análisis de resultados

A los resultados del primer bioensayo donde se realizaron pruebas microbiológicas, se aplicó un ANOVA II, siendo los tratamientos: tipo de fotólisis (fotólisis directa y fotocátalisis con TiO_2) y los tiempos de exposición, con el fin de evidenciar cuál de los dos tratamientos producen efectos bactericida y fungicida en el menor tiempo posible.

A los resultados del segundo bioensayo donde se cultivó la microalga *T. chuii* en agua tratada por métodos convencionales y agua proveniente del fototratamiento seleccionado, se aplicó un ANOVA simple para demostrar si existen diferencias en el crecimiento de la microalga cultivadas en ambos tipos de agua.

A los resultados del tercer bioensayo se aplicó un ANOVA simple para determinar si existen diferencias en los parámetros de crecimiento del rotífero *B. plicatilis* alimentado con la microalga *T. chuii* cultivada en agua tratada por métodos convencionales y agua proveniente del fototratamiento seleccionado.

A los resultados del cuarto ensayo se aplicó un ANOVA simple para determinar si existen diferencias en los diferentes tiempos de desinfección efectiva del agua de mar sometida al fototratamiento seleccionado.

Para el procesamiento de los datos se usó el programa estadístico Statgraphic5.0 siguiendo la metodología SOKAL & ROLF (1987).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Evaluación físico-química y microbiológica del agua de mar sometida a dos fototratamientos (FH-TiO₂ y FD) durante diferentes intervalos de tiempo.

En los ensayos donde se aplicó 1,0 y 2,5 g/L de TiO₂ no hubo inhibición del crecimiento bacteriano ni fúngico. Estos resultados pueden deberse a que estas concentraciones de TiO₂ (1,0 y 2,5 g/L) impiden la penetración de la luz a través de la solución heterogénea, causando un fenómeno de dispersión de la misma y disminuyendo la fotoexcitación, es decir, impide que la radiación atraviese la suspensión más allá de una cierta distancia en el interior del reactor (SAKKAS *et al.* 2007). Sin embargo, BONNET *et al.* (2005) emplearon 1 g/L de TiO₂ para eliminar cepas de *E. coli*, *Lactobacillus* y *Staphylococcus aureus*, en un tiempo de 30 minutos. Según FERNÁNDEZ *et al.* (1999); MALATO *et al.* (2004) y RINCÓN *et al.* (2005) la concentración óptima de TiO₂ tanto para la degradación fotocatalítica de compuestos orgánicos como para la fotodesinfección está entre 0,1 y 5,0 g/L por lo tanto la concentración óptima de TiO₂ dependerá principalmente de la naturaleza del compuesto y la geometría del reactor. Cabe destacar que la concentración de 0,25 g/L, fue la que produjo inhibición del crecimiento bacteriano y fúngico, COLINA & CASTILLA (2013) utilizaron concentraciones de 0,3 g/L de TiO₂, para la degradación del antibiótico dicloxacilina, concentración muy cercana a la utilizada en esta investigación.

A continuación se presentan los resultados obtenidos con la concentración de 0,25 g/L de TiO₂.

Resultados obtenidos con 0,25 g/L de TiO₂

Análisis físico-químicos

pH.

En la figura 3 se puede apreciar el comportamiento del pH del agua de mar sometida a los dos tratamientos ya descritos. En el agua de mar tratada con fotólisis directa, este parámetro no presentó una variación tan marcada, estando el pH inicial en 7,40 y el final en 7,49. Por su parte, en el agua tratada con TiO₂ se puede observar una disminución del pH, desde 7,09 (tiempo inicial) hasta 6,02 (tiempo final). Esta disminución del pH en el agua

fototrada con TiO_2 también fue reseñada por FERNÁNDEZ-IBAÑEZ *et al.* (2000) y es atribuida al consumo de iones OH que tiene lugar en la interfase sólido-líquido de las partículas de semiconductor. Igualmente RINCÓN & PULGARÍN (2004) sugirieron que la disminución del pH es causado por la acumulación de ácidos alifáticos producto de degradación bacteriana. Además, se ha demostrado que los cambios de pH no tienen efectos significativos en la inactivación de algunos grupos bacterianos como coliformes fecales y en la especie *E. coli* (SALIH, 2002; CHO *et al.*, 2004; SEVEN *et al.*, 2004 & RAHMANI *et al.*, 2009)

Temperatura.

En la figura 4 se observa el comportamiento de la temperatura del agua de mar sometida a los dos tratamientos ya descritos. En el agua de mar tratada con fotólisis directa, este parámetro aumentó desde 30,6 °C (temperatura inicial) hasta 33,4 °C (temperatura final). Por su parte, en el agua tratada con TiO_2 , la temperatura aumentó desde 30,6 °C hasta 35,6 °C. Este resultado es debido a que existe una relación directa entre las partículas suspendidas, en este caso el TiO_2 , y la temperatura del agua, las partículas suspendidas absorben la radiación infrarroja, lo que ocasiona un aumento de la temperatura del agua (GÓMEZ-COUSO *et al.*, 2009 & MANDAL, 2014)

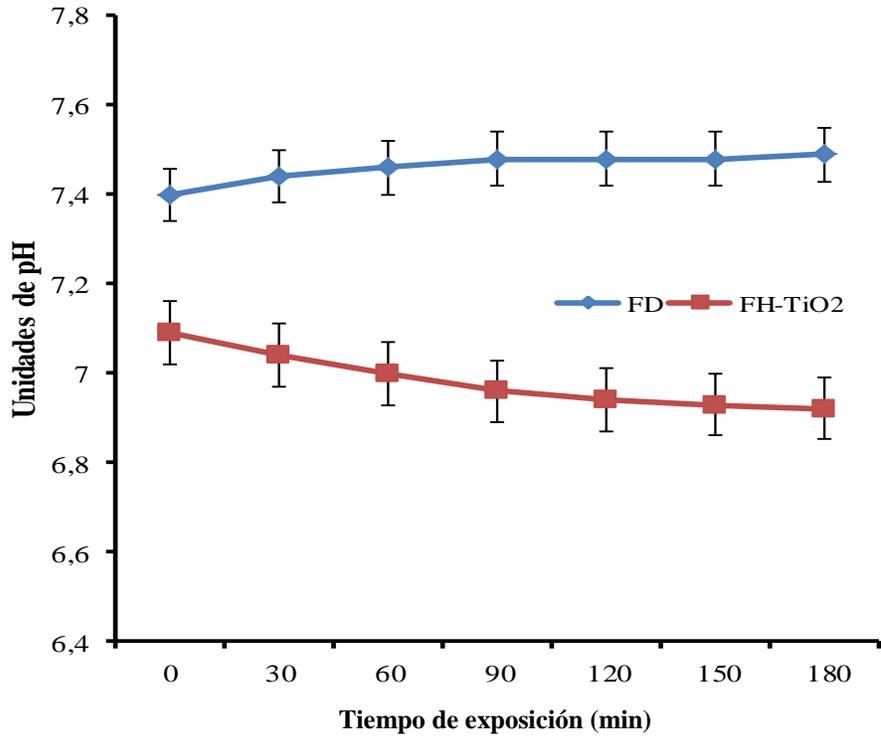


Figura 3. Valores de pH del agua de mar sometida a dos fototratamientos (FH-TiO₂ y

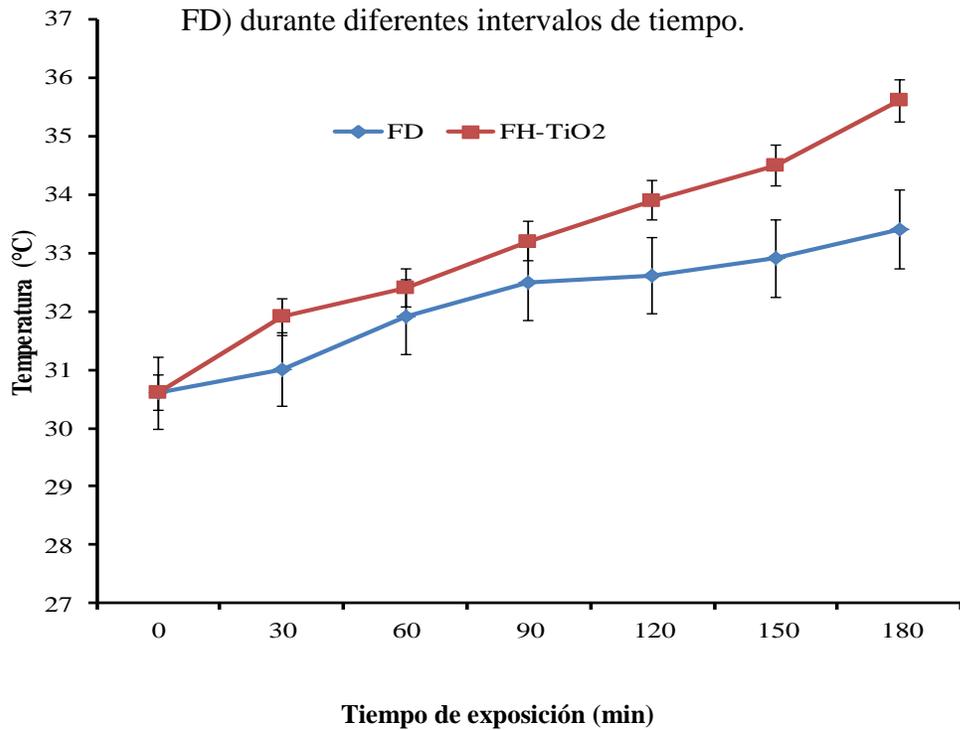


Figura 4. Valores de temperatura del agua de mar sometida a dos fototratamientos (FH-TiO₂ y FD) durante diferentes intervalos de tiempo.

