



UNIVERSIDAD NACIONAL
AVENIDA DE
MEXICO

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

01177
13

FACULTAD DE INGENIERIA

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO

CAMPUS MORELOS

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de
UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el
contenido de mi trabajo recepcional

NOMBRE: ESTEBAN MARTINEZ MEZA

FECHA: MARZO 11 DE 2003

FIRMA: Esteban Martínez Meza

**DESINFECCIÓN DE EFLUENTES SECUNDARIOS
MEDIANTE LA IONIZACIÓN DE PLATA Y COBRE PARA
SU REUTILIZACIÓN EN SISTEMAS DE ENFRIAMIENTO.**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

**MAESTRO EN INGENIERÍA
(AMBIENTAL)**

PRESENTA:
ESTEBAN MARTINEZ MEZA

Directores de Tesis:
Dra. Petia Mijaylova Nacheva
Dra. Susana Silva Martínez

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



CIUDAD UNIVERSITARIA, D.F.

ENERO 2003

A



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el apoyo otorgado para la realización de esta maestría, la cual concluye con este trabajo.

Al Instituto de Investigaciones Eléctricas por el apoyo otorgado y las facilidades que me brindó para realizar este trabajo de investigación en sus instalaciones.

A la Universidad Nacional Autónoma de México por la oportunidad de seguir creciendo como profesionista y como persona.

A la Dra. Petia Mijaylova Nacheva por aceptar ser mi tutora y enriquecer con sus observaciones y recomendaciones este trabajo.

A mis padres por ser el conducto a esta vida de retos y oportunidades, con amor y profundo respeto.

A la señora Maria de Lourdes Pineda Barba por su apoyo y paciencia.

A todas aquellas personas que de alguna manera participaron en la realización de este proyecto.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

B

A los miembros del jurado:

Presidente: Dra. Ma. Teresa Orta Ledesma
Secretario: Dr. Joan Genescá Llongueras
Vocal: Dra. Petia Mijaylova Nacheva
Suplente: Dra. Gabriela Moeller Chávez
Suplente: Dr. Jesús Gracia Fadrique.

Por su tiempo y los valiosos comentarios que enriquecieron este trabajo, a todos mi más profundo agradecimiento.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

C

RECONOCIMIENTO

Agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología la beca de investigación que me otorgó para realizar este trabajo de investigación, que me permite obtener el grado de Maestro en Ingeniería. Este trabajo estuvo contemplado en el marco del proyecto 31145-U apoyado y aprobado por CONACYT a la responsable del proyecto Dra. Susana Silva Martínez. El título del proyecto 31145-U es: "*Evaluación y prueba de nuevos tratamientos para el control microbiológico e inhibición de incrustaciones para ahorro de agua en sistemas de enfriamiento de procesos industriales*".

Agradezco a la Dra. Susana Silva Martínez la asesoría y dirección de mis tesis de maestría, asimismo le agradezco la confianza y el apoyo que siempre me brindó. Con sincero agradecimiento, Dra. Silva.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

D

DEDICATORIA

A la compañera de mi vida... a ti **Julia** querida por la fe que tuviste en este proyecto y por tu apoyo incondicional.

A mi pequeño hermano Manuel, por las manifestaciones de amor que hemos recibido.

A Sadirak, Sebastián, Francisco y Amajur y a todos aquellos que como ustedes dan luz a mi existencia.

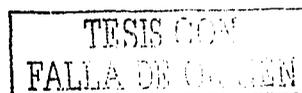
TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

CONTENIDO

	página
LISTA DE FIGURAS.....	iv
LISTA DE TABLAS.....	v
GLOSARIO.....	vi
RESUMEN.....	x
CAPÍTULO 1, Introducción.....	1
1.1 Torres de enfriamiento.....	1
1.1.1 Principio de funcionamiento.....	1
1.1.2 Tipos de torres de enfriamiento.....	2
1.1.3 Torres de tiro natural.....	2
1.1.4 Torres de tiro mecánico.....	3
1.2 Problemática con el agua de los sistemas de enfriamiento.....	4
1.3 Control microbiológico del agua.....	7
1.3.1 Química del cloro en el agua.....	8
1.3.2 Mecanismos de acción del cloro sobre las bacterias.....	8
1.3.3 Problemas asociados con el uso del cloro.....	9
1.3.4 Uso de plata y cobre en el tratamiento microbiológico del agua.....	11
1.3.5 Mecanismos de acción de la plata sobre las bacterias.....	13
1.3.6 Mecanismos de acción del cobre sobre las bacterias.....	14
1.4 Microorganismos asociados al problema de la corrosión.....	16
1.4.1 Hongos.....	16
1.4.2 Algas.....	16
1.4.3 Bacterias.....	17
1.4.3.1 Bacterias Formadoras de Lama.....	18
1.4.3.2 Bacterias Relacionadas con Hierro.....	19
1.4.3.3 Bacterias Sulfato Reductoras.....	20
1.4.3.4 Escherichia coli.....	23
1.5 Biopelícula.....	24
CAPÍTULO 2, Metodología experimental.....	29
2.1 Sistema de flujo continuo parcialmente abierto.....	29
2.2 Generación de iones plata y cobre.....	31
2.3 Análisis químicos.....	33
2.4 Análisis bacteriológicos.....	33
2.4.1 Bacterias coliformes.....	33
2.4.2 Bacterias relacionadas con hierro (IRB), bacterias sulfato reductoras (SRB) y bacterias formadoras de lama (SLYM).....	35
2.4.2.1 Bacterias relacionadas con hierro, (IRB).....	38
2.4.2.2 Bacterias sulfato reductoras, (SRB).....	39
2.4.2.3 Bacterias formadoras de lama, (SLYM).....	41
2.5 Procedimiento realizado en las pruebas BART.....	42
2.6 Procedimiento experimental.....	43
2.7 Efectividad del tratamiento.....	46

	página
2.8 Desarrollo de la biopelícula y su eliminación	47
2.8.1 Pruebas microbiológicas para observar el desarrollo de la biopelícula por lotes, sin uso de biocida	47
2.8.2 Pruebas microbiológicas para observar el desarrollo de la biopelícula por lotes, con uso de biocida	49
2.8.3 Experimento realizado en el sistema de flujo continuo para observar el desarrollo de la biopelícula y su eliminación con biocida.....	50
CAPÍTULO 3, Resultados y discusión de resultados	52
3.1 Bacterias coliformes en el agua residual de la planta de tratamiento del Instituto de Investigaciones Eléctricas.....	53
3.2 Bacterias coliformes en el agua de repuesto de la Central Termoeléctrica de Valle de México	55
3.3 Bacterias relacionadas con hierro y bacterias sulfato reductoras en el agua residual de la planta de tratamiento del Instituto de Investigaciones Eléctricas.....	58
3.4 Bacterias relaciones con hierro y bacterias sulfato reductoras en el agua de repuesto de la Central Termoeléctrica de Valle de México	61
3.5 Bacterias formadoras de lama en el agua residual de la planta de tratamiento del Instituto de Investigaciones Eléctricas	62
3.6 Bacterias formadoras de lama en el agua de repuesto de la Central Termoeléctrica de Valle de México.....	64
3.7 Comportamiento del pH y conductividad.....	64
3.8 Efectividad del tratamiento.....	65
3.9 Biopelícula.....	67
3.9.1 Morfología de testigos de corrosión observada por lotes sin biocida	67
3.9.2 Morfología de testigos de corrosión observada por lotes con biocida	69
3.9.3 Evidencias del desarrollo de la biopelícula en los componentes del sistema de flujo continuo y su eliminación con biocida	70
CAPÍTULO 4, Estimación de los costos a nivel laboratorio.....	72
4.1 Evaluación de costos	72
CAPÍTULO 5, Conclusiones y recomendaciones.....	75
REFERENCIAS	78
ANEXOS	84

Artículos aceptados para su publicación:



- A-1 "Factibilidad técnica para emplear iones plata y cobre electrogenerados en el control microbiológico de los sistemas de enfriamiento".
Boletín Instituto de Investigaciones Eléctricas, vol 25, núm 3, año 25.
- A-2 "TECNOLOGÍA ALTERNATIVA COMPATIBLE CON EL MEDIO AMBIENTE PARA TRATAMIENTO DE AGUAS DE ENFRIAMIENTO: IONIZACIÓN DE PLATA Y COBRE".
International Journal of Environmental Pollution.
- A-3 "ELECTROLYTICALLY GENERATED SILVER AND COPPER IONS TO TREAT COOLING WATER: AN ENVIRONMENTALLY NOVEL ALTERNATIVA".
International Journal of Hydrogen Energy.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

