

INACTIVACIÓN DE BACTERIAS PRESENTES EN AIRE EMPLEANDO RADIACIÓN UV Y UN FOTOCATALIZADOR

Pirola, Silvana^A

^AINTEC (UNL-CONICET)

Área: Ingeniería
Sub-Área: Ambiental
Grupo: X

Palabras clave: esporos, inactivación, fotocatalizador.

INTRODUCCIÓN

El aire contiene en suspensión diferentes tipos de microorganismos, especialmente bacterias y hongos, que se transportan como bioaerosoles. Algunos se encuentran en forma de células vegetativas, aunque lo más frecuente son las formas esporuladas, ya que los esporos son formas de vida resistentes y menos activas metabólicamente. Los microorganismos esporulados pueden generar enfermedades infecciosas, alergias y reacciones tóxicas (Lee y col., 2011). Es por ello que se plantea la necesidad de eliminarlos de las áreas de trabajo y ámbitos de la vida cotidiana de los seres vivos.

Debido a que los esporos bacterianos son resistentes a la mayoría de las técnicas de desinfección convencionales, se han desarrollado nuevas tecnologías para lograr su eliminación. Una de ellas es la fotocatalisis heterogénea (Guo, et al., 2012; Sánchez, et al., 2012). Éste es un proceso por el cual se generan portadores de carga (huecos y electrones) cuando un semiconductor (catalizador) absorbe radiación UV. Los huecos generados reaccionan con el agua o grupos OH, formando radicales ·OH, los cuales son altamente reactivos y permiten degradar compuestos orgánicos e inorgánicos.

El objetivo del presente trabajo fue estudiar la velocidad de inactivación de esporos de *Bacillus subtilis* (cepa ATCC 6633) mediante radiación UV y el uso de un fotocatalizador (TiO₂), sobre anillos de vidrio tipo Raschig, variando el contenido de catalizador sobre los soportes.

METODOLOGÍA

Obtención de esporos

Se utilizó una suspensión de esporos de *Bacillus subtilis* (cepa ATCC 6633) de 10⁸ UFC/ml. Para la obtención de la cosecha de esporos, se sembró la cepa reactivada en el medio de cultivo de esporulación (Agar Nutritivo, MnSO₄ y MgSO₄) y se incubó por 10 días a 30° C. Luego, las células se extrajeron de la superficie del agar con solución fisiológica estéril. Luego de diversas centrifugaciones, los esporos se resuspendieron en 10 ml de agua destilada estéril y se almacenaron a 4°C durante 2 meses. Se realizó también el recuento de esporos de la suspensión mediante la técnica de recuento en placa por vertido.

Recubrimiento de anillos con TiO₂

Se empleó el catalizador TiO₂ Evonik P 25 en polvo, el cual se inmovilizó sobre anillos de vidrio borosilicato de 5 mm (diámetro) × 10 mm (largo). La inmovilización se logró mediante la técnica de dip-coating, en la cual los anillos se sostienen de forma vertical sobre un soporte mientras son sumergidos en una suspensión de TiO₂ de 150 g/L.

Proyecto: Aplicación de procesos avanzados de oxidación para la inactivación de microorganismos presentes en el aire (PI 50020150100020LI, CAID 2016)

Director del proyecto: Dra. Silvia Mercedes Zacarías

Director del becario: Dra. María Lucila Satuf

Co-director del becario: Dra. Silvia Mercedes Zacarías

Posteriormente son secados en estufa a 110 °C durante 24 hs y son calcinados en mufla a 500 °C durante 2 hs. Para lograr anillos con 2 o 3 recubrimientos, se repitió el proceso descrito previamente.

Dispositivo experimental

El equipo utilizado consta de: 7 lámparas de luz UV-A (7,47 mW cm⁻²), ubicadas en forma paralela y horizontal; un compartimiento de irradiación, donde se coloca el soporte para los anillos, y una placa de Petri con una solución sobresaturada de sulfato de amonio, para mantener una humedad relativa del 70%. El compartimiento se sella con un vidrio de borosilicato en la parte superior (Figuras 1 y 2).