Análisis Microbiológicos

Bacterias mesófilas (Unidades formadoras de colonias, UFC/ mL)

Las UFC/mL de bacterias mesófilas en los dos fototratamientos (FD y FH-TiO₂) fueron incontables durante los primeros 90 minutos de exposición solar. A partir de los 120 minutos, se observó un decrecimiento del número de UFC/mL en ambos fototratamientos, siendo más evidente cuando se aplicó FH-TiO₂ (Fig. 5). En la FD, las UFC/mL disminuyeron desde 8033 (120 minutos) hasta 2733 (180 minutos); por su parte, en la FH-TiO₂ este parámetro decreció desde 2700 (120 minutos) hasta 207 (180 minutos). Las UFC/mL mostraron diferencias significativas ($P < 0,05$) tanto en los fototratamientos ($F = 767,04$) como en los tiempos de exposición ($F = 222,12$) e interacción de ambos factores ($F = 32,27$; tabla 1), siendo la FH-TiO₂ y los 180 minutos los tratamientos más efectivos para causar la disminución significativa de la carga bacteriana mesófila en el agua de mar (tablas 2 y 3).

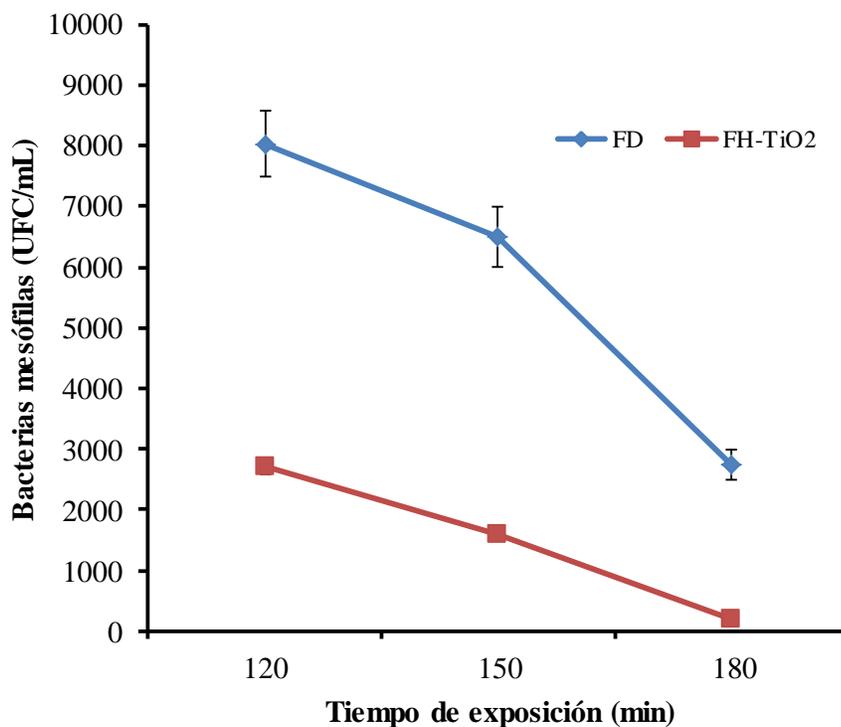


Figura 5. Unidades formadoras de colonias (UFC/mL) de bacterias mesófilas en el agua de mar sometida a dos fototratamientos (FH-TiO₂ y FD) durante diferentes intervalos de tiempo.

Tabla 1. Resultados de la ANOVA II realizados a partir de las unidades formadoras de colonias (UFC/mL) de bacterias mesófilas en el agua de mar sometida a dos fototratamientos (FH-TiO₂ y FD) durante diferentes intervalos de tiempo.

Fuente	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	Razón-F	Valor-P
Efectos principales					
A: Tratamientos	8,14088E7	1	8,14088E7	140,32	0,0000
B: Tiempo	4,7148E7	2	2,3574E7	40,63	0,0000
Interacción					
AB	6,84893E6	2	3,42447E6	32,27	0,0000
Residual	8,12253E6	14	580181,0		
Total (corregido)	1,36679E8	17			

Tabla 2. Prueba de rangos múltiples basado en el número de unidades formadoras de colonias (UFC/mL) de bacterias mesófilas en el agua de mar sometida a dos fototratamientos (FH-TiO₂ y FD).

Método: 95, 0 por ciento Scheffe			
Tratamientos	Casos	LS Media	Grupos homogéneos
FH-TiO ₂	9	1502,22	X
FD	9	5755,56	X

Tabla 3. Prueba de rangos múltiples basado en el número de unidades formadoras de colonias (UFC/mL) de bacterias mesófilas en el agua de mar sometida a dos fototratamientos (FH-TiO₂ y FD) durante diferentes intervalos de tiempo.

Método: 95, 0 por ciento Scheffe			
Tiempo (min)	Casos	LS Media	Grupos homogéneos
180	6	1470,0	X
150	6	4050,0	X
120	6	5366,67	X

Los resultados de la disminución del crecimiento bacteriano obtenidos en los fototratamientos evaluados (FD y FH-TiO₂) guardan relación con los expuestos por numerosos investigadores, los cuales han referido que la FD aumenta su efectividad cuando el tiempo de exposición solares mayor, mientras que la FH-TiO₂ es una técnica que brinda mejores resultados en menos tiempo. De esta manera, MANESS *et al.* (1999) y RODRÍGUES *et al.* (2007) obtuvieron entre 98-100% de mortalidad de *E.coli* en muestras de agua tratadas con FH-TiO₂ durante 30-120 min, BABAEI *et al.* (2016) lograron reducir de manera

significativa el crecimiento de cepas de *Staphylococcus aureus* y *E. coli* al irradiarlas durante 60 min con luz ultravioleta más TiO_2 en suspensión.

En cuanto a la FD DEJUNG *et al.* (2007) al aplicar FD a muestras de agua contaminadas con *E. coli*, *Enterococcus faecalis* y *Pseudomonas aeruginosa* y *Bacillus subtilis*, obteniendo una inactivación del 90% del crecimiento bacteriano después de seis horas de exposición solar, encontrando mayor resistencia en *P. aeruginosa* y *B. subtilis* por la formación de esporas. Recomendando un segundo día de exposición, a fin de mejorar la protección contra estas cepas productoras de esporas. UBOMBA-JASWA *et al.* (2008) redujeron el crecimiento de *E. coli* enteropatógena al exponer muestras de aguas a FD durante 4 horas.

Hongos(Unidades formadoras de colonias, UFC/mL)

De forma similar a los resultados obtenidos con las bacterias mesófilas, las UFC/mL de hongos en los dos fototratamientos (FD y FH- TiO_2) fueron incontables durante los primeros 90 minutos de exposición solar. A partir de los 120 minutos, se observó un decrecimiento del número de UFC/mL en ambos fototratamientos, siendo más evidente cuando se aplicó FH- TiO_2 (figura 6). En la FD, las UFC/mL disminuyeron desde 6066 (120 minutos) hasta 4433 (180 minutos); por su parte, en la FH- TiO_2 este parámetro decreció desde 2500 (120 minutos) hasta 1233 (180 minutos). Las UFC/mL mostraron diferencias significativas ($P < 0,05$) tanto en los fototratamientos ($F = 206,8$) como en los tiempos de exposición ($F = 12$; tabla 4), siendo la FH- TiO_2 (tabla 5) y 180 minutos (tabla 6) los tratamientos más efectivos para causar la disminución de la carga fúngica en el agua de mar.

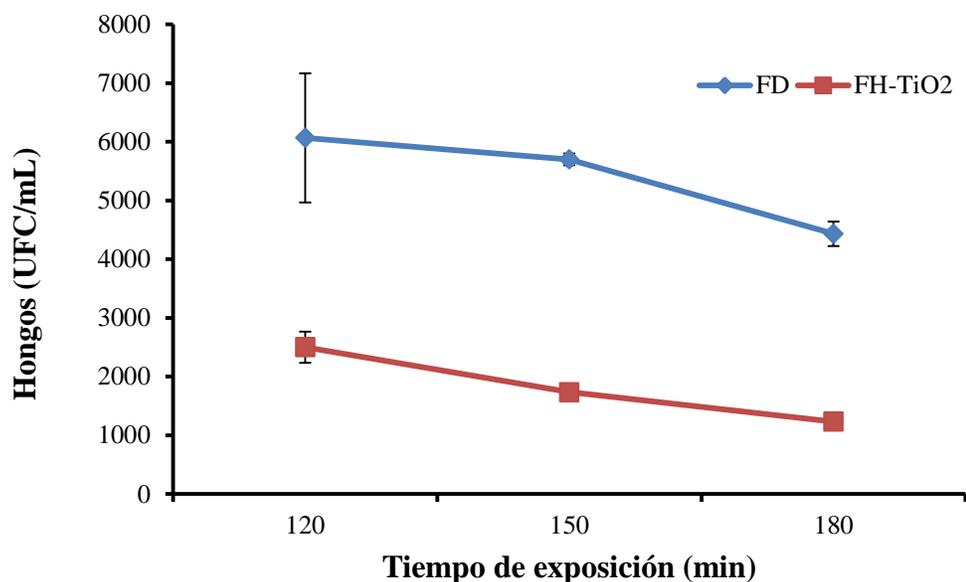


Figura 6. Unidades formadoras de colonias (UFC/mL) de hongos en agua de mar sometida a dos fototratamientos (FH-TiO₂ y FD) durante diferentes intervalos de tiempo.