LISTA DE FIGURAS

	página
Figura 1.1 Diagrama representativo de diferentes diseños de torres de enfriamiento.....	3
Figura 1.2 Representación esquemática de una central termoeléctrica.....	7
Figura 1.3 Representación esquemática del proceso de corrosión influenciado microbiológicamente	20
Figura 2.1 Fotografía del sistema de flujo continuo experimental	30
Figura 2.2 Equipo utilizado para la electrogeneración de los iones de plata y cobre.....	31
Figura 2.3 Celda electroquímica utilizada para la electrogeneración de los iones de plata y cobre utilizados en la parte experimental	32
Figura 2.4 Sistema de análisis microbiológico BART.....	36
Figura 3.1 Variación del número más probable de coliformes totales y E coli en función del tiempo para los sistemas: (A) 0.6 mg l ⁻¹ de plata/1.2 mg l ⁻¹ de cobre y (B) 0.6 mg l ⁻¹ de plata/ 0.6 mg l ⁻¹ de cobre.....	53
Figura 3.2 Variación del número más probable de coliformes totales y E coli en función del tiempo para los sistemas: (C) 0.2 mg l ⁻¹ de plata/1.2 mg l ⁻¹ de cobre/1.0 mg l ⁻¹ de cloro y (D) 1.0 mg l ⁻¹ de cloro.....	55
Figura 3.3 Variación del número más probable de coliformes totales y E coli en función del tiempo para los sistemas: (I) 0.6 mg l ⁻¹ de plata/1.2 mg l ⁻¹ de cobre y (J) 1.2 mg l ⁻¹ de plata/ 0.6 mg l ⁻¹ de cobre.....	56
Figura 3.4 Población probable de (A) bacterias relacionadas con hierro y (B) bacterias sulfato reductoras, en función de diferentes combinaciones de plata y cobre	59
Figura 3.5 Población probable de bacterias relacionadas con (A) hierro y (B) bacterias sulfato reductoras, en función de diferentes combinaciones de plata/cobre/cloro	60
Figura 3.6 Población probable de bacterias relacionadas con (A) hierro y (B) bacterias sulfato reductoras en función de diferentes combinaciones plata/cobre, para el agua residual de la Central Termoeléctrica de Valle de México	62
Figura 3.7 Población probable de (A) bacterias formadoras de lama en función de diferentes combinaciones plata/cobre y plata/cobre/cloro	63
Figura 3.8 Población probable de (A) bacterias formadoras de lama en función de diferentes combinaciones de plata/cobre para el agua de la Central Termoeléctrica de Valle de México.....	64
Figura 3.9 Variación promedio de pH y conductividad.....	65
Figura 3.10 Fotografías de la morfología de los testigos de corrosión por lotes, sin biocida.....	68
Figura 3.11 Fotografías de la morfología de los testigos de corrosión por lotes, con biocida.....	69
Figura 3.12 Secuencia fotográfica del experimento en flujo continuo para el sistema: 0.2 mg l ⁻¹ plata/1.2 mg l ⁻¹ cobre/0.3 mg l ⁻¹ cloro.....	71

LISTA DE TABLAS

	página
Tabla 1.1 Cantidad de plata requerida para desinfectar agua.....	13
Tabla 2.1 Reacciones características Bacterias Relacionadas con Hierro.....	39
Tabla 2.2 Reacciones características Bacterias Sulfato Reductoras.....	40
Tabla 2.3 Reacciones características Bacterias Formadoras de Lama.....	42
Tabla 2.4 Intervalos del tiempo de retraso para evaluar la efectividad del tratamiento.....	47
Tabla 2.5 Tiempo de exposición al sistema biocida.....	50
Tabla 3.1 Efectividad del tratamiento, TL_D , en días Bacterias Relacionadas con Hierro Bacterias Sulfato Reductoras y Bacterias Formadoras de Lama de los sistemas biocidas plata/cobre.....	66
Tabla 3.2 Efectividad del tratamiento, TL_D , en días Bacterias Relaciones con Hierro Bacterias Sulfato Reductoras y Bacterias Formadoras de Lama de los sistemas biocidas plata/cobre/cloro.....	67
Tabla 4.1 Comparación de costos entre el uso de cloro y el uso de las relaciones de concentración óptimas de plata/cobre/cloro.....	73

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

GLOSARIO

aeróbico: expuesto al oxígeno.

aerobio: organismos que requiere de oxígeno para vivir.

algas: grupo heterogéneo de plantas fotosintéticas que abarcan desde formas microscópicas unicelulares a formas macroscópicas multicelulares tales como las algas marinas.

algicida: se aplica a cualquier agente que mate algas.

anaerobio: organismo capaz de crecer en ausencia de oxígeno.

ánodo: electrodo de una celda electrolítica donde tiene lugar la oxidación. Los electrones fluyen hacia fuera del ánodo en el circuito externo. La corrosión ocurre en este electrodo y los iones metálicos entran en solución.

aséptico: libre de microorganismos capaces de causar infección o contaminación.

autoclave: aparato que usa vapor a presión para esterilizar.

autótrofo: organismo capaz de utilizar anhídrido carbónico como única fuente de carbón.

bacterias: grupos de microorganismos caracterizados por estar recubiertos de una membrana celular (procariota) y carecer de un núcleo verdadero.

bacterias sulfato reductoras: organismos que reducen metabólicamente sulfato a sulfuro de hidrógeno.

bactericida: agente que destruye bacterias.

bacteriostático: que inhibe el desarrollo de las bacterias sin matarlas.

biocida: compuestos seleccionados por su habilidad para matar ciertas clases de vida.

biocorrosión: corrosión causada o acelerada por agentes biológicos.

biodegradación: cambio producido por un sistema biológico de una sustancia orgánica en otra, independiente de la extensión de dicho cambio.

biomasa: masa de materia viva que se encuentra en un medio.

biopelícula: matriz gelatinosa de material polimérico extracelular de naturaleza polisacárida, con un elevado contenido de agua.

cátodo: electrodo de una celda electrolítica en el cual tiene lugar la reducción. Los electrones fluyen hacia el cátodo en un circuito externo. Los procesos catódicos típicos

son: cationes tomando electrones y descargándose, oxígeno reduciéndose y la reducción de un elemento metálico o grupo de elementos de un estado alto de valencia a uno bajo.

celda de concentración: celda de corrosión en la cual la fuerza directriz está causada por la diferencia de concentración de un componente en el electrolito.

celda electroquímica: sistema electroquímico constituido por un ánodo y un cátodo en contacto eléctrico sumergido en un electrolito. El ánodo y el cátodo pueden ser metales diferentes o áreas distintas sobre una misma superficie metálica.

células facultativas: células bacterianas que pueden vivir tanto en presencia como en ausencia de oxígeno.

cepa: microorganismos de las mismas especies pero con características diferenciales y no considerados comúnmente de diferentes variedades.

colonia: población de células que crecen en un medio sólido que se originan de una sola célula.

corrosión: deterioro de un material, comúnmente un metal, por reacciones con el medio.

corrosión microbiológica: corrosión causada o acelerada por microorganismos o sus metabolitos.

desinfectante: es un agente, por lo regular químico, capaz de matar las formas en desarrollo, pero no necesariamente las esporas resistentes de microorganismos patógenos.

despolarización: remoción de factores que dificultan el paso de la corriente en una celda electroquímica.

DNA: ácido desoxirribonucleico, material genético de todas las células y de muchos virus. Es un polímero de nucleótidos. El monómero consiste de una base nitrogenada, que es una purina (adenina y guanina) o una pirimidina (citosina y timina), un azúcar de cinco carbonos llamada desoxirribosa y un grupo ácido fosfórico

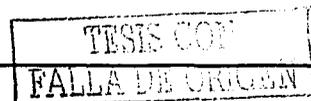
electrolito: sustancia química o mezcla, comúnmente líquida, conteniendo iones que migran en un campo eléctrico.

enzima: catalizador orgánico de reacciones bioquímicas en una célula bacteriana compuesta por proteínas:

estéril: libre de cualquier organismos viviente.

esterilización: es el proceso de destruir todas las formas de vida microbiana.

exopolímero: material extracelular frecuentemente pegajoso que define la forma de los organismos y sirve para atrapar material particulado.



ferrobacterias: algunos de los grupos de bacterias que oxidan el hierro como fuente de energía. El hierro oxidado, bajo la forma de $\text{Fe}(\text{OH})_3$ es luego depositado en el ambiente por la secreción de la bacteria. La energía obtenida de estas reacciones es usada para desarrollar procesos en los cuales se producen las sustancias básicas necesarias para la bacteria. Estas bacterias también son conocidas como bacterias relacionadas con hierro.

fungicida: agente que mata hongos.

GPM: galones por minuto.

germicida (microbicida): agente que mata las formas en desarrollo pero no forzosamente las esporas resistentes; en la práctica un germicida es casi lo mismo que un desinfectante, aunque los germicidas se utilizan para todo tipo de gérmenes (microbio) y en cualquier tipo de aplicación.

heterótrofo: organismo que obtiene carbón de compuestos orgánicos.

hongos: algunos de los grupos importantes de plantas parásitas que carecen de clorofila incluyendo los mohos.

incrustación: depósito de constituyentes insolubles en agua sobre una superficie metálica.

ion: partícula dotada de una carga eléctrica y que está formada por un átomo o grupo de átomos que ha ganado o perdido uno o varios electrones

lama (limo): material extracelular producido por algunos microorganismos, caracterizado por una consistencia mucilaginoso de variada composición química.

material polimérico extracelular: material polisacárido altamente hidratado segregado por los microorganismos para adherir a otras células o a sustratos sólidos a través de la formación de biopelículas.

mesófilo: bacteria que se desarrolla mejor entre 25 y 40 °C.

metabolismo: el conjunto completo de transformaciones de moléculas orgánicas nutritivas catalizadas por enzimas en las células vivientes.

mg l⁻¹: miligramos por litro.

metabolito: sustancia química producida en el metabolismo celular.

microbiocida: cualquier sustancia química que mate microorganismos.

microorganismos: se aplica a los representantes de los reinos animal y vegetal unicelulares y estructuralmente relacionados. Con pocas excepciones los organismos unicelulares son invisibles a simple vista, y generalmente tiene dimensiones comprendidas entre una fracción de micrón y 200 micras.

mutágeno: cualquier sustancia que provoque cambios en la estructura genética en posteriores generaciones.

mutagénico: agente que causa un incremento en la velocidad de mutación: rayos X, radiación ultravioleta (260 nm), agentes químicos.

NMP/100ml: número más probable por 100 ml.

oligodinámico: es la propiedad que tiene ciertos metales en cantidades sumamente pequeñas, en particular la plata, de ejercer efectos letales sobre las bacterias.

pH: símbolo usado para denotar el grado de acidez o alcalinidad de una solución $pH = \log(1/H^+)$ en donde (H^+) representa la concentración de hidrogeniones.

polisacárido: carbohidrato formado por la combinación de muchas moléculas de monosacáridos como: almidón, celulosa.

proteína: clase de compuestos nitrogenados orgánicos muy complejos formados de gran número de aminoácidos enlazados por uniones péptidas.