Figura 1. Fotografía del dispositivo experimental (vista superior).

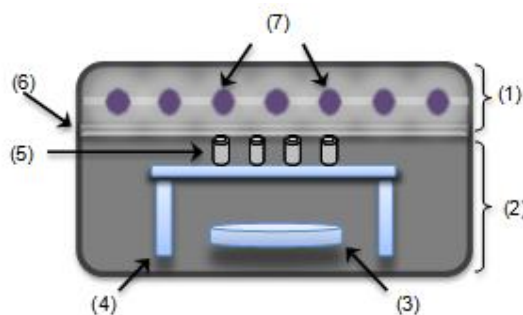


Figura 2. Vista transversal del dispositivo experimental. (1) Sistema emisor de radiación UV, (2) Compartimiento de irradiación, (3) Solución saturada, (4) Soporte, (5) Muestras, (6) Vidrio de borosilicato, (7) Lámparas UV.

Depósito de esporos

Se realizan sobre los anillos de vidrios recubiertos con TiO₂ empleando un nebulizador tipo "Collison" de 6 jets (CN25 MRE Modificado, BGI Instruments). La suspensión de esporos de 10⁸ UFC/ml (previo choque térmico, 80°C durante 10 minutos) se coloca en el nebulizador, a través del cual se hace circular aire sintético. Se realiza la nebulización durante 10 minutos a una presión de 1,33 atm.

Irradiación de las muestras y recuento de esporos viables

Los anillos recubiertos con TiO₂ y nebulizados con esporos se colocaron, en esterilidad, sobre el soporte del compartimiento de irradiación (35°C y 70%HR) y fueron irradiados durante diferentes tiempos (2,5; 5 y 7,5 h). Al finalizar el tiempo de irradiación, sobre cada anillo se realizó un tratamiento para recuperar los esporos presentes en la superficie del mismo. Luego, se procedió a realizar el recuento de esporos viables mediante la técnica de recuento en placa por vertido. Se incubó durante 48 horas a 30°C. Finalmente, se procedió a realizar el recuento de las unidades formadoras de colonias (UFC).

Cinética de inactivación

Los datos experimentales se ajustaron con una ecuación cinética de primer orden:

$$\frac{dN}{dt} = -kN \quad (1)$$

donde N es la concentración de esporos viables (UFC/cm² de soporte), t es el tiempo de irradiación (h) y k es la constante aparente de inactivación (h⁻¹). Al integrar la expresión se obtiene la siguiente ecuación:

$$N = N_0 \exp(-kt) \quad (2)$$

donde N_0 representa la concentración inicial de esporos. Esta última expresión correlaciona el nivel de decaimiento de la viabilidad de los esporos de *B. subtilis* con el tiempo de irradiación de las muestras.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización de los anillos de vidrio recubiertos con TiO₂

El espesor de los recubrimientos de TiO₂ sobre los anillos de vidrio fue calculado mediante imágenes obtenidas en un Microscopio Electrónico de Barrido (SEM, JEOL, JSM-35C) equipado con un sistema de adquisición de imágenes digitales (SemAfore) (**Figura 3**). Los resultados obtenidos se muestran en la **Tabla 1**.

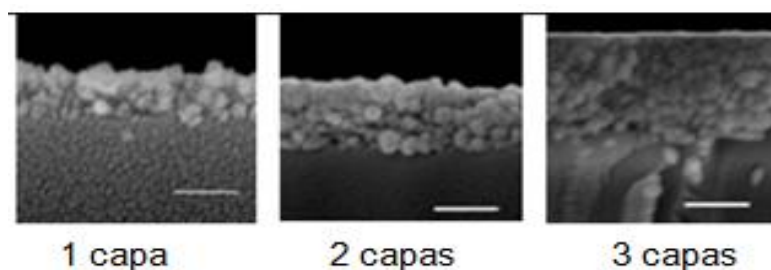


Figura 3. Corte transversal de anillos recubiertos con TiO₂ (barra blanca= 1 μm).

Tabla 1. Espesores promedios y contenido de TiO₂ por unidad de área de los anillos.