Tabla 4. Resultados de la ANOVA II realizados a partir de las unidades formadoras de colonias (UFC/mL) de hongos en el agua de mar sometida a dos fototratamientos (FH-TiO₂ y FD) durante diferentes intervalos de tiempo.

Fuente	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	Razón-F	Valor-P
Efectos principales					
A: Tratamientos	5,408E7	1	5,408E7	228,28	0,0000
B: Tiempo	6,30778E6	2	3,15389E6	13,31	0,0006
Interacción					
AB	163333,0	2	81666,7	0,31	0,7386
Residual	3,15333E6	12	262778,0		
Total (Corregido)	6,37044E7	17			

Tabla 5. Prueba de rangos múltiples basado en el número de unidades formadoras de colonias (UFC/mL) de hongos en el agua de mar sometida a dos fototratamientos (FH-TiO₂ y FD).

Método: 95, 0 por ciento Scheffe			
Tratamientos	Casos	Media LS	Grupos homogéneos
FH-TiO ₂	9	1822,22	X
FD	9	5288,89	X

Tabla 6. Prueba de rangos múltiples basado en el número de unidades formadoras de colonias (UFC) de hongos en el agua de mar sometida a dos fototratamientos (FH-TiO₂ y FD) durante diferentes intervalos de tiempo.

Método: 95, 0 por ciento Scheffe			
Tiempo (min)	Casos	LS Media	Grupos homogéneos
120	6	4283,33	X
150	6	3550,0	XX
180	6	2833,33	X

Los resultados de la disminución del crecimiento fúngico obtenidos en los fototratamientos evaluados (FD y FH-TiO₂) se asemejan con los reportados por otros investigadores, los cuales han referido que ambos métodos son efectivos para inhibir el crecimiento de hongos pero con la FH-TiO₂ se reduce el tiempo de exposición. De esta manera, MATSUNAGA *et al.* (1985) lograron eliminar a *Saccharomyces cerevisiae* de muestras de agua, después de 120 min de exposición a FH-TiO₂. CABALLERO (2012) inactivaron hongos fitopatógenos, presentes en muestras de suelo, al exponerlos durante 6 horas a la FH-TiO₂. De igual manera, POLO (2012) logró reducir significativamente el crecimiento de los hongos *Fusarium* y *Phytophthora*, presentes en muestras de agua, al exponerlos durante 5 horas a FH-TiO₂.

Con respecto a la FD, LONNEN *et al.* (2005) lograron reducir de manera significativa el crecimiento de *Candida albicans* y *Fusarium solani* al someterlos a FD durante 8 horas. Por su parte, SICHEL *et al.* (2007) indicaron que *Fusarium* genus, *F. solani* y *F. anthophilum* son eliminados cuando se exponen a FD entre 6 y 8 horas.

Al analizar la influencia que puede ejercer la FD y la FH-TiO₂ sobre las células bacterianas y fúngicas se ha encontrado que FD produce en estos microorganismos una serie de efectos negativos que ocasionan su muerte; estos efectos varían en función del tipo de microorganismo presente en el sistema y del tiempo de exposición. Cuando el microorganismo objeto de inactivación es muy resistente, como es el caso de las esporas de hongos, al ser expuesto a la misma dosis UV solar, los daños son menores. De hecho, se ha demostrado experimentalmente que la acción de la radiación solar no es tan eficiente en la desinfección de aguas contaminadas con esporas de hongos como en la desinfección de suspensiones bacterianas; lo anterior puede deberse a que las esporas, a diferencia de las células vegetativas, son estructuras de resistencia y supervivencia cuya arquitectura biológica está diseñada para soportar factores medioambientales adversos, por lo tanto

requiere de mayor tiempo de tratamiento (SICHEL *et al.*, 2007; BOYLE *et al.*, 2008 & UBOMBA-JASWA *et al.*, 2010). Sin embargo, la FD ha tenido efecto fungicida sobre las esporas de algunos hongos como el caso de *Fusarium* spp, lo cual demuestra que este tratamiento es muy efectivo para la inactivación de microorganismos resistentes, pero para lograr dicha efectividad se requiere mayor tiempo de exposición en comparación a la FH-TiO₂ (UBOMBA-JASWA *et al.*, 2010).

Con respecto al mecanismo de la FH-TiO₂ como método de tratamiento antimicrobiano, los investigadores han señalado que TiO₂, en presencia de luz solar, potencia la formación de especies reactivas de oxígeno (ROS), éstas atacan directamente a las membranas y a las paredes celulares microbianas. El efecto sobre las membranas celulares es derivado de la peroxidación lipídica, lo cual provoca una pérdida de funciones celulares esenciales, como la actividad respiratoria y, finalmente, la muerte celular (MANESS *et al.* 1999; HUANG *et al.*, 2000; GOGNIAT *et al.*, 2007; KIM *et al.*, 2013).

Otros autores también han señalado que las ROS, mediadas por la FH-TiO₂, causan la oxidación de enzimas claves, tales como la Acetil CoA, y la degradación de los polisacáridos de las paredes celulares, lo cual posteriormente conduce hasta la inactivación celular (MATSUNAGA *et al.*, 1988).

Los mecanismos involucrados en la FD como método de inactivación de los microorganismos incluyen daños en el ADN, tales como mutaciones provocadas por la radiación UV-A. Este tipo de radiación produce la formación de dímeros ciclobutanopirimidina (CPDs), los cuales son los dímeros más abundantes y citotóxicos formados tras una exposición a radiación UV (SINHA & HADER, 2002). También pueden ser generados los fotoproductos 6-4 (6-4 PPs, aductos de pirimidina), los cuales pueden ser más letales y mutagénicos que los CPDs. Ambos productos distorsionan la hélice de ADN y si las lesiones no son reparadas, un solo dímero de CPDs es suficiente para inhibir un gen y detener los procesos de replicación y transcripción, impidiendo la lectura del código genético y causando mutaciones y eventualmente la muerte (SINHA & HADER, 2002).

Otro mecanismo que posee la FD es el de la generación de ROS como: el anión superóxido ($\cdot\text{O}_2^-$), peróxido de hidrogeno (H₂O₂), radical hidroxilo ($\cdot\text{OH}$), entre otros, los cuales son generados a bajos niveles de radiación UV que afectan al ADN, produciendo rupturas y alteraciones de la secuencia de bases en la cadena, así como modificaciones en

las bases nitrogenadas que pueden tener consecuencias letales y mutagénicas (IMLAY, 2008; UBOMBA-JASWA *et al.*, 2009). Igualmente, durante la FD, la radiación UV oxida a las proteínas, entre ellas a las enzimas catalasa y superóxido dismutasa, las cuales se encargan de eliminar las ROS generadas por el metabolismo aerobio de los microorganismos (IMLAY, 2008;). Otras vías de generación de especies radicales es la presencia de hierro y H_2O_2 en el interior celular. Éstos, al reaccionar generan radicales hidroxilo que, dada su baja especificidad, atacan cualquier componente celular generando lesiones graves que pueden conducir a la muerte (SPHULER *et al.*, 2010).

Cultivo de la microalga *Tetraselmis chuii* en agua de mar tratada con FH-TiO₂ durante 180 minutos.

El tratamiento más efectivo para disminuir la carga bacteriana y fúngica en el agua de mar, de acuerdo con los análisis estadísticos, fue la exposición solar con TiO₂ durante 180 min (FH-TiO₂). El agua de mar fototratada de esta manera se seleccionó para cultivar a la microalga *T. chuii* y evaluar el tiempo de desinfección efectiva.

El crecimiento poblacional de los cultivos controles (agua de mar filtrada y esterilizada en autoclave) y experimentales (agua de mar tratada con FH-TiO₂ durante 180 min) de la microalga *T. chuii* mostró diferencias no significativas ($P > 0,05$; Fig. 7). Ambos cultivos no presentaron fase de adaptación y, la fase de crecimiento exponencial se prolongó hasta el sexto día, para luego entrar en fase de descenso. La densidad poblacional máxima alcanzada fue de 2×10^6 cel/mL, con una tasa de crecimiento instantáneo (K) y un tiempo de duplicación (TD) de 0,6 div/día y 1,67 días, respectivamente.