RNA: ácido ribonucleico esta especie molecular desempeña el papel de informador, estructurador y enzimático, y de esta forma es usado de muy diversas maneras por el DNA y las proteínas.

teratógeno: agente que causa malformaciones fetales durante los primeros tres meses de embarazo.

teratogénico: agente capaz de causar malformaciones en embriones.

tubérculo: excrescencia de las superficies metálicas constituidas por productos de corrosión que frecuentemente contienen bacterias vivas.

ufc ml⁻¹: unidades formadoras de colonias por mililitro.

virus: microorganismo parásito intracelular obligado más pequeño que las bacterias.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

RESUMEN

El presente trabajo considera la posibilidad de sustituir el uso del cloro por iones de plata y/o cobre generados electroquímicamente, para el control microbiológico del agua en los sistemas de enfriamiento. Con este propósito se diseñó y construyó un modelo experimental que permitiera a nivel laboratorio, simular y controlar algunos de los parámetros más importantes que afectan desde el punto de vista microbiológico, el desempeño de una torre de enfriamiento.

El trabajo se divide en dos etapas: en la primera se realizó una serie de experimentos encaminados a observar el desempeño de diferentes combinaciones de plata, cobre y cloro; sobre la población microbiana presente en una muestra de agua residual de la planta de tratamiento de lodos activados del Instituto de Investigaciones Eléctricas. Las mejores combinaciones de plata y cobre, se emplearon en la segunda etapa, en un agua proveniente del sistema de enfriamiento de la Central Termoeléctrica de Valle de México, con el fin de evaluar si presentaban un comportamiento consistente en el control microbiológico al cambiar la naturaleza del agua.

Los microorganismos estudiados en este proyecto, son principalmente bacterias relacionadas con el problema de la corrosión influenciada microbiológicamente; entre las que se pueden mencionar: al grupo coliforme, bacterias relacionadas con hierro, sulfato reductoras y bacterias formadoras de lama.

En general, los sistemas biocidas plata/cobre utilizados en este proyecto, mostraron ser muy efectivos, al reducir y controlar de manera significativa la población bacteriana; logrando en algunos casos, reducir en los primeros minutos de contacto hasta el 99% de la población original, tal es el caso de las bacterias coliformes. De manera general, en la mayoría de los casos, la población microbiana se redujo por debajo de las 1000 ufc ml⁻¹, que es la cifra considerada aceptable en los tratamientos convencionales.

Finalmente, un factor que no podía ignorarse era la biopelícula; causa de gran número de problemas en los sistemas de enfriamiento, y, dadas las características de su estructura, la más difícil de eliminar con medios químicos.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

ABSTRACT

The purpose of this work is to evaluate silver and copper ions electrolytically generated as disinfectant to substitute or minimize the use of chlorine in cooling water systems. The targeted bacteria in this study are: Iron related bacteria, Sulfate reducing bacteria, Slime forming bacteria and Coliform bacteria, such bacteria are commonly found in cooling water systems.

An experimental model was designed and constructed to simulate cooling tower system operation at laboratory level.

The work is divided into two stages: In the first stage a series of experiments were performed to observe the performance of different combinations of silver, copper and chlorine on the microbial population in wastewater samples. The wastewater coming from the activated mud treatment plant of the Instituto de Investigaciones Eléctricas, this water was chosen for disinfection because it has similar chemical and biological features of the makeup cooling water of Valle de México Power Plant (VMPP). The best combination of silver and copper were used in the second stage, in water samples coming from the cooling water system of VMPP, with the purpose of assessing if these disinfectant displayed a consisting behavior in the microbiological control, when changing the nature of the water.

In general, the disinfectant combinations of silver/copper and chlorine combined with silver and copper systems showed to be very effective, when reducing and controlling in a significant way the bacterial population, obtaining in some cases, the reduction of the original population in the first minutes of contact a 99% decrease as in the case of the coliformes bacteria. In most of the cases, the microbial population was reduced below 1000 ufc ml⁻¹, this value is considered acceptable in conventional treatments.

Microbial biofilms were also treated with the disinfectant combinations proposed in this investigation because they influence the development of corrosion processes. The only way to provide sanitation to a cooling system once infested with biofilms is by mechanical means. The results proved to also be very effective in minimizing biofilm attached to the surface.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

CAPÍTULO UNO

INTRODUCCIÓN

1.1 Torres de enfriamiento.

1.1.1 Principio de funcionamiento

El principio básico del funcionamiento de una torre de enfriamiento es la evaporación del agua con un intercambio de calor sensible. El agua y el aire en el interior de la torre se mezclan íntimamente liberando calor latente de evaporación. El agua expuesta a las condiciones atmosféricas se evapora consumiendo aproximadamente 555.56 kcal por kg de agua evaporada. Este proceso origina una pérdida de agua por evaporación de aproximadamente el 1% por cada 5.5 °C de enfriamiento del agua, mientras que las pérdidas por arrastre son cercanas al 0.2%, (*Woodson, 1971*).

El enfriamiento, debido al efecto de evaporación del calor latente de evaporación es de aproximadamente el 75%, mientras que el 25% restante, corresponde a la transferencia de calor sensible en el interior de la torre.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

PAGINACIÓN DISCONTINUA

1.1.2 Tipos de torres de enfriamiento

Las torres de enfriamiento, salvo contadas excepciones, son hechas de acuerdo a las necesidades del cliente y su diseño puede variar en forma, tamaño y configuración; así como en el conjunto de parámetros térmicos, requeridos para lograr un funcionamiento que cumpla con las condiciones previamente establecidas.

Las torres de enfriamiento por la forma de inducir el flujo de aire, pueden ser de tiro natural o de tiro mecánico; según la dirección del flujo de aire, pueden ser a contracorriente o de flujo transversal respecto al flujo descendente del agua.

1.1.3 Torres de tiro natural.

Las torres de enfriamiento de tiro natural (figura 1.1A), fueron las primeras en ser utilizadas y su construcción fue totalmente de madera. Construidas en forma rectangular, con rejillas en la parte baja de sus paredes y con la chimenea abierta en la parte superior; se permitía el movimiento del aire al interior de la torre. El agua caliente se bombeaba a la parte superior de la torre, con una altura superior a los 40 m, dejándose caer libremente en forma de lluvia sobre el empaque de la torre.

Actualmente, las torres de enfriamiento hiperbólicas de tiro natural (figura 1.1B) construidas en concreto, pueden alcanzar alturas superiores a los 150 m y diámetros de 100 m en su base. El empaque puede tener una altura de 10 a 15 m cubriendo la totalidad de la base o bien solamente su perímetro, y operan bajo los mismos principios que las torres de enfriamiento de madera.

En este tipo de torres el flujo de aire depende de las condiciones atmosféricas, lo que determina la diferencia de densidades entre el aire más caliente que se encuentra en el interior de la torre y el aire más frío de la atmósfera externa. La velocidad del viento afecta de manera significativa el funcionamiento de estas instalaciones.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

1.1.4 Torres de tiro mecánico.

Las torres de enfriamiento de tiro mecánico utilizan ventiladores para mover el aire a través de la torre, en lugar de depender de la velocidad del viento como sucede en las torres de tiro natural. Esto acelera el proceso de enfriamiento haciéndolo más eficiente ya que pueden evaporar mayor cantidad de agua que una torre de tiro natural de las mismas dimensiones. Las torres de tiro mecánico, pueden ser de tiro inducido (figura 1.1C) o de tiro forzado (figura 1.1D). Pueden tener uno o varios ventiladores lo que permite determinar la cantidad de aire suministrado a la torre.

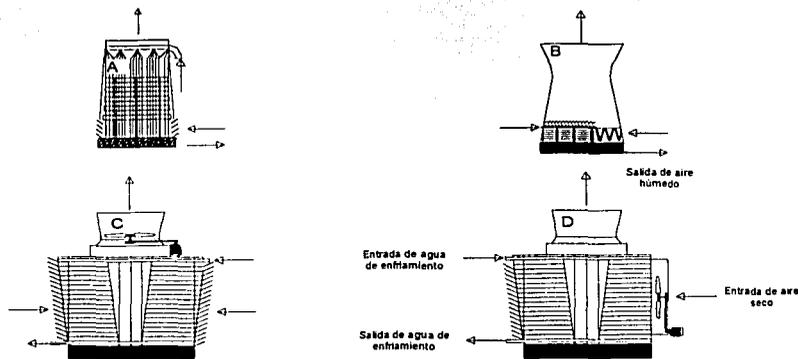


Figura 1.1. Diagrama representativo de diferentes diseños de torres de enfriamiento: (A), muestra el esquema de una torre de tiro natural de madera; (B), es una torre de tiro natural hiperbólica de concreto; (C), es el esquema de una torre de tiro mecánico inducido; (D), representa una torre de tiro mecánico forzado de un ventilador.

Las torres de tiro mecánico tienen mayor estabilidad térmica, y se ven afectadas por un menor número de variables psicrométricas; además, el uso de ventiladores permite regular el flujo de aire compensando los cambios atmosféricos y las condiciones de funcionamiento de la torre.

Las torres de tiro forzado tienen los ventiladores colocados en los costados, forzando el aire horizontalmente a través del empaque de la torre. Se caracterizan por tener altas velocidades de entrada y bajas velocidades de salida de aire, por lo que son muy susceptibles a recircular aire húmedo, esto ocasiona que funcionalmente sean menos estables que las torres de tiro inducido.

Las torres de tiro inducido pueden ser a contracorriente o de flujo transversal. En estas instalaciones los ventiladores son colocados en la parte superior de la torre impulsando hacia arriba y de manera horizontal el aire de enfriamiento, lo que provoca que se mezcle íntimamente con el agua que cae.

Este tipo de torres presentan velocidades de descarga de tres a cuatro veces más alta que la velocidad de entrada del aire. En las torres que operan a contracorriente, el agua más fría se pone en contacto con el aire más seco, lo que origina un proceso de evaporación más eficiente.

Los tipos de torres de enfriamiento varían en tamaño, de acuerdo con las necesidades particulares de uso. Las industrias que demandan grandes cantidades de agua de enfriamiento como: la generación de energía eléctrica, la producción de gas y petróleo, la petroquímica, la industria del hierro y el acero, utilizan principalmente torres de enfriamiento de tiro mecánico, que consisten en celdas de enfriamiento agrupadas en estructuras rectangulares cuyas dimensiones son mayores a los 100 m de longitud, 25 m de ancho y 30 m de alto.