	1 Capa	2 Capas	3 Capas
Espesor de TiO ₂ (μm)	0,73	1,22	1,76

Resultados de inactivación

En la **Figura 4** se muestra la concentración adimensional de esporos viables en función del tiempo de irradiación (N/N_0 vs t). Se puede observar la notable reducción de la viabilidad de los esporos depositados sobre los anillos con diferentes recubrimientos de catalizador a lo largo del tiempo. También se observa que la mayor velocidad de inactivación de los esporos se logró sobre los anillos con dos recubrimientos de TiO₂. En la **Tabla 2** se presentan los valores de la constante aparente de inactivación (k) para los anillos con diferente número de recubrimientos de catalizador.

En la **Figura 5** se muestran imágenes SEM de esporos depositados sobre la superficie de los anillos con 2 recubrimientos de TiO₂, antes y después de la irradiación. Se observa claramente el daño producido por la fotocatalisis sobre el esporo, ocasionando alteraciones en su forma y tamaño.

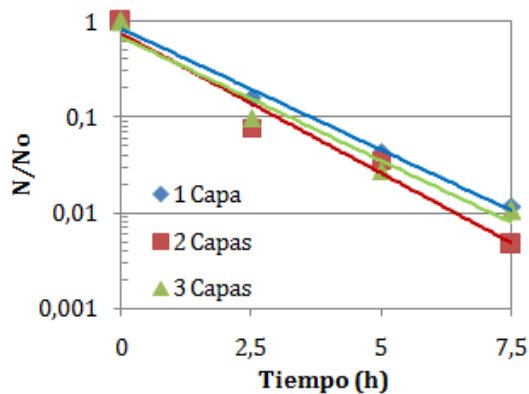


Figura 4. Gráfica de inactivación de esporos vs tiempo sobre anillos con una, dos y tres capas de TiO₂.



Figura 5. Imágenes SEM. Recubrimientos de TiO₂ con muestras de esporos: (a) sin irradiar, (b) luego de 7,5 h de irradiación.

Tabla 2. Constantes de inactivación estimadas

	1 Capa	2 Capas	3 Capas
k (h ⁻¹)	0,58	0,67	0,59

Cabe resaltar que se realizó un ensayo control de irradiación de anillos sin TiO₂. Se nebulizaron los anillos con la suspensión de esporos, y luego se los expuso a irradiación durante 8 h. No se observó diferencia significativa en el número de colonias viables luego de la irradiación respecto del número de colonias iniciales (datos no mostrados). Se concluye entonces que no hay inactivación de esporos de *B. subtilis* en ausencia de TiO₂.

CONCLUSIONES

Se logró una disminución considerable de la viabilidad de los esporos de *B. subtilis* cuando estos fueron expuestos a radiación UV-A sobre los anillos recubiertos con catalizador. Se pudo probar también que esta inactivación se debe a un proceso fotocatalítico (radiación UV + TiO₂), y se descartó la posibilidad de una reacción fotolítica (sólo radiación UV).

Bajo las condiciones estudiadas, se observó un máximo en la velocidad de inactivación de los esporos de *B. subtilis* sobre los anillos con 2 recubrimientos de TiO₂.

Se puede concluir que los anillos de vidrio recubiertos con TiO₂ han demostrado ser un material de relleno prometedor para dispositivos purificadores de aire.

BIBLIOGRAFÍA

- Guo, M.-Z.; Ling, T.-C.; Poon, C.-S.,** 2012. TiO₂-based self-compacting glass mortar: Comparison of photocatalytic nitrogen oxide removal and bacteria inactivation. *Building and Environment*, 53, 1.
- Lee B.U.,** 2011. Life Comes from the Air: A Short Review on Bioaerosol Control. *Aerosol Air Qual. Res.* 11, 921–927.
- Sánchez, B.; Sánchez-Muñoz, M.; Muñoz-Vicente, M.; Cobas, G.; Portela, R.; Suárez, S.; González, A. E.; Rodríguez, N.; Amils, R.,** 2012. Photocatalytic elimination of indoor air biological and chemical pollution in realistic conditions. *Chemosphere*, 87, 625.