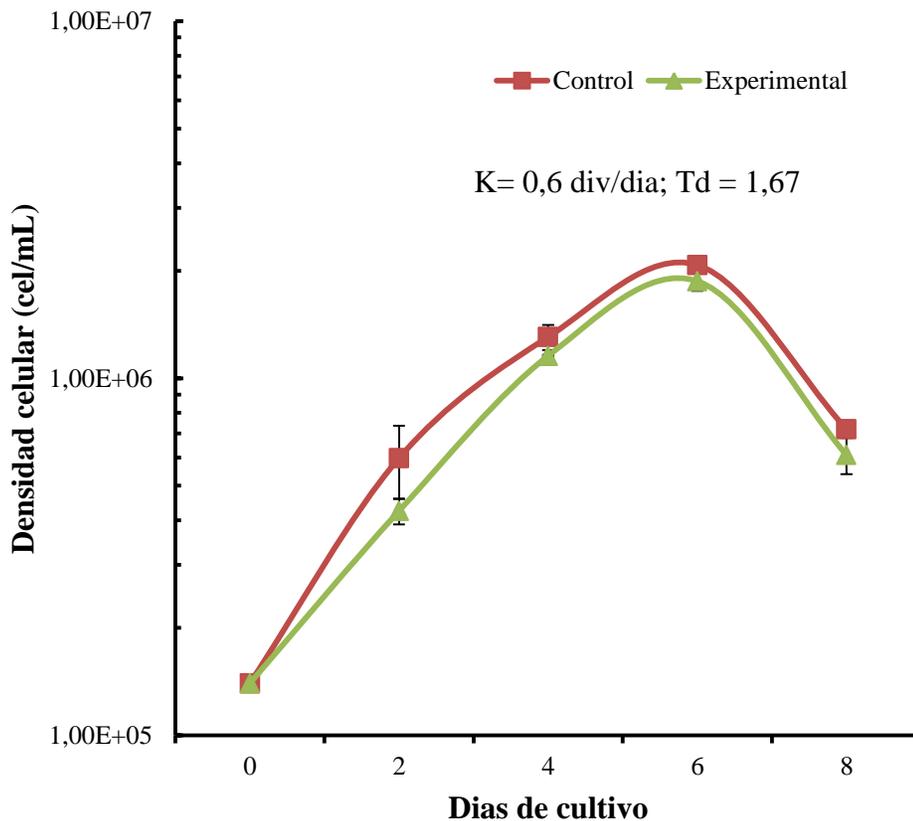


Figura 7. Crecimiento poblacional de *T. chuii* cultivada en agua de mar tratada con FH-TiO₂ durante 180 min.

Este resultado indica que el tratamiento del agua con TiO₂ no afectó el crecimiento de la microalga *T. chuii*, al compararlo con el control. En cuanto a reportes o publicaciones donde se haya cultivado microalgas en agua tratada con fotocátalisis con TiO₂, no se ha encontrado trabajos similares, por lo que los resultados de esta experiencia son inéditos.

Alimentación del rotífero *Brachionus plicatilis* con la microalga *T. chuii*, cultivada en agua de mar tratada con FH-TiO₂ durante 180 min.

En la figura 8 se muestra el crecimiento poblacional de los cultivos controles (alimentados con *T. chuii* cultivada en agua de mar filtrada y esterilizada en autoclave) y experimentales (alimentados con *T. chuii* cultivada en agua de mar tratada con FH-TiO₂ durante 180 min) de *B. plicatilis*. Ambos cultivos mostraron diferencias no significativas ($P > 0,05$) en sus parámetros de crecimiento y se caracterizaron por no presentar fase de

adaptación. La fase de crecimiento exponencial se prolongó hasta el cuarto día, obteniéndose una densidad máxima de 160 rot/mL. La tasa de crecimiento instantáneo, tiempo de duplicación, fecundidad y productividad alcanzaron valores de 0,2 rot/ día; 5 días, 1 huevo/hembra y 25000 rot/L/día, respectivamente.

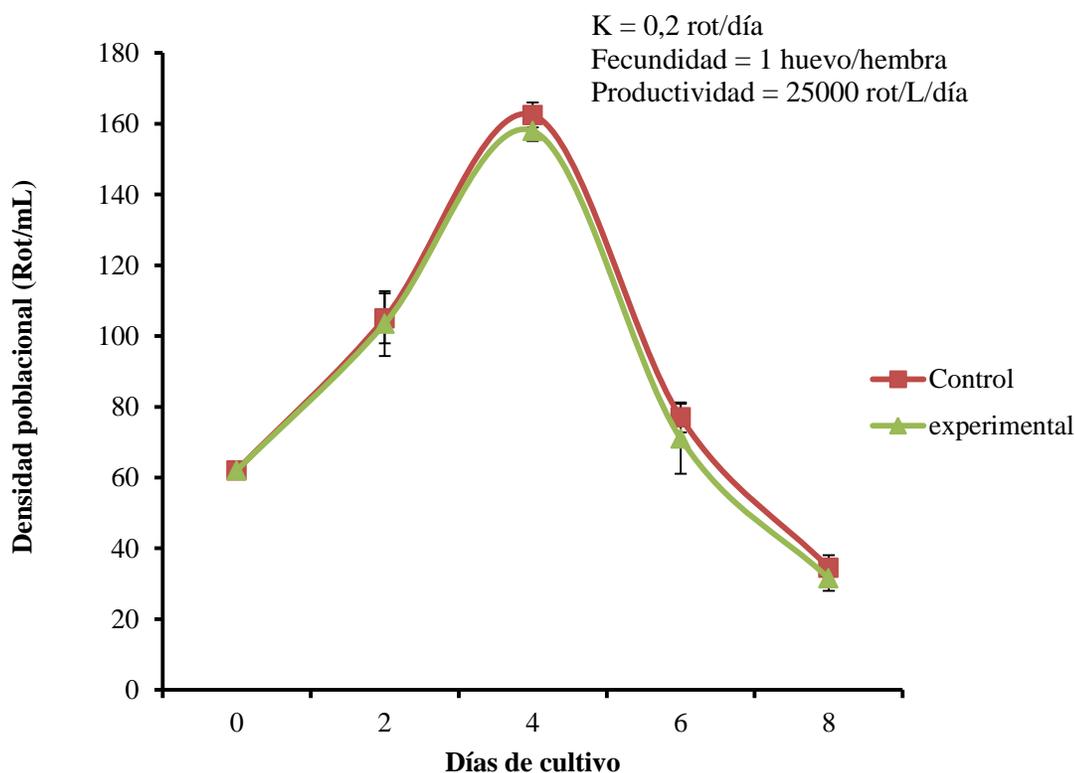


Figura 8. Crecimiento poblacional del rotífero *B. plicatilis* alimentado con la microalga *T. chuii*, cultivada en agua de mar tratada con FH-TiO₂ durante 180 min

En cuanto a reportes o publicaciones donde se haya alimentado rotíferos con microalgas cultivadas en agua tratada con fotocátalisis con TiO₂, no se ha encontrado trabajos similares, por lo que los resultados de esta experiencia son inéditos.

Evaluación del tiempo de desinfección efectiva (TDE) del agua de mar sometida a FH-TiO₂ durante 180 min.

Bacterias mesófilas (Unidades formadoras de colonias, UFC/mL)

En la figura 9 se presenta el crecimiento de bacterias mesófilas (UFC/mL) en agua de mar, expuesta durante 180 min a FH-TiO₂ y dejada en reposo durante 96 horas y analizadas en diferentes intervalos de tiempo. El análisis estadístico reveló diferencias significativas ($P < 0,05$; tabla 7) en el recuento bacteriano durante los diferentes tiempos de muestreo. Se aprecia que hasta las 48 h de reposo, las UFC/mL fueron estadísticamente similares a las observadas en el tiempo 0 (260 UFC/mL; Tabla 8). A partir de allí, el número de bacterias se incrementó significativamente hasta alcanzar 1400 UFC/mL (96 h).

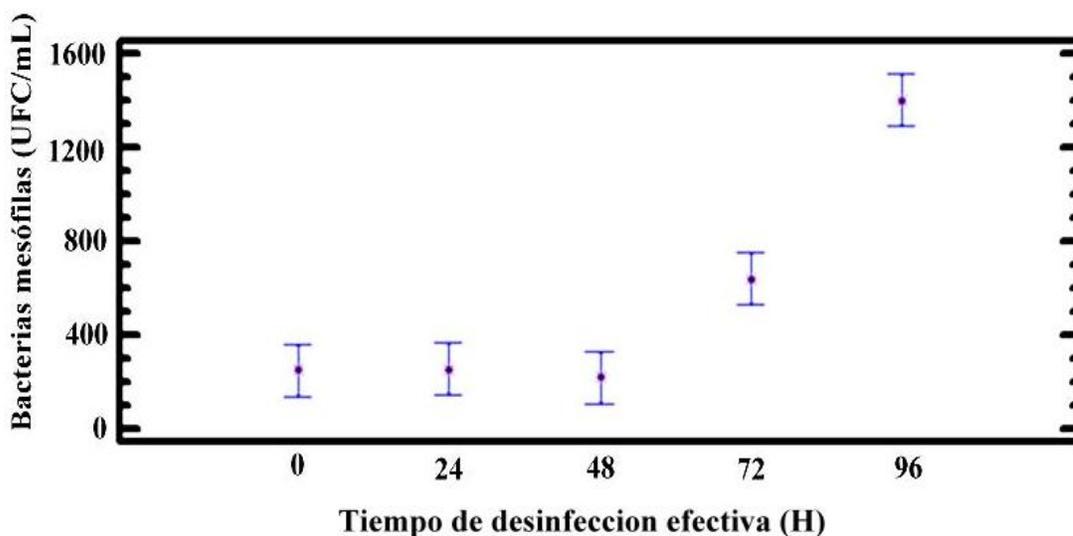


Figura 9. Crecimiento de bacterias mesófilas (UFC/mL) en agua de mar, expuesta durante 180 min a FH-TiO₂ y dejada en reposo durante diferentes intervalos de tiempo (tiempo de desinfección efectiva, TDE).

Tabla 7. Análisis de varianza de las unidades formadoras de colonias (UFC/mL) de bacterias mesófilas en el agua de mar expuesta durante 180 min a FH-TiO₂ y dejada en reposo durante diferentes intervalos de tiempo.