1.2 Problemática con el agua de los sistemas de enfriamiento.

El agua es considerada como el solvente universal debido a la capacidad que tiene de disolver, al menos en pequeñas cantidades, casi todo lo que entra en contacto con ella. Las impurezas que contiene en suspensión y disueltas, más que el agua misma, son la causa de gran cantidad de problemas en los sistemas de enfriamiento que utilizan este líquido como medio para disipar calor.

La concentración de las sustancias disueltas y en suspensión en el agua utilizada por una torre de enfriamiento, van de un agua con un contenido muy bajo de minerales, como es el caso de los sistemas que utilizan condensados de vapor, hasta concentraciones que pueden alcanzar las 50,000 ppm, en los sistemas que utilizan agua marina como agua de repuesto. Dentro de este margen, hay un amplio intervalo de concentraciones en las aguas subterráneas y superficiales utilizadas también con este propósito. Esta situación se complica un poco cuando los efluentes de las plantas de tratamiento de aguas residuales, con alto contenido

de materia orgánica y con gran cantidad y variedad de microorganismos presentes en la misma, son utilizados con este fin.

La dureza total, el calcio, la alcalinidad y los sulfatos, son las sustancias disueltas más comunes y las que con mayor frecuencia causan problemas de incrustación. La sílica, el hierro, el manganeso y los fosfatos, también son fuente de incrustación cuando precipitan.

Los sólidos que se encuentran en suspensión, por lo general es material coloidal: sedimentos finos, arcillas, aceite, materia orgánica y microorganismos.

La presencia de sólidos en el agua contribuye a la formación de depósitos sobre las paredes del sistema, afectando de manera significativa la operación y la vida útil del equipo.

Un sistema de enfriamiento es un equipo diseñado para eliminar calor, y uno de sus componentes principales es el intercambiador de calor. Éste, es un equipo que depende de un área de transferencia que al ser modificada o alterada por la acumulación o adhesión de materia extraña, reduce de manera significativa su eficiencia.

La adhesión de materia sobre las paredes del intercambiador puede resultar de la sedimentación del material suspendido, o bien por la acumulación de material biológico. Comunidades relativamente pequeñas de bacterias formadoras de lama, pueden reducir drásticamente la transferencia de calor, al tener capacidad para atrapar y retener grandes cantidades de agua dentro de la estructura gelatinosa que las protege, actúan como una capa aislante que reduce el coeficiente global de transferencia de calor. Estos crecimientos biológicos también son responsables de ocasionar fuertes variaciones en el flujo al reducir el área transversal al flujo en el interior de los tubos del intercambiador, esto provoca que se requiera mayor consumo de energía para poder bombearla. Las bacterias también son señaladas de promover el proceso de corrosión en distintos procesos industriales, originando serios problemas de biocorrosión en los sistemas de enfriamiento. (*Tatnall 1981, 1984*). Muchos de los microorganismos que inducen el proceso de corrosión han sido identificados como bacterias. Las bacterias son responsables de la corrosión del hierro y sus aleaciones (*Miller y Tiller 1970*).

Los efectos corrosivos de los microorganismos pueden ser debidos a la acción de sus productos metabólicos: ácidos, sulfuro de hidrógeno y amoniaco; así como a su capacidad para adherirse a las superficies y formar complejas estructuras biológicas que propician condiciones anaerobias que favorecen el desarrollo de bacterias más agresivas y la formación de celdas de concentración de oxígeno que inducen el proceso de corrosión. El proceso de la corrosión influenciada microbiológicamente, es común encontrarla en los sistemas de enfriamiento (Tatnall 1984). El deterioro de los materiales por el proceso de corrosión, está directa o indirectamente relacionado con la actividad de los microorganismos, (Engvall 1984). La corrosión influenciada microbiológicamente, es causa significativa de degradación en tuberías e intercambiadores de calor de los sistemas de enfriamiento. La interacción de los procesos metabólicos de los microorganismos adheridos a las superficies metálicas y los procesos de corrosión, pueden conducir a problemas de corrosión localizada y a una rápida perforación en la tubería y en los tubos de los intercambiadores de calor, (G. Licina 1995).

La corrosión influenciada microbiológicamente es un problema que no fue reconocido como tal hasta mediados de los años setenta, y no es, sino hasta principios de los años ochenta y debido al impacto económico originado por un proceso corrosivo incontrolado, que industrias como las plantas generadoras de energía eléctrica pusieron mayor atención en tratar de identificar y resolver este problema.

La corrosión influenciada microbiológicamente es un problema muy común de los sistemas de enfriamiento. El deterioro causado por los microorganismos origina un decremento en la eficiencia de la planta, poniendo en riesgo la operación segura del equipo. Esto provoca que se incrementen los tiempos muertos debido a la necesidad de efectuar paros no planeados, y con ello, se incrementan los costos de operación y mantenimiento.

Las repercusiones económicas debido a la corrosión influenciada microbiológicamente son alarmantes; las pérdidas registradas en la industria pesada son quizás más evidentes desde que se ha puesto mayor atención a este

problema. Una de las industrias con serios problemas de corrosión microbiológica es la industria eléctrica, tanto la que utiliza energía nuclear como la que utiliza combustibles fósiles (figura 1.2). En Canadá, el reemplazo de la tubería de un intercambiador de calor de una planta núcleo-eléctrica atacada por bacterias sulfato reductoras, tuvo un costo de 13 millones de dólares y pérdidas por trescientos mil dólares diarios en 1990, (*Nicholas Dowling 1997*).

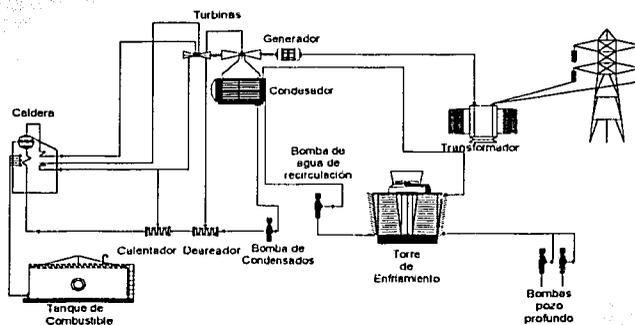


Figura 1.2, Representación esquemática de una central termoeléctrica.

En Estados Unidos, varias plantas nucleares han tenido graves daños por corrosión en sus sistemas de aguas de servicio, mucho del daño ha sido ocasionado por bacterias. Este daño ha provocado costosas reparaciones e inclusive el reemplazo del equipo. Al menos tres plantas han tenido que cambiar completamente la tubería de los sistemas de enfriamiento, con un costo de treinta millones de dólares por planta, (*G. Licina 1997*).

1.3 Control microbiológico del agua.

Es elevado el número de tratamientos químicos utilizados para prevenir problemas de corrosión, incrustación, ensuciamiento y crecimiento microbiológico en los sistemas de enfriamiento. La problemática presentada por los microorganismos es probablemente la que requiere de una mayor cantidad de agentes para su control, (*Carlson 1961, Beecher y Trautenberg 1964, Donohue y Woods 1968*).

El empleo de agentes oxidantes, sales cuaternarias de amonio, compuestos orgánicos con liberación de halógenos y compuestos sulfurados, son entre otros algunos de los biocidas más utilizados con este fin. El biocida más empleado en todos los sistemas es el cloro, debido a su amplio espectro, a su fácil aplicación y a su bajo costo (*Ward 1986*).

1.3.1 Química del cloro en el agua.

El cloro gaseoso (Cl_2) al ponerse en contacto con el agua se hidroliza, formando una mezcla de ácidos; (hipocloroso y clorhídrico) de acuerdo con la ecuación 1.1



El ácido hipocloroso se disocia débilmente para formar el ion hipoclorito. Sin embargo, esta reacción depende del pH. A pH entre 6 y 8.5, se registra una fuerte reacción para generar el ion hipoclorito de acuerdo con la ecuación 1.2.



El cloro y el ácido hipocloroso son agentes oxidantes muy fuertes, que cuando se ponen en contacto con las sustancias presentes en el agua, se involucran en una serie de reacciones de óxido-reducción, lo que provoca la formación del ion cloruro Cl^- , sustancia química carente de propiedades biocidas.

1.3.2 Mecanismos de acción del cloro sobre las bacterias.

El cloro libre daña la permeabilidad de la membrana celular, afectando de manera significativa el transporte de material; esto ocasiona que la célula se vea imposibilitada para tomar los nutrientes necesarios de su entorno y expulsar los desechos de su interior alterando con ello otras funciones metabólicas, (*Venkobachar et al., 1977*).

La exposición al cloro provoca que salgan de la célula: las proteínas, el RNA y el DNA, causando la lisis en la célula y la muerte, (*Venkobachar et al., 1977*).

El Ácido Nucleico y enzimas como la catalasa, también son susceptibles a la acción del cloro. Esta acción, provoca que se vean interrumpidos: el crecimiento, el metabolismo y la reproducción celular (*Bitton G., 1994*).

McFeters y Camper (1983), demostraron que la reacción del cloro con las enzimas de la pared celular, reduce la eficiencia metabólica. Demostraron que el cloro en las células afectadas había dañado el sistema de transporte por lo que las células fueron incapaces de permitir el paso de glucosa y aminoácidos a través de la membrana celular. *Roller et al., (1980)*, demostraron que la inactivación con cloro se debe a la oxidación de los grupos sulfhídrico dañando la actividad enzimática. *Sletten (1974)*, reportó que el ácido hipocloroso, HOCl, fue más efectivo que el ion hipoclorito, OCl⁻, en la inactivación de las bacterias. Esto puede ser debido a que el ácido hipocloroso, es eléctricamente neutro y puede difundirse más fácilmente a través de la pared celular y una vez dentro de la célula, reaccionar con las proteínas.