Fuente	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	3,02784E6	4	756960,0	140,87	0,0000
Intra grupos	53733,3	10	5373,33		
Total (corregido)	3,08157E6	14			

Tabla 8. Prueba de rangos múltiples basado en el número de unidades formadoras de colonias (UFC/ mL) de bacterias mesófilas en agua de mar, expuesta durante 180 min a FH-TiO₂ y dejada en reposo durante diferentes intervalos de tiempo.

Método: 95, 0 porciento LSD			
Tiempo de desinfección (horas)	Casos	Media LS	Grupos homogéneos
48	3	223,333	X
0	3	253,333	X
24	3	260,0	X
72	3	640,0	X
96	3	1400,0	X

Investigaciones realizadas por RINCÓN & PULGARÍN (2004) obtuvieron un TDE en muestras de agua contaminadas con *E. coli* y fototratadas con FH-TiO₂ de 60 horas, tiempo de desinfección superior al obtenido en esta investigación (48 horas) los autores indican que la duración del TDE va a depender de la carga bacteriana inicial y de la eliminación total de las bacterias, ya que las sobrevivientes se reproducen en la oscuridad. Por otra parte RINCÓN *et al.* (2005) & IMLAY (2008), explican que el recrecimiento bacteriano, observado después de la aplicación de la FH-TiO₂, también es posible, porque las bacterias, sobrevivientes a los daños causados por las ROS, son capaces de reparar estos daños mediante la activación de mecanismos de defensa, tales como el incremento de la actividad de las enzimas peroxidasa y catalasa, las cuales eliminan el exceso de H₂O₂. Además está involucrada la enzima superóxido dismutasa que elimina el ion superóxido O₂⁻

Hongos (Unidades formadoras de colonias, UFC/mL)

El crecimiento de hongos (UFC/mL) en agua de mar, expuesta durante 180 min a FH-TiO₂ y dejada en reposo durante diferentes intervalos de tiempo se presenta en la figura 9. El recuento fúngico durante los diferentes tiempos de muestreo reveló diferencias significativas (P < 0,05; tabla 9). Se aprecia que hasta las 48 h de reposo, las UFC/mL fueron estadísticamente similares a las observadas en el tiempo 0 (1200 UFC/mL; Tabla 10). A partir de allí, el número de colonias fúngicas se incrementó significativamente hasta alcanzar 3300 UFC/mL (96 h).

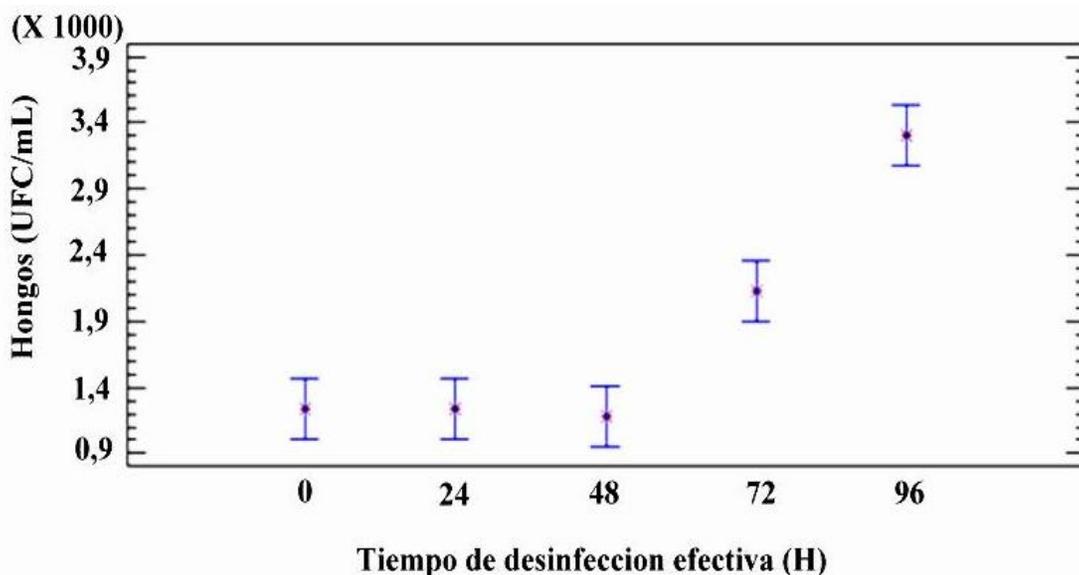


Figura 10. Crecimiento de hongos (UFC/mL) en agua de mar, expuesta durante 180 min a FH-TiO₂ y dejada en reposo durante diferentes intervalos de tiempo (tiempo de desinfección efectiva, TDE).

Tabla 9. Análisis de varianza de las unidades formadoras de colonias (UFC/mL) de hongos en el agua de mar expuesta durante 180 min a FH-TiO₂ y dejada en reposo durante diferentes intervalos de tiempo.

Fuente	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	1,01721E7	4	2,54303E6	110,92	0,0000
Intra grupos	229267,0	10	22926,7		
Total (corregido)	1,04014E7	14			

Tabla 10. Prueba de rangos múltiples basado en el número de unidades formadoras de colonias (UFC/ mL) de hongos en agua de mar, expuesta durante 180 min a FH-TiO₂ y dejada en reposo durante diferentes intervalos de tiempo.

Método: 95, 0 por ciento LSD			
Tiempo de desinfección (horas)	Casos	Media LS	Grupos homogéneos
48	3	1176,67	X
24	3	1233,33	X
0	3	1233,33	X
72	3	2133,33	X
96	3	3300,0	X

Con respecto a los hongos, hasta la fecha no se han publicado datos donde se evalúe el TDE, posterior a la aplicación de la fotocatalisis heterogénea en hongos. Sin embargo el recrecimiento fúngico se puede explicar por la naturaleza de la pared celular, la cual es estructuralmente diferente a la de las bacterias, y además los hongos producen esporas las cuales, son estructuras de resistencia y supervivencia cuya arquitectura biológica está diseñada para soportar factores medioambientales adversos. SICHEL *et al.* (2007) estudiaron el efecto del TiO₂ en distintas especies del género *Fusarium* (*F. equiseti*, *F. oxysporium*, *F. anthophilum*, *F. verticilloides* y *F. solani*) y demostraron que los hongos son inhibidos con suspensiones TiO₂ durante 6 horas; además evidenciaron que la inactivación fotocatalítica de *F. verticillioides* (productor de microconidios) fue más efectiva que *F. equiseti* (productor de macroconidios y clamidosporas). Este estudio constituyó la primera evidencia de que las diferencias estructurales en las esporas parecen determinar su resistencia al tratamiento fotocatalítico.

Con respecto a la carga bacteriana presente en el agua de mar, posterior a la aplicación de FH-TiO₂ durante 180 min, los resultados obtenidos en esta investigación no pueden compararse a los valores permisibles oficiales establecidos para aguas destinadas a la cría, explotación y mantenimiento de la vida acuática; ya que estas normativas expresan sus resultados en número más probable (NMP) y en este trabajo se expresaron en UFC/mL; además, el recuento se realizó con bacterias mesófilas aerobias, las cuales son un grupo indicador de calidad en alimentos. Estas bacterias se definen como un grupo heterogéneo de bacterias capaces de crecer en un rango de temperatura entre 15–45 °C, con un óptimo de 35 °C, siendo la mínima de 15 a 20 °C y la máxima de 45 °C. Su recuento en alimentos, particularmente en bivalvos, implica un riesgo para los consumidores, pues hay que considerar que casi todos los agentes patógenos humanos son mesófilos, como es de esperar, pues la temperatura corporal humana es, casi de forma constante, de 37 °C (Prescott, *et al.*, 2004).

Las normativas de calidad de agua destinadas a la cría, explotación y mantenimiento de la vida acuática utilizan los coliformes totales y fecales como indicadores de calidad. Las normas para la clasificación y control de calidad de los cuerpos de agua y vertidos o efluentes líquidos de Venezuela, están publicados en la Gaceta Oficial de la República Bolivariana de Venezuela N° 5 021 (18 de diciembre de 1995) del antiguo Ministerio del

Ambiente y de los Recursos Naturales (MARN) y clasifica las aguas Aguas marinas o de medios costeros destinadas a la cría y explotación de moluscos consumidos en crudo como tipo 3, las cuales no deben superar los 70 NMP/100 mL coliformes totales y 14 NMP/100 mL coliformes fecales; igualmente las normativas establecidas por la World Health Organization para zonas de cultivo de moluscos, deben estar por debajo de 90 NMP/100 mL coliformes totales y de 10 NMP/100 mL coliformes fecales (WHO, 1999).

A pesar de que no pueden establecerse comparaciones directas sobre la calidad microbiológica del agua de mar tratada con FH-TiO₂ durante 180 minutos (esta investigación) con las expresadas en las normativas vigentes, con relación a su uso en la acuicultura, se puede inferir que la carga de bacterias mesófilas aerobias determinadas en este trabajo (207 UFC/mL a los 180 min de exposición a FH-TiO₂ y 260 UFC/mL después de 48 horas de reposo) están dentro de los límites permisibles, pues según la Norma Oficial Mexicana, NOM-027-SSA1-1993, el límite máximo de mesófilos aerobios en el agua de uso acuícola es de 10 000 000 UFC/mL.

Finalmente, los resultados de esta investigación demuestran que la FH-TiO₂ es una tecnología que pudiera aportar soluciones innovadoras en el tratamiento del agua para la acuicultura, dado que se evidenció por una parte, la reducción de la microbiota bacteriana y fúngica y por la otra se constató el crecimiento de la microalga *T. chuii* en agua fototratada con esta técnica y del rotífero *B. plicatilis* alimentado con esta microalga.

Otra ventaja que presenta la FH-TiO₂, a diferencia de las usadas tradicionalmente, es que no origina subproductos letales como en el caso del cloro; además, la Agencia de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos (FDA-USA) permite su inclusión como ingrediente para cremas dentales, cápsulas y suspensiones orales y preparaciones dermatológicas; también es usado en pinturas, papeles y jugos (SKOCAJ *et al.* 2011). Sin embargo, a pesar del amplio uso del TiO₂, su implementación para el tratamiento de aguas es un tema polémico, ya que muchos investigadores reportan que el TiO₂ en forma de nanopartículas (<100 nm) pudiera ser tóxico en los ecosistemas y en los seres humanos, dado que al originar estrés oxidativo en presencia de luz UV-A, producen daños celulares, genotoxicidad, inflamación, respuestas inmunológicas, etc. (SKOCAJ *et al.*, 2011). Este último planteamiento permite sugerir que las investigaciones relacionadas con el uso de

FH-TiO₂ para la depuración de agua con fines acuícolas deben continuar a fin de asegurar su inocuidad.

CONCLUSIONES

La fotocatalisis con FH-TiO₂, demostró ser más efectiva que la FD en la inactivación o inhibición del crecimiento de bacterias y hongos.

El crecimiento de la microalga *T. chuii* no se vio afectado al ser cultivada con agua de mar tratada durante 180 min con FH-TiO₂.

El crecimiento de *B. plicatilis* no se vio afectado al ser alimentado con la microalga *T. chuii*, cultivada con agua de mar tratada durante 180 min con FH-TiO₂.

El tiempo de desinfección efectiva alcanzado con la FH-TiO₂, fue de 48 horas, lo cual permite mantener un stock de agua tratada por ese tiempo.

La aplicación de la FH-TiO₂ es una alternativa prometedora para el tratamiento de agua destinada para las actividades acuícolas, debido principalmente a las ventajas de orden económico y ambiental.

RECOMENDACIONES

Comprobar la efectividad del TiO_2 fijado y compararlo con el TiO_2 en suspensión.

Realizar pruebas microbiológicas para comprobar el efecto de la fotocatalisis con TiO_2 sobre los diferentes tipos de microorganismos presentes en agua de mar, utilizando organismos indicadores de la calidad de agua en acuicultura así mismo microorganismos patógenos en especies cultivables de interés comercial

Ampliar los tiempos de exposición solar, para tratar de aumentar la efectividad de los tratamientos de desinfección mediante fotocatalisis con TiO_2 , de igual manera rediseñar los reactores solares de manera de aumentar la eficiencia en el tratamiento aplicado.

Usar otros organismos como camarones, moluscos bivalvos para realizar pruebas y alimentarlos con microalgas cultivadas en agua tratada con FH- TiO_2 y verificar sus parámetros de crecimiento.

BIBLIOGRAFÍA

- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION, AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION & WATER ENVIRONMENT FEDERATION. 1998. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 20th Edition. American Public Health Association (APHA). Washington, DC. USA.
- BLANCO, J.; S. MALATO, D. BAHNEMANN, D. BOCKELMAN, F. WEICHHGREBE & F. MARTÍNEZ. 1994. Proceedings of 7th International Symposium on Solar Thermal Concentrated Technology, 2: 540-550, Moscow, Russia.
- BOYLE, M. C. SICHEL, P. FERNÁNDEZ-IBAÑEZ, G. B. ARIAS-QUIROZ, M. IRIARTE-PUNAA, A. MERCADO, E. UBOMBA-JASWA, & K. G MCGUIGAN. 2008. Bactericidal effect of solar water disinfection under real sunlight conditions. *Applied and Environmental Microbiology*, 74(10): 2997-3001.
- CASTELLÓ, F. 1993. Acuicultura marina. 1ra edición, Ediciones Universidad de Barcelona, España. 739 pp.
- COLINA-MÁRQUEZ, J., D. R. CASTILLA-CABALLERO. 2013. Mineralización fotocatalítica de agua residual contaminada con dicloxacilina comercial en un reactor solar CPC a escala piloto. *Ingeniería y Competitividad*, 15 (1): 161-169.
- CABALLERO, A. 2012. Evaluación del efecto del control biológico, vaporización, fotólisis UV y fotocátalisis con TiO₂ sobre *Fusarium oxysporum* en matriz sólida (suelo) y líquida (agua). Tesis de pregrado. Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia.
- CHO, M., H. CHUNG, W. CHOI, & J. YOON. 2004. Linear correlation between inactivation of *E. coli* and OH radical concentration in TiO₂ photocatalytic disinfection. *Water Research*, 38: 1069–1077.
- CHUNG, C. J.; H. I. LIN, C. M. CHOU, P. Y. HSIEH, C. H. HSIAO, Z. Y. SHI & J. L. HE, 2009. Inactivation of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* under various light sources on photocatalytic titanium dioxide thin film. *Surface and Coating Technology*, 203 (8): 1081-1085.
- CLAURE, M. 2006. Validación del Método SODIS como alternativa para la desinfección del agua en la Ciudad de Catacamas, Departamento de Olancho. Tesis de pregrado. Ingeniería en Desarrollo Socioeconómico y Ambiente. Escuela Agrícola Panamericana, Honduras, 85 pp.
- COLL, J. 1991. *Acuicultura marina animal*. Ediciones Mundi-Prensa. 3^a Edición. Madrid España. 522-567.

- COUTTEAU, P. 2005. *Manual on the production and use of live food for aquaculture* FAO. Fisheries Technical Paper. No. 361
- DEJUNG, S.; I. FUENTES, G. ALMANZA, R. JARRO L. NAVARRO, G. ARIAS, E. URQUIETA, A. TORRICO, W. FERNÁNDEZ, M. IRIARTE, C. BIRRER, W. STAHEL, & M. WEGELIN. 2007. Effect of solar water disinfection (SODIS) on model microorganisms under improved and field SODIS conditions. *Journal of Water Supply Research and Technology*, 56: 245-256.
- FAO. 2006. Fisheries Technical Papers T500. Disponible en: www.fao.org. (Revisada junio 2015).
- FAO. 2012. El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2012. Roma. 231 pp.
- FERNÁNDEZ-IBÁÑEZ, P., S. MALATO & F. J. DE LAS NIEVES. 1999. Relationship between TiO₂ particle size and reactor diameter in solar photoreactors efficiency. *Catalysis Today*, 54: 195-204.
- FERNÁNDEZ-IBÁÑEZ, P.; F. J. DE LAS NIEVES & S. MALATO. 2000. Titanium dioxide/electrolyte solution interface: Electron transfer phenomena. *Journal of Colloid and Interface Science*, 227: 510-516.
- FUJISHIMA A., T. RAO & D. TRYK. 2000. Titanium dioxide photocatalysis. *Journal of Photochemistry and Photobiology*, 1: 1-21.
- GACETA OFICIAL N°. 5021. Extraordinario, del 18-12-1995. Decreto 883 del 11-10-95. Normas para la clasificación y el control de la calidad de los cuerpos de agua y vertidos o efluentes líquidos., p.4. Caracas; D.F. Venezuela.
- GARCÉS, L., E. MEJÍA, & J. SANTAMARÍA. 2004. La fotocatalisis como alternativa para el tratamiento de aguas residuales. *Revista La Sallista de Investigación*, 1 (1): 83-92.
- GARCÍA, J., L. MEJÍA, E. BANDALA & B. CORONA. 2008. Inactivación de huevos de helminto mediante fotocatalisis homogénea. *Aquaforum*, 49: 14-18.
- GELOVER, S.; M. LEAL, K. REYES & L. GÓMEZ. 2004. Desinfección de agua mediante fotocatalisis solar. *Anuario Imta*, 77-82.
- GLAZE, W., J. KANG & D. CHAPIN. 1987, "The chemistry of water treatment processes involving ozone, hydrogen peroxide and ultraviolet radiation". *Ozone Science Engineering*, 9 (4): 335.
- GOGNIAT, G. & S. DUKAN. 2007. TiO₂ Photocatalysis Causes DNA Damage via Fenton Reaction-Generated Hydroxyl Radicals during the Recovery Period. *Applied and Environmental Microbiology*, 73 (23): 7740-7743.