1.3.3 Problemas asociados con el uso del cloro.

A pesar de la efectividad que ha mostrado el cloro en el control microbiológico, una serie de problemas asociados con su uso han sido observados en años recientes. El cloro es un elemento muy reactivo que rápidamente experimenta reacciones con sustancias orgánicas e inorgánicas. Los compuestos organoclorados y los trihalometanos, son subproductos de la cloración del agua (*Rook 1974, Stevens et al., 1976*). Existe una fuerte relación entre la formación de trihalometanos y la cantidad de carbón orgánico total presente en el agua (*Bitton, G. 1994*). La cloración del agua produce una amplia gama de compuestos halogenados tales como: el cloroformo, diclorometano, 1,2 dicloroetano y tetracloruro de carbono; se presume, que estas sustancias son cancerígenas, mutagénicas y/o teratogénicas (*Stringer R. 2001*). El cloroformo es el más conocido de estos compuestos, y está documentado que produce cáncer en animales de laboratorio. Se cree, que todos estos compuestos actúan de manera similar.

Debido a que los trihalometanos son compuestos volátiles, una vez formados penetran rápidamente en la atmósfera alcanzando eventualmente las capas superiores de la misma, donde participan en reacciones fotoquímicas con liberación de átomos de cloro que contribuyen al agotamiento de la capa de ozono, (*Beech 1980*).

El cloro reacciona también con compuestos fenólicos, formando productos no biodegradables o refractarios de difícil eliminación.

A concentraciones mayores a 1 mg l^{-1} , el cloro desinfecta la madera de las torres de enfriamiento. Algunos microorganismos han desarrollado mecanismos de protección que les permiten resistir el efecto tóxico de biocidas como el cloro. La *Legionella pneumophila*, es mucho más resistente al cloro que la *E. coli*, (*Kuchta 1983, Landeen et al., 1989*). El cloro presenta una excelente capacidad para eliminar microorganismos que se encuentran suspendidos en el agua. Sin embargo, debido a su bajo poder residual, éstos se recuperan rápidamente.

El cloro tiene además poca capacidad de penetración, lo que le impide matar y remover las bacterias que se encuentran dentro y debajo de la biopelícula, (*LeChevallier 1988*). Otra desventaja del cloro es su sensibilidad al pH.

Problemas de seguridad asociados a su transporte, almacenamiento y manejo hacen que este elemento, reciba especial atención de parte de organismos de gobierno como la oficina norteamericana de Seguridad e Higiene en el Trabajo (OSHA por sus siglas en inglés 1971), que determinan la concentración y el tiempo a que puede estar expuesto un individuo a este elemento.

Adicionalmente, el cloro presenta importantes limitaciones algunas de las cuales han recibido mayor atención en los últimos años:

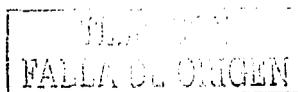
1. Oxidación de aleaciones de cobre, las más usadas en intercambiadores de calor en los sistemas de enfriamiento.
2. Efluentes industriales con altos contenidos de cobre y cloro.
3. Es tóxico, no solamente contra los organismos que se desea abatir sino contra otros que no fueron contemplados en el programa de tratamiento.
4. La eficiencia de la cloración depende de la temperatura y el pH.
5. Impacto ambiental alto.

El uso del cloro como medida de control microbiológico del agua es probable que en pocos años sea una práctica restringida, debido al riesgo que implica para la salud y al impacto que tienen sobre el medio ambiente los subproductos de la cloración. Organismos como la Agencia Estadounidense de Protección Ambiental (EPA, por sus siglas en inglés), son cada vez más estrictos en el control de las descargas de sustancias tóxicas al medio ambiente. Estas limitaciones han justificado la búsqueda de mejores alternativas para el control de los microorganismos en aguas de enfriamiento. La investigación y el desarrollo de nuevos enfoques tecnológicos, que permitan reemplazar al cloro como biocida en los sistemas de enfriamiento, están todavía abiertos y la frontera tecnológica apunta en varias direcciones que actualmente están siendo estudiadas para los sistemas de enfriamiento: dosificación de biocidas bioestáticos en forma de tabletas (*Colclasure 2001*), aplicación de luz ultravioleta (*Gump 2001*), aplicación de impulsos eléctricos (*Opheim 2001*), variaciones dramáticas en la presión (*Kelsey et al. 2001*), limpieza mecánica en línea (*Jones et al. 2000*), dosificación de biocidas oxidantes al vacío (*Court et al. 2000*). Todos estos enfoques tecnológicos tienen aún importantes interrogantes sin contestar y son, por ahora, más costosos que el cloro.

1.3.4 Uso de plata y cobre en el tratamiento microbiológico del agua.

El uso de los iones de plata y cobre para purificar agua, fue conocido 2000 años antes del nacimiento de la microbiología. Una colección en sánscrito de tradiciones médicas contiene las primeras nociones acerca del uso de la plata y el cobre para mejorar la calidad del agua. Herodoto, describe la costumbre que tenía el Rey Ciro de Persia de almacenar el agua en vasijas de plata (*History, vol. I Klio Chapter 188*). Sin embargo, este conocimiento práctico fue totalmente olvidado y sólo hacia finales del siglo XIX, algo de información aparece acerca de las propiedades germicidas de pequeñas cantidades de plata.

La capacidad que presentan concentraciones extremadamente pequeñas de plata y cobre ha inducir cambios morfológicos y provocar la muerte de los microorganismos, fue descrita por primera vez por el Botánico Suizo Von Nägeli



en 1893. Nägeli, formuló entonces la hipótesis de las propiedades oligodinámicas de la plata y el cobre.

Los primeros intentos prácticos por aplicar las propiedades oligodinámicas de la plata a la desinfección del agua, fueron realizados por Laubenheimer con resultados poco satisfactorios.

No es sino hasta 1928 que el método de desinfección del agua por medio de la plata llegó a ser práctico. El doctor G.A. Krause, realizó varios experimentos tratando de acelerar la disolución de la plata en el agua; utilizó plata metálica porosa que aceleraba el proceso de disolución del metal, preparó filtros con lechos especiales que contenían rebaba de plata o bien, revestía el lecho filtrante con plata. Estos intentos presentaron muchas dificultades en su aplicación por lo que los resultados obtenidos fueron muy pobres.

Nuevas alternativas fueron propuestas con el fin de poner la plata en el agua. De éstas, el método eléctrico llamado electroionización, dio una respuesta satisfactoria a la solución de este problema. Este método consistía en conectar una serie de electrodos de plata a los polos de una fuente de corriente continua. Los iones de plata liberados en el ánodo penetraban en el agua de manera proporcional a la corriente eléctrica aplicada de acuerdo con la siguiente reacción en los electrodos:



El doctor Krause, determinó las cantidades de plata requeridas, para desinfectar diferentes tipos de agua dejando un margen de tolerancia debido a la adsorción de la plata (ver tabla 1.1). La plata que ha sido adsorbida permanece en el agua en forma de iones, conservando sus propiedades germicidas (*J. Just y Szniolis 1936, Chambers 1962, Kutz 1988*).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla 1.1
Cantidad de plata requerida para desinfectar agua.

Tipo de agua	Concentración de plata, $\mu\text{g l}^{-1}$
Agua Potable	25 a 100
Agua para alberca	150 a 200
Agua para fabricar hielo	400
Agua para lavar trastos y artículos para la preparación de alimentos	25 a 600

Para que los iones de plata y cobre sean tóxicos para las bacterias, éstos deben interactuar de manera directa con las células microbianas. Esta interacción, afecta el crecimiento y el metabolismo de las bacterias, ya sea interfiriendo en la asimilación de los nutrientes esenciales o por la alteración de las características fisicoquímicas del medio ambiente. Una gran variedad de mecanismos, como la composición de la pared celular y el sistema de transporte, determinan la entrada de los iones a la célula. Posiblemente debido al gran número de puntos de interacción dentro de la célula, muchas reacciones tóxicas son posibles. Casi todos los signos del metabolismo y la actividad de las bacterias pueden ser afectados por una elevada concentración de iones de plata y cobre. Esto incluye la producción primaria, la metanogénesis, el sistema respiratorio, la motilidad, los ciclos biogeoquímicos y la actividad enzimática.

1.3.5 Mecanismos de acción de la plata sobre las bacterias.

El ion plata es uno de los metales más tóxicos para los microorganismos. Su acción germicida queda de manifiesto a concentraciones muy por debajo de una parte por millón. La plata es un agente bacteriostático y bactericida, (*Chambers et al., 1962*).

Tres son los posibles mecanismos que han sido propuestos para explicar el efecto tóxico de los iones de plata sobre las bacterias: interferencia en el transporte de electrones, reacción con el DNA e interacción con la membrana celular (*Tilton et al., 1978*).

TESTEADO
 FALLA DE ORIGEN

Es conocido que iones metálicos como la plata tienen gran afinidad por el grupo sulfhídrico. Este grupo es parte importante de algunas proteínas responsables de la actividad enzimática. La reacción de la plata con el grupo sulfhídrico coagula las proteínas afectando el sistema respiratorio de las bacterias. La plata puede interferir con la actividad enzimática y ligarse a las proteínas celulares, (*Wuhrmann y Zobrist 1958*).

Los iones de plata pueden formar complejos insolubles con el DNA y con el RNA celular. Estas moléculas contienen la información genética necesaria para: el crecimiento, mantenimiento y reproducción de la célula. Cuando los iones de plata reaccionan con estas moléculas, se altera la estructura química de las bases orgánicas modificando el patrón genético. Esto provoca la interrupción del crecimiento, del metabolismo y de la reproducción de la célula afectada.

Los iones metálicos pueden alterar la estructura y la permeabilidad de la membrana celular, perturbando el intercambio de material de la célula y su entorno. La plata provoca que la membrana citoplasmática se contraiga y se separe de la pared celular, (*Feng, Wu y Chen 2000*).

Los complejos plata-DNA ocurren en las bases (purinas y pirimidinas), esto provoca la desnaturalización de la molécula debido al desplazamiento de los enlaces con el hidrógeno entre nitrógenos adyacentes de purinas y pirimidinas, de ese modo se previene la replicación de la molécula (*Youmans 1962, Rahn et al., 1973, Foye 1977*) observaron que la plata puede reaccionar con el DNA de las bacterias y esporas. *Grier (1983)*, mencionó, que la plata puede formar complejos con grupos donantes de electrones que contengan elementos como oxígeno, azufre y nitrógeno.