- GÓMEZ-COUSO H.; M. FONTAN-SAINZ, C. SICHEL, P. FERNÁNDEZ-IBAÑEZ, & E. ARES-MAZAS. 2009. Efficacy of the solar water disinfection method in turbid waters experimentally contaminated with *Cryptosporidium parvum* oocysts under real field conditions. *Tropical Medical and International Health*, 14: 620–627.
- GUILLARD, R. & J. RYTHER. 1962. Studies of marine planktonic diatoms, I. *Cyclotella nana* Hustedt and *Detonula confervacea* (Cleve) Gran. *Canadian Journal Microbiology*, 8: 229-325.
- HARRELKAS, F., A. PAULO, M. ALVES, L. KHADIR, O. ZAHRAA, M. PONS & F. VAN DER ZEE. 2008. Photocatalytic and combined anaerobic–photocatalytic treatment of textile dyes. *Chemosphere*, 72: 1816–1822.
- Herrmann, J. M. 2005. Heterogeneous photocatalysis: state of the art and present applications. *Topics in Catalysis*, 34 (1–4): 49-65
- HUANG, Z.; P. C. MANESS, D. M. BLAKE, E. J. WOLFRUM, S. L. SMOLINSKI & W. A. JACOBY. 2000. Bactericidal mode of titanium dioxide photocatalysis. *Journal of Photochemistry and Photobiology a Chemistry*, 130 (2-3): 163-170.
- IBAÑEZ, J. A., M. LITTER & M. PIZARRO. 2003. “Photocatalytic Bactericidal Effect of TiO₂ on *Enterobacter cloacae* Comparative Study with other Gram (-) bacteria”. *Journal of Photochemistry and Photobiology a Chemistry*, 81-85.
- IMLAY, J. A. (2008). Cellular defenses against superoxide and hydrogen peroxide. *Annual Review of Biochemistry*, 77: 755-776.
- IRELAND, J., P. KLOSTERMANN, E. RICE, & R. CLARK. 1993. Inactivation of *Escherichia coli* by Titanium dioxide photocatalytic oxidation. *Applied and Environmental Microbiology*, 1668-1670.
- JACOBY W., B. MANESS, E. J. WOLFRUM, D. M. BLAKE & J. A. FENNELL. 1998. Mineralization of bacterial cell mass on a photocatalytic surface in air. *Environmental Science Technology*, 37 (17): 2650-2653.
- JARAMILLO, G. & J. A. PABÓN. 2002. Fotodegradación de fenoles en aguas residuales industriales. *Ingeniería Química*, 4: 117-122.
- KIM S. & W. CHOI 2002. Kinetics and mechanisms of photocatalytic degradation of (CH₃)_nNH_{4-n}⁺ (0 ≤ n ≤ 4) in TiO₂ suspension: the role of OH radicals. *Environmental Science Technology*, 36: 2019–2025.
- KIM, S.; K. GHAFOR, J. LEE, M. FENG, J. HONG, D. UN LEE & P. PARK. 2013. Bacterial inactivation in water, DNA strand breaking, and membrane damage induced by ultraviolet-assisted titanium dioxide photocatalysis. *Water Research*, 47: 4403-4411.

- LEAL, M. 2005. Tecnologías convencionales de tratamiento de agua y sus limitaciones. En *Solar Safe Wáter*. Capítulo 4. San Martín, Argentina. 63-72.
- LONNEN, J.; S. KILVINGTONA, S.C. KEHOEB, F. AL-TOUATIC, & K. MCGUIGAN. 2005. Solar and photocatalytic disinfection of protozoan, fungal and bacterial microbes in drinking water. *WaterResearch*, 39: 877–883.
- LITTER, M. 2005. Tecnologías avanzadas de oxidación: tecnologías solares. En *Solar Safe Wáter*. Capítulo 5. San Martín, Argentina. 153-170.
- MACHUCA, F. & J. COLINA. 2011. Efecto del pH inicial y la concentración del catalizador en la fotodegradación de tres pesticidas comerciales. *Ingeniería y Desarrollo*, 1(29): 101-125.
- MADIGAN, M., J. MARTINKO & J. PARKER. 2000. *Biología de los Microorganismos*. 9na edición. Prentice Hall. Inc. New Jersey. 1089 pp.
- MALATO S., J. BLANCO, M. MALDONADO, P. FERNÁNDEZ, D. ALARCÓN, M. COLLARES, J. FARINHA & J. CORREIA. 2004. Engineering of solar photocatalytic collectors. *Solar Energy*, 77: 513-524.
- MALDONADO, M., S. SUÁREZ, N. MIRANDA-GARCÍA & B. SÁNCHEZ. 2010. *Fotocatálisis solar mediante TiO₂ inmovilizado*, en Tecnologías de tratamiento de aguas para su reutilización. España, Madrid. 89-109.
- MANDAL, H. K. 2014. Assessment of wastewater temperature and its relationship with turbidity. *Science and Technology*, 6 (1): 258-262.
- MANESS, P.; S. SMOLINSKI, D. BLAKE, Z. HUANG, E. WOLFRUM, & W. JACOBY. 1999. Bactericidal Activity of Photocatalytic TiO₂ Reaction: toward an Understanding of Its Killing Mechanism. *Applied and Environmental Microbiology*, 65 (9): 4094–4094.
- MATSUNAGA, T.; R. TOMODA, T. NAKAJIMA, & H. WAKE, 1985. Photoelectrochemical sterilization of microbial cells by semiconductor powders. *FEMS Microbiology Letters*, 29: 211-214.
- MERINO, O. & F. SAL. 2007. *Sistemas de Recirculación y Tratamiento de agua*. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos. Argentina. 37 pp.
- NAVARRO, N. & M. YÚFERA. 1998. Influence of the food ration and individual density on production efficiency of semicontinuous cultures of *Brachionus* fed microalgae dry powder. *Hydrobiologia*, 387/388: 483-487.
- NOM-027-SSA1-1993.1993. Norma Oficial Mexicana *Bienes y Servicios*. *Productos de la pesca*. *Pescados frescos-refrigerados y congelados*. Especificaciones sanitarias.

- PANTOJA-ESPINOZA, J. C., J. B. PROAL-NÁJERA, M. GARCÍA-ROIG, I. CHÁIREZ-HERNÁNDEZ & G. I. OSORIO-REVILLA. 2015. Eficiencias comparativas de inactivación de bacterias coliformes en efluentes municipales por fotólisis (UV) y por fotocatalísis (UV/TiO₂/SiO₂). Caso: depuradora de aguas de Salamanca, España. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 14 (1): 119-135.
- PETER K., J. ROBERTSON. L. LAWTON, B. MUNCH & J. ROUZADE. 1997. Destruction of cyanobacterialtoxinsby semiconductor photocatalysis. *Chemistry Communication*, 393-394.
- POLO, M. 2012. Inactivación de Fitopatógenos presentes en Agua mediante fotocatalísis Solar. Tesis doctoral. Universidad de Almería, España. pp 335.
- PRESCOTT, L., J. Y. HARLEY & D. KLEIN. 2004. *Microbiología*. Quinta edición. McGraw-Hill, Interamericana, Madrid España. 1149 pp.
- RAHMANI A. R., M. R. SAMARGHANDI, M. T. SAMADI & F. NAZEMI. 2009. Photocatalytic Desinfection of Coliform Bacteria Using UV/TiO₂. *Journal Health Science*, 9 (1): 1-6
- REED, R. H. 1997. Solar inactivation of faecal bacteria in water: the critical role of oxygen. *Applied Microbiology*, 24: 1-5.
- REITAN, K. 2011. Digestion of lipids and carbohydrates from microalgae (*Chaetoceros muelleri* Lemmermann and *Isochrysis aff. galbana* clone T-ISO) in juvenile scallops (*Pectenmaximus* L.). *Aquaculture Research*, 42: 1530-1538.
- RINCÓN, A. G. & C. PULGARÍN. 2004. Effect of pH, inorganic ions, organic matter and H₂O₂ on *E. coli* K12 photocatalytic inactivation by TiO₂ implications in solar water disinfection. *Applied Catalysis B: Environmental*, 51 283-302
- RINCÓN, A., S. GIRALDO, & C. PULGARÍN. 2005. Desinfección de agua por fotocatalísis. Aspectos básicos” en *Solar Safe Wáter*. Capítulo 13. San Martin, Argentina. 203-226.
- ROBERTSON P. K., L. A. LAWTON, B. M. & J. ROUZADE. 1997. Destruction of cyanobacterial toxins by semiconductor photocatalysis. *Chemistry Communications*, 393-394.
- RODRIGUES, C.; R. ZIOLLI, & J. GUIMARÃES. 2007. Inactivation of *Escherichia coli* in Water by TiO₂-assisted Disinfection using Solar Light. *Journal Brazilian Chemistry Society*, 18 (1): 126-134.
- SAKKAS V., P. CALZA, C. MEDANA, A. VILLIOTI, C. BAIOCCHI, E. PELIZZETTI & T. ALBANIS. 2007. Heterogeneous photocatalytic degradation of the pharmaceutical agent salbutamol in aqueous titanium dioxide suspensions. *Applied Catalysis B: Environmental*, 77, 135-144.
- SALIH F. M. 2002. Enhancement of solar inactivation of *Escherichia coli* by titanium dioxide photocatalyticoxidation. *Journal Applied Microbiology*, 92 (5): 920-926.