Los iones de plata, han mostrado capacidad para inactivar diversos tipos de microorganismos tales como: bacterias, virus, algas y hongos (*Yahya et al., 1990*).

1.3.6 Mecanismos de acción del cobre sobre las bacterias.

Las propiedades biocidas del cobre fueron conocidas por Jenner en 1798. El cobre ha sido utilizado más ampliamente como fungicida y algicida que como bactericida. Sin embargo, es reportado como uno de los metales más tóxicos para

las bacterias (*G. Gadd 1992*). *Cooksey (1987)*, reportó que los compuestos de cobre han sido usados exitosamente, para el control de enfermedades provocadas por bacterias. (*Babich y Stotzky 1980*), reportaron que el Cu^{1+} es más tóxico que el Cu^{2+} para la *E. coli*. *Singh et al., (1987)*, estudiaron la inactivación de *Yersinia*, y reportaron que el 98% de la población viable, se eliminó después de dos días de exposición a una concentración de 1 mg l^{-1} de cobre.

Los metales pesados como el cobre, pueden trastornar la estructura enzimática y su funcionamiento por enlaces con el grupo sulfhídrido de las proteínas moleculares.

Cationes divalentes como el Cu^{2+} , cuando quelatan con un fosfato, pueden ocasionar contracciones que rompen los puentes de hidrógeno que unen las bases de los filamentos de la doble hélice del DNA. Esto puede alterar el proceso de replicación de la célula.

(*Singh y McFeters 1986*), encontraron que la exposición de cepas de *E. coli* y *Yersinia enterocolitica*, expuestas a bajas concentraciones de cobre fue letal para algunas células. *Martín y Mariam (1979)*, reportaron que el cobre desnaturaliza reversiblemente el DNA en soluciones de baja concentración. Observaron una competencia entre el cobre y el hidrógeno para reaccionar con las moléculas del DNA. *Ueda et al., (1980)*, reportaron que el Cu^{2+} tiene afinidad específica por el DNA y puede ligarse y desordenar la estructura helicoidal por uniones cruzadas dentro y entre los filamentos de la doble hélice.

Los iones metálicos como el cobre pueden coordinar simultáneamente con varios átomos ligandos. Un simple ion puede unir dos fosfatos, dos bases o un fosfato y una base. Cada unión cruzada, puede desordenar varias bases tanto en el interior como en el exterior de la molécula. *Hutchinson (1985)*, reportó que el Cu^{2+} puede formar complejos con el RNA mensajero. *Buffle (1984)*, afirmó que el Cu^{2+} presenta una fuerte afinidad por sitios que contienen elementos como: oxígeno, nitrógeno y azufre.

Dos modelos que describen el mecanismo de reacción del cobre con el DNA han sido reportados. En el primer modelo, el cobre estabiliza la doble hélice e involucra una compleja transferencia de carga formada cuando el cobre actúa como aceptor

de electrones intercalado entre dos pares adyacentes de bases, guanina y citosina. Estas bases actúan como donantes de electrones.

En el segundo modelo, el cobre desestabiliza la doble hélice e involucra una quelación entre un grupo fosfato y un átomo de nitrógeno de la estructura principal de la molécula.

Martín y Mariam (1979), mencionaron que los ácidos nucleicos presentan varios sitios potenciales de unión que incluyen los grupos que contienen nitrógeno y oxígeno sobre las bases.

1.4 Microorganismos Asociados al Problema de la Corrosión

Los microorganismos involucrados en el fenómeno de la corrosión pueden clasificarse en tres grandes grupos: hongos, algas y bacterias.

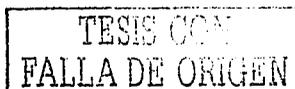
1.4.1 Hongos.

Los hongos son organismos saprofitos que se alimentan de materia orgánica en estado de descomposición y pueden desarrollarse como parásitos de otros microorganismos. Son numerosos y de difícil clasificación, carecen de movimiento y aunque su ambiente natural es el suelo, es posible encontrarlos en medios acuáticos. Requieren de oxígeno para su crecimiento y tienen la habilidad de desarrollarse bajo diversas condiciones de pH y temperatura. Tienen además la capacidad para metabolizar polímeros complejos liberando compuestos más simples que pueden ser utilizados por otros microorganismos involucrados directamente con el proceso corrosivo.

Llevan a cabo la fermentación anaerobia así como la oxidación aerobia con liberación de metabolitos potencialmente agresivos como los ácidos orgánicos.

1.4.2 Algas.

Las algas son un grupo heterogéneo de organismos unicelulares fotosintéticos acuáticos que se encuentran por lo general tanto en agua dulce como marina, también es posible encontrarlos en suelos húmedos, sobre rocas y corteza de árboles entre otros medios.



Son organismos autótrofos que obtienen energía de la luz solar o por oxidación de materia inorgánica, su fuente de carbón, es la asimilación de dióxido de carbono; toleran ambientes muy diversos con intervalos de pH de 5.5 a 9 y temperaturas por debajo de los 0 °C hasta los 90 °C. En presencia de luz, producen oxígeno y son considerados productores primarios ya que metabolizan los nutrientes necesarios para soportar el desarrollo de otras especies microbianas. Muchos tipos de algas segregan ácidos orgánicos creando áreas localizadas de bajo pH. Son pobladores frecuentes de los sistemas de enfriamiento donde se adhieren a las superficies metálicas promoviendo la formación de celdas de concentración de diversas especies como el oxígeno y los iones entre otras sustancias.

1.4.3 Bacterias.

Las bacterias asociadas al fenómeno de la corrosión son organismos unicelulares de pared celular espesa y rígida que se reproducen por fisión binaria o división celular. Algunas se mueven por medio de flagelos y pueden ser autótrofas o heterótrofas. La materia orgánica es la fuente de carbón y energía que requieren los heterótrofos para su crecimiento y pueden asimilar casi cualquier molécula con carbón disponible, desde moléculas simples de alcoholes y azúcares hasta polímeros complejos. Por otra parte, los autótrofos son bacterias cuya fuente de energía es la oxidación de compuestos inorgánicos, elementos o iones como pueden ser: NH_3 , NO_2^- , CH_4 , H_2 , SO_4^{2-} , Fe^{2+} .

Por su forma, las bacterias pueden ser esféricas, filamentosas, helicoidales o en forma de bastoncillo; su tamaño es variable y está comprendido entre 0.2 y 5 μm de ancho y de 1 a 10 μm de largo, aunque algunos filamentos pueden alcanzar varios cientos de micras de longitud. Toleran condiciones de medio ambiente muy diversas incluyendo temperaturas por debajo de los 0 °C hasta los 99 °C e intervalos de pH de 0 a 12. Estos microorganismos se pueden agrupar de acuerdo a sus fuentes de energía y a sus requerimientos de oxígeno. De esta manera, las bacterias aerobias requieren de la presencia de oxígeno para poder desarrollarse; las bacterias facultativas anaerobias prefieren las condiciones aerobias, pero pueden crecer bajo condiciones anaerobias. Sin embargo, los microorganismos

anaerobios estrictos no toleran la presencia de oxígeno para crecer y desarrollarse.

Las bacterias producen gran cantidad de enzimas, algunas de las cuales pueden ser excretadas por la célula y actuar afuera de la misma con el propósito de facilitar la asimilación de algunos elementos necesarios para su crecimiento.

Las bacterias que contribuyen en forma significativa al desarrollo de la corrosión influenciada microbiológicamente son Bacterias Formadoras de Lama (SLYM por sus siglas en inglés), Bacterias Relacionadas con Hierro (IRB) y las Bacterias Sulfato Reductoras (SRB).

1.4.3.1 Bacterias Formadoras de Lama.

La denotación "Bacterias Formadoras de Lama", no se aplica a un grupo específico de bacterias, ya que son muchas las especies de microorganismos que pueden producir lama bajo ciertas condiciones ambientales. Esta clase de bacterias son de difícil caracterización y generalmente se recurre a un conteo total en placa para determinar que especies de bacterias conforma una muestra de película en particular. Sin embargo, es posible aislar varios tipos de familias bacterianas como pueden ser: Pseudomonas, bacterias entéricas, familias de cocos y bacilos.

Las bacterias formadoras de lama son organismos que pueden crecer tanto en agua salada como dulce, aunque es más frecuente encontrarlas en agua de baja salinidad. Ciertos tipos de estas bacterias se desarrollan solo en ambientes aerobios, mientras que otras crecen solo en sistemas anaerobios; algunas son facultativas y se desarrollan bien en ambos medios.

Cuando la población de estos microorganismos es de tal magnitud, llegan a causar problemas de diversa índole tales como: el obstruir las líneas de conducción de fluidos, provocar pérdidas de transferencia de calor así como propiciar problemas de corrosión. Los problemas asociados con la corrosión se presentan debido a que densas masas de lama se adhieren a las paredes de las líneas de transmisión y de los equipos originando celdas de concentración de

diversos elementos. Este problema puede ser particularmente severo sobre todo en sistemas aerobios donde se facilita el desarrollo de celdas de concentración de oxígeno. Este proceso generalmente propicia condiciones favorables para que otro tipo de microorganismos más agresivos se desarrollen. Por otra parte, la respuesta que este tipo de comunidades bacterianas presenta a los tratamientos utilizados para su control, sobre todo a los de tipo químico, es muy pobre por lo que su eliminación es muy problemática.

1.4.3.2 Bacterias Relacionadas con Hierro.

Las ferrobacterias están consideradas entre los microorganismos que más problemas ocasionan en el medio acuoso, ya que tienen la capacidad de transformar compuestos de hierro soluble en compuestos insolubles, (ver ecuación 1.5). Estos compuestos se depositan alrededor de las células formando una especie de envoltura como en el caso de la especie *Sphaerotilus*, o bien, son secretadas por las mismas células formando tallos o cintas adheridas a las mismas bacterias, como en el caso de las *Gallionella*. El depósito y la acumulación de este material termina formando tubérculos que acaban por entorpecer el paso del fluido; estas bacterias tienen además, la capacidad de producir lama que provoca color y fetidez en el agua. Lo mismo que las bacterias formadoras de lama, también causan problemas de taponamiento en líneas y la formación de celdas de concentración de diversos elementos.