- SEVEN O, B. DINDAR S. AYDEMIR, D. METIN, M. A. OZINEL & S. ICLI. 2004. Solar photocatalytic disinfection of a group of bacteria and fungi aqueous suspensions with TiO₂, ZnO and Sahara desert dust. *Journal Photochemistry Photobiology a: Chemistry*, 165: 103-107.
- SICHEL, C.; M. DE CARA, J. TELLO, J. BLANCO & P. FERNÁNDEZ-IBAÑEZ. 2007. Solar photocatalytic disinfection of agricultural pathogenic fungi: *Fusarium* species. *Applied Catalysis B: Environmental*, 74: 152-160.
- SKOCAJ, M., M., F. J. PETKOVIC & S. NOVAK. 2011. Titanium dioxide in our everyday life; is it safe?. *Radiology and Oncology*, 45(4): 227-247.
- SOKAL R. & F. ROHLF. 1987. *Introduction to biostatistics*. 2da edición. New York, United States of America, 190 pp.
- SMITH, R. J., S. C., KEHOE, K. G. MCGUIGAN, & M. R. BARER. 2000. Effects of simulated solar disinfection of water on infectivity of *Salmonella typhimurium*. *Applied Microbiology*, 31, 284-288.
- SINHA, R.P. & HADER, D.P. 2002. UV-induced DNA damage and repair. *Photochemical and Photobiological Science*, 1: 225-236.
- SPUHLER, D.; J. A. RENGIFO-HERRERA & C. PULGARÍN, 2010. The effect of Fe²⁺, Fe³⁺, H₂O₂ and the photo-Fenton reagent at near neutral pH on the solar disinfection (SODIS) at low temperatures of water containing *Escherichia coli* K12. *Applied Catalysis B: Environmental*, 96: 126-141.
- UBOMBA-JASWA, E, M. Boyle & K. McGuigan. 2008. Inactivation of enteropathogenic *E. coli* by solar disinfection (SODIS) under simulated sunlight conditions. *Journal of Physics*, 10: 1742-6596.
- UBOMBA-JASWA, E.; C. NAVNTOFT, M. I. POLO-LÓPEZ, P. FERNÁNDEZ-IBAÑEZ, & K. G. MCGUIGAN. 2009. Solar disinfection of drinking water (SODIS): An investigation of the effect of UVA dose on inactivation efficiency. *Photochemical & Photobiological Sciences*, 8 (5): 587-595.
- UBOMBA-JASWA, E.; P. FERNÁNDEZ-IBAÑEZ, C. NAVNTOFT, M. I. POLO-LÓPEZ, & K. G. MCGUIGAN. 2010. Investigating the microbial inactivation efficiency of a 25 L batch solar disinfection (SODIS) reactor enhanced with a compound parabolic collector (CPC) for household use. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 85 (8): 1028-1037.
- VÉLEZ, A. & L. FREITES. 1993. Inducción a la reproducción en la vieira (*Pecten*) ziczac (Mollusca: Bivalvia). Maduración y Desove. *Caribbean. Journal Science*, 29: 209-213.

VENEGAS, P.2011. Uso de fotocatalisis heterogénea para el tratamiento de agua en sistemas de recirculacion en la acuicultura intensiva nacional. *MundoAcuícola*, Chile.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). 1999. Health-based monitoring of recreational waters: The feasibility of a new approach (The 'Annapolis protocol'). Geneva, Switzerland.

WRIGHT, H. B & W. L. CAIRNS. 2000. Desinfección de agua por medio de luz ultravioleta. *Trojan Technologies Inc.*

HOJA DE METADATOS

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 1/6

Título	Comparación de dos fototratamientos (fotocatálisis con dióxido de titanio y fotólisis directa) como métodos alternativos para depurar agua de mar destinada ala acuicultura
Subtítulo	

Autor(es)

Apellidos y Nombres	Código CVLAC / e-mail	
José Félix Bernal Caraballo	CVLAC	9.939.686
	e-mail	bjose@udo.edu.ve
	e-mail	
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	

Palabras o frases claves:

fotólisis
fotocatálisis
bacterias
hongos
cultivos

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 2/6

Líneas y sublíneas de investigación:

Área	Subárea
Ciencias	Biología

Resumen (abstract):

El agua utilizada en la acuicultura debe presentar excelente calidad microbiológica de manera que garantice el éxito de la producción en la acuicultura. Con este fin, esta industria utiliza como métodos de desinfección del agua, tratamientos con cloro, filtración y uso de radiación ultravioleta, que además de ser costosos, pueden generar compuestos residuales altamente tóxicos. Ante este escenario, la presente investigación planteó el uso de la fotólisis directa (FD) o desinfección solar y la fotocatalisis heterogénea con dióxido de titanio (FH-TiO₂) como métodos para la desinfección de agua de mar destinada para la acuicultura. La metodología empleada consistió en evaluar las características físico-químicas y microbiológicas del agua de mar sometida a dos fototratamientos (FH-TiO₂ y FD) durante diferentes intervalos de tiempo y analizar el uso del agua fototratada en los cultivos de la microalga *Tetraselmis chuii* y del rotífero *Brachionus plicatilis*. Los resultados obtenidos evidenciaron que la FH-TiO₂ durante 180 min fue el tratamiento que produjo el menor índice microbiológico (mesófilos aerobios totales: 207 UFC/mL y hongos: 1233 UFC/mL), se observó además que los parámetros de crecimiento de la microalga *T. chuii*, cultivada con el agua fototratada con FH-TiO₂, mostraron diferencias no significativas con los obtenidos en los cultivos controles. De igual forma, los parámetros de crecimiento del rotífero *B. plicatilis* alimentados con *T. chuii*, producida en agua fototratada con FH-TiO₂, fueron estadísticamente similares a los obtenidos en los cultivos controles. Por último, el tiempo de desinfección efectivo (TDE) fue de 48 horas (260 UFC/mL de bacterias mesófilas y 1200 UFC/mL de hongos). A partir de allí, estos microorganismos se desarrollaron rápidamente. Los resultados de esta investigación demuestran que la FH-TiO₂ es una tecnología que puede aportar soluciones innovadoras en el tratamiento del agua para la acuicultura..

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 3/6

Contribuidores:

Apellidos y Nombres	ROL / Código CVLAC / e-mail			
Miguel Guevara	ROL	C <input type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/>	A <input checked="" type="checkbox"/> S <input type="checkbox"/>	T <input type="checkbox"/> U <input type="checkbox"/> JU <input type="checkbox"/>
	CVLAC	9284641		
	e-mail	miguevara2003@yahoo.es		
	e-mail			
Francisco Pérez	ROL	C <input type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/>	A <input checked="" type="checkbox"/> S <input type="checkbox"/>	T <input type="checkbox"/> U <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/>
	CVLAC	3845061		
	e-mail	frperez2@hotmail.com		
	e-mail			
Maria Iabichella	ROL	C <input type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/>	A <input type="checkbox"/> S <input type="checkbox"/>	T <input type="checkbox"/> U <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/>
	CVLAC	5082666		
	e-mail			
	e-mail			
Karla Rivas	ROL	C <input type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/>	A <input type="checkbox"/> S <input type="checkbox"/>	T <input type="checkbox"/> U <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/>
	CVLAC	14498670		
	e-mail			
	e-mail			

Fecha de discusión y aprobación:

Año Mes Día

2017	02	15
------	----	----

Lenguaje: **SPA**

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 4/6

Archivo(s):

Nombre de archivo	Tipo MIME
TPGbernal.docx	Application/Word

Alcance:

Espacial: Nacional (Opcional)

Temporal: Temporal (Opcional)

Título o Grado asociado con el trabajo:

Magister Scientarum en Ciencias Marinas, Mención Biología Marina

Nivel Asociado con el Trabajo: **MAGISTER SCIENTARUM**

Área de Estudio: **BIOLOGÍA MARINA**

Institución(es) que garantiza(n) el Título o grado:

UNIVERSIDAD DE ORIENTE

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso -5/6



UNIVERSIDAD DE ORIENTE
CONSEJO UNIVERSITARIO
RECTORADO

CU N° 0975

Cumaná, 04 AGO 2009

Ciudadano
Prof. JESÚS MARTÍNEZ YÉPEZ
Vicerrector Académico
Universidad de Oriente
Su Despacho

Estimado Profesor Martínez:

Cumplo en notificarle que el Consejo Universitario, en Reunión Ordinaria celebrada en Centro de Convenciones de Cantaura, los días 28 y 29 de julio de 2009, conoció el punto de agenda **"SOLICITUD DE AUTORIZACIÓN PARA PUBLICAR TODA LA PRODUCCIÓN INTELECTUAL DE LA UNIVERSIDAD DE ORIENTE EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL DE LA UDO, SEGÚN VRAC N° 696/2009"**.

Leído el oficio SIBI - 139/2009 de fecha 09-07-2009, suscrita por el Dr. Abul K. Bashirullah, Director de Bibliotecas, este Cuerpo Colegiado decidió, por unanimidad, autorizar la publicación de toda la producción intelectual de la Universidad de Oriente en el Repositorio en cuestión.



hago a usted a los fines consiguientes.

Cordialmente,


Secretario



C.C: Rectora, Vicerrectora Administrativa, Decanos de los Núcleos, Coordinador General de Administración, Director de Personal, Dirección de Finanzas, Dirección de Presupuesto, Contraloría Interna, Consultoría Jurídica, Director de Bibliotecas, Dirección de Publicaciones, Dirección de Computación, Coordinación de Telemática, Coordinación General de Postgrado.

JABC/YOC/manqta

Apartado Correos 094 / Telf: 4008042 - 4008044 / 8008045 Telefax: 4008043 / Cumaná - Venezuela

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 6/6

Artículo 41 del REGLAMENTO DE TRABAJO DE PREGRADO (vigente a partir del II semestre de 2009, según comunicación del CU-034-2009): “Los trabajos de grado son de exclusiva propiedad de la Universidad de Oriente y solo podra ser utilizado para otros fines con el consentimiento del Concejo de Nucleo respectivo,



Autor

Dr. Miguel Guevara

(Tutor).....

C.I.: 9.284.641

Dr. Francisco Alfonso Pérez

(Co-tutor).....

C.I.: 3.845.061

M.Sc. Karla Rivas

C.I.: 14.498.670

M.Sc. María Iabichella

C.I.: 5.082.666