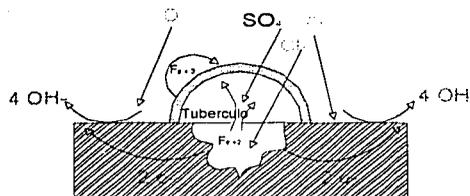


Estos microorganismos se desarrollan principalmente en agua dulce aunque también puede crecer en ambientes marinos, son bacterias aerobias que prosperan en sistemas con menos de 0.5 ppm de oxígeno donde contribuyen de manera importante a la formación de lama.

Estos microorganismos oxidan a los iones de hierro y manganeso para obtener energía produciendo densos depósitos de células y iones metálicos que son ambientes propicios para el desarrollo de la corrosión.

1.4.3.3 Bacterias Sulfato Reductoras.

Las bacterias sulfato reductoras son probablemente el grupo más importante de las bacterias relacionadas con el fenómeno de corrosión (ver figura 1.3) (Little B. et al. 1991). Estas bacterias están clasificadas en tres géneros: Desulfovibrio, Desulfomaculum y Desulfomonas. De estos grupos, las especies más conocidas son las del género Desulfovibrio, destacando las bacterias del tipo *Desulfovibrio desulfuricans*, esto es debido a que son las especies que están más ampliamente distribuidas en la naturaleza. Es común encontrarlas en ambientes muy diversos lo que comprende varios tipos de suelos y sedimentos, ambientes acuáticos de agua dulce y salada. Es posible aislarlos del sistema digestivo de algunos insectos y de rumiantes como cabras y vacas; también, es común encontrarlos en pozos de gas y de petróleo.



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Figura 1.3, Representación esquemática del proceso de corrosión influenciada microbiológicamente.

Las bacterias *Desulfovibrio desulfuricans*, son microorganismos motiles, mesofílicos, de fácil aislamiento que no forman esporas; se desarrollan a una temperatura entre 25 y 30 °C y en un intervalo de pH entre 5 y 9.5, aunque el pH ideal para su crecimiento es de 6 a 7.5. Morfológicamente, todas las especies de este género son muy parecidas y solo difieren entre sí por el tipo de sustrato orgánico que pueden oxidar, pero todas tienen la capacidad de reducir el sulfato a sulfuro, sin embargo, no solo las especies de este género poseen esta cualidad. Las bacterias del género Desulfomaculum, también conocidas como Clostridium y más específicamente la especie denominada *Clostridium nigrificans*, son capaces de llevar a cabo esta operación, pero lo que distingue a ambas especies, es que

son las únicas en su género que llevan a cabo la reducción del sulfato inorgánico a sulfuro en presencia de materia orgánica de acuerdo con la siguiente ecuación.

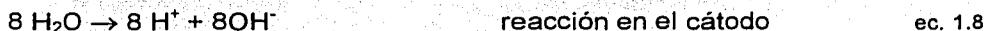


ec. 1.6

Tanto *Desulfovibrio desulfuricans* como *Clostridium nigrificans*, son microorganismos estrictamente anaerobios que obtienen su energía mediante el acoplamiento del proceso de oxidación de ciertos sustratos orgánicos o del hidrógeno gaseoso con la reducción del sulfato inorgánico. Sin embargo, a pesar de la similitud de ambas especies en este sentido, el *Clostridium* es una bacteria termófila, formadora de esporas, difícil de aislar y cultivar.

Una característica importante de las bacterias *Desulfovibrio* es que se desarrollan mejor ligadas a una superficie participando en un proceso simbiótico (donde son capaces de generar concentraciones por arriba de los 3100 mg l⁻¹ de H₂S) *Asociación Nacional de Ingenieros en Corrosión (1986)* (NACE por sus siglas en inglés) que dispersas en el lecho del fluido donde sus posibilidades de florecer se reducen considerablemente.

Se cree que el mecanismo por medio del cual las bacterias sulfato reductoras promueven o catalizan la corrosión es, a través de la remoción del hidrógeno del cátodo lo que origina una depolarización catódica. El mecanismo propuesto por *Wolzongen y Van der Vulgt (1934)*, ecuaciones 1.7 a 1.13, a pesar de la controversia generada, es el mecanismo aceptado hasta el momento, las reacciones electroquímicas involucradas en el proceso son las siguientes:

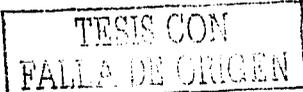


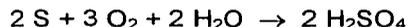
TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

$\text{SO}_4^{2-} + 8\text{H} \rightarrow \text{S}^{2-} + 4\text{H}_2\text{O} + \text{energía}$	depolarización catódica promovida por SRB	ec. 1.10
$\text{Fe}^{2+} + \text{S}^{2-} \rightarrow \text{FeS}$	productos de la corrosión en el ánodo	ec. 1.11
$3\text{Fe}^{2+} + 6\text{OH}^- \rightarrow 3\text{Fe}(\text{OH})_2$		ec. 1.12
$4\text{Fe} + \text{SO}_4^{2-} + 4\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{FeS} + 3\text{Fe}(\text{OH})_2 + 2\text{OH}^-$	ecuación general	ec. 1.13

La parte esencial en el mecanismo propuesto por Wolzongen y Van der Vulgt, es la remoción del hidrógeno atómico de la superficie metálica por medio de la actividad microbiana. Sin embargo, la importancia de la actividad enzimática en la depolarización del cátodo ha generado cierta controversia entre algunos investigadores. *Booth (1960)*, no encontró una correlación directa entre la actividad de la enzima hidrogenasa y la velocidad de corrosión. Estos investigadores encontraron que trabajando con soluciones de alta concentración de iones Fe^{2+} , las bacterias con y sin actividad enzimática (enzima hidrogenasa) mostraron importantes niveles de corrosión, lo que hace suponer que la presencia de los iones Fe^{2+} favorece al proceso de corrosión. *King et al., (1976)* afirmaron que el sulfuro de hierro es más agresivo en el proceso de corrosión cuando se involucra la actividad de la enzima hidrogenasa. Por otro lado, otros investigadores (*Iverson 1966*), señalaron que la causa principal de la corrosión producida en condiciones anaerobias es la producción de metabolitos altamente corrosivos producidos principalmente por las bacterias sulfato reductoras.

Es tal la atención que las bacterias sulfato reductoras han recibido en los últimos años que otro tipo de bacterias con marcadas tendencias corrosivas han pasado a un segundo término. Bacterias aerobias como *Thiobacillus thiooxidans*, son capaces de oxidar el sulfuro en forma elemental o combinado a H_2SO_4 de acuerdo con la ecuación:





ec.1.14

Estos organismos se desarrollan en ambientes con un pH entre 2 y 4, llegando a producir concentraciones de H_2SO_4 arriba del 5% en peso, por lo que son capaces de crear ambientes muy corrosivos. Se les encuentra fácilmente en pozos petroleros donde provocan gran daño a las instalaciones, en los sistemas de alcantarillado que transportan aguas residuales con un alto contenido de azufre degradando rápidamente la estructura de concreto.

Es indudable que existe gran cantidad de microorganismos relacionados directa o indirectamente con el problema de corrosión. En años recientes, el papel que han jugado los microorganismos en la corrosión de los metales ha llamado fuertemente la atención; industrias como la química, eléctrica, del gas y petróleo, así como la industria militar han reconocido la importancia de la corrosión influenciada microbiológicamente en sus sistemas operativos (*Little et. al., 1991*).

1.4.3.4 Escherichia coli.

Actualmente una buena parte de las plantas generadoras de energía eléctrica, así como algunas refinerías en un esfuerzo por evitar el consumo de agua limpia, utilizan en sus sistemas de enfriamiento aguas negras tratadas con una carga bacteriana importante, parte de esa población bacteriana está conformada por bacterias entéricas. La *Escherichia coli*, pertenece a este género y ha sido muy estudiada desde el punto de vista sanitario. Sin embargo, hay trabajos de investigación que la involucran de manera directa con el problema de la corrosión (*Pope et. al., 1973, Little et. al., 1991*).

Ácidos orgánicos como el acético, cetoglutarico, succínico y láctico son entre otros aislados de cultivos aerobios de *E coli*, los cuales promueven la corrosión del acero. *Little et al., (1986)*, demostraron que el ácido acético producido por bacterias aerobias, acelera el proceso de corrosión del acero protegido catódicamente. El ácido acético desestabiliza o disuelve depósitos calcáreos formados durante la polarización catódica atacando la superficie del metal.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Varios reportes mencionan la importancia de otros organismos en la corrosión de metales ferrosos señalando entre otros la E coli. Algunos investigadores sugieren que esta capacidad se debe a la producción de ácidos orgánicos. Otros en cambio reportan que la enzima hidrogenasa la cual poseen algunos de estos microorganismos es la responsable del proceso de corrosión. *Ashton et al., (1973)*, emplearon cepas aerobias facultativas de E coli, y encontraron que seis diferentes tipos de aleaciones de hierro-carbón en ambientes anaerobios son susceptibles de la actividad metabólica de esta bacteria. *Pope et al., (1986)*, reportaron que los ácidos orgánicos como el acético, fórmico y láctico producidos por bacterias, causan corrosión en los tubos de acero al carbón enterrados.

1.5 Biopelícula.

Generalmente se tiene la idea de que las bacterias se encuentran suspendidas en el medio ambiente que las rodea, esto no es del todo cierto porque las poblaciones importantes de bacterias viven ligadas a una superficie (sustrato). Esta característica se puede apreciar en medios tan diversos como la superficie interior de un tubo utilizado para el transporte de hidrocarburos, en la piel de animales, en el tallo de las plantas y en el sistema digestivo del hombre. Muchas bacterias, se desarrollan ligadas a una superficie con mayor facilidad que suspendidas en el medio que las rodea.

La formación de la biopelícula inicia con el transporte y la adsorción de moléculas orgánicas desde el lecho del fluido a una superficie o interfase. La colonización microbiana por su parte requiere del transporte de los microorganismos a la interfase previamente acondicionada. Este proceso se puede dar de diversas maneras: debido a la carga superficial, a la gravedad, al movimiento browniano, a la atracción química, al transporte convectivo debido al movimiento del fluido y por el movimiento de las propias bacterias que se encuentran cerca de la superficie. Una vez que las bacterias se encuentran ligadas a la superficie, ocurren eventos de enlace que comprenden enlaces reversibles e irreversibles. El enlace reversible involucra una débil atracción debido a las fuerzas de Van der Waals que sujetan a la bacteria cerca de la superficie, antes de que fuerzas más poderosas

actúen sujetando a la bacteria a la superficie con mayor firmeza. Estas fuerzas pueden ser combinaciones de fuerzas químicas y físicas. La fuerza química, es debido a la producción de sustancias viscosas adhesivas predominantemente exopolisacáridos que son segregados por las propias bacterias y se le conoce como glicocalix.

Las primeras bacterias que se adhieren crecen y se desarrollan produciendo con su actividad metabólica condiciones propicias para que otro tipo de microorganismos puedan florecer, lo que trae como consecuencia la formación de una serie de comunidades complejas que prosperan en un ambiente simbiótico dentro de esta estructura gelatinosa.

La adhesión de las bacterias a la superficie está influenciada por muchos factores, entre los que se encuentran la disponibilidad y concentración de nutrientes, pH, temperatura, concentración electrolítica, flujo de material y la superficie en si misma. El número y tipo de bacterias que se adhieren, también están sujetos a una serie de factores como: las propiedades físico-químicas de la superficie, la carga electrostática, la energía libre de la superficie y la textura o rugosidad de la misma. *Characklis, (1984)*, señaló que la colonización microbiana de un sustrato aparentemente aumenta con el incremento de la rugosidad de la superficie. *Nickels et al., (1981)*, demostraron que la colonización microbiana de granos de sílica de una misma granulometría pero con diferente microtopografía mostró diferencias en el tipo de comunidad y en la estructura de la biomasa después de un período de exposición de 8 semanas en agua salina. *Little et al., (1988)*, demostraron que la porosidad de la soldadura proporciona un aumento de lugares para la colonización microbiana comparada con la superficie plana del tubo.

La biopelícula no incrementa su tamaño indefinidamente, ya que después de alcanzar una fase estacionaria de crecimiento puede ocurrir la remoción de alguna de sus partes debido a factores como la erosión y el esfuerzo cortante en el lecho del fluido, de esta manera la biopelícula está sujeta a un cambio dinámico continuo que depende de la adhesión de nuevos organismos, de su crecimiento, decaimiento y desprendimiento de organismos y productos metabólicos.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

El espesor de la biopelícula puede variar desde una simple capa monocelular, hasta una película de 8 a 10 cm de espesor, sin embargo, 100 micras es usualmente el espesor de la película. La biopelícula puede ser dividida en diferentes componentes como son la superficie o interfase, la base o parte más baja de la misma, la superficie de la biopelícula, la fase acuosa y la fase gaseosa encima del líquido. Cada componente tiene sus propias características en términos de transferencia de nutrientes así como en los procesos de transporte de materia.

El objetivo de esta investigación es evaluar a nivel laboratorio la posibilidad de sustituir el uso del cloro por otro biocida (ionización de plata y/o cobre) compatible con el medio ambiente en agua de enfriamiento de la industria en general. Este estudio permitirá obtener como producto final, una metodología alternativa para sustituir el uso del cloro en el tratamiento microbiológico del agua de los sistemas de enfriamiento.

Algunos iones metálicos tienen capacidad biocida. Los iones de plata y cobre son efectivos en bajas concentraciones para el control de los microorganismos en los sistemas de enfriamiento con un mínimo impacto ambiental.

La metodología para llevar a cabo el estudio de la posibilidad de sustituir el cloro por otro biocida, consiste en la evaluación de la capacidad biocida de los iones de plata y cobre generados electroquímicamente en un modelo experimental continuo a nivel laboratorio.

Este trabajo de investigación consta de cinco capítulos distribuidos de la siguiente manera:

En el primer capítulo, se describe brevemente los tipos más usuales de torres de enfriamiento; su funcionamiento y los problemas más comunes asociados a la presencia de los microorganismos en el agua. Se presenta una descripción general del control microbiológico del agua, haciendo hincapié en el cloro; consecuencias y desventajas de su uso. Se explican los mecanismos de acción:

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

de la plata, el cobre y el cloro sobre las bacterias; se menciona también, de manera general, los antecedentes que ha motivado el empleo de la ionización como medio de control microbiológico del agua. Finalmente, se describe con cierto detalle a los microorganismos que interviene en el proceso corrosivo, poniendo especial atención en las bacterias.

Una descripción detallada del sistema de flujo continuo, utilizado en la fase experimental de este trabajo, se presenta en el capítulo dos. Se hace mención del sistema empleado, así como del procedimiento llevado a cabo para la generación de los iones; los análisis químicos y bacteriológicos efectuados se describen con cierto detalle.

Se explica con especial cuidado todo el procedimiento llevado a cabo en la fase experimental de este proyecto. Finalmente, en este capítulo, se hace mención del método utilizado para determinar la efectividad de los sistemas biocidas utilizados en el control de los microorganismos.

En el capítulo tres, se presenta un análisis de los resultados obtenidos en la etapa experimental; el análisis, se realiza de manera separada para cada grupo de bacterias, poniendo mayor atención en los sistemas biocidas que mejores resultados arrojaron. Se exhibe, en tablas, la efectividad de los sistemas biocidas utilizados con cada grupo de bacterias. Finalmente, se muestra una secuencia fotográfica de los resultados obtenidos en los experimentos llevados a cabo para determinar el efecto, que sobre la biopelícula pudieran tener los sistemas biocidas que mostraron mayor consistencia en la primera etapa experimental.

En el capítulo cuatro, se presenta una estimación a nivel laboratorio de los costos generados con el uso del cloro y se compara con los costos que se generarían por usar plata y/o cobre.

Se combinan datos experimentales (los datos de los sistemas biocidas que mejores resultados dieron en el control microbiológico del agua a nivel

laboratorio), con datos reales: volumen de agua manejado por una torre de enfriamiento y los costos de la plata y el cobre.

Finalmente, en el capítulo cinco se presentan las conclusiones y recomendaciones obtenidas en este trabajo de investigación.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

CAPÍTULO DOS

METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

2.1 Sistema de flujo continuo parcialmente abierto.

Para realizar la parte experimental de este trabajo, fue necesario diseñar y construir un sistema de flujo continuo, que permitiera a nivel laboratorio, reproducir y monitorear algunas de las condiciones de operación de un sistema de enfriamiento abierto a nivel industrial.

El sistema de flujo continuo (figura 2.1), consiste básicamente de un circuito de PVC de $\frac{3}{4}$ " que permite la entrada y salida del agua hacia un estanque de vidrio con una capacidad de 20 litros, éste, tiene en su interior una bomba sumergible (bomba pequeño gigante serie 5-MSP).

Cuenta con un intercambiador de calor de cupro-níquel (70% Cu / 30% Ni) similar al utilizado en los sistemas de enfriamiento de la Comisión Federal de Electricidad. Para controlar el flujo, el sistema cuenta con un rotámetro de acrílico y PVC y varias válvulas.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

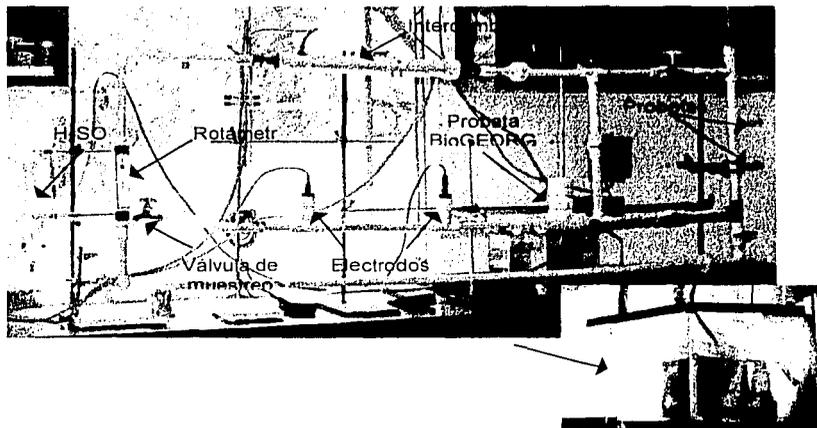


Figura 2.1. Fotografía del sistema de flujo continuo experimental que fue utilizado para realizar la parte experimental de este estudio, el equipo consta de: rotámetro, intercambiador de calor, entradas para probetas, entrada para electrodo de pH, conductividad y temperatura, válvula de muestreo, adición de ácido, estanque, además de una entrada para una probeta BioGEORGE.

El sistema cuenta también con varias entradas que permiten insertar diferentes tipos de electrodos para el monitoreo y control de parámetros como pH, conductividad, temperatura, así como la adición del H_2SO_4 utilizado en el ajuste del pH. Otro parámetro al que también se le puede dar seguimiento es la corrosión, y para ello, el sistema presenta dos entradas que permiten insertar probetas o bien monitorear la actividad biológica a través de una sonda electrónica (Sistema BioGEORGE). El sistema tiene además una válvula para tomar las muestras utilizadas en los análisis microbiológicos.

El control del pH se llevó a cabo utilizando un potenciómetro (marca ORION modelo 250 A) que se calibró aproximadamente cada doce horas, utilizando soluciones buffer de pH 7.00 y 4.01 (marca Orion). El pH, se mantuvo en un intervalo de 7.0 a 8.0 con la adición de una solución de H_2SO_4 0.1 N.

La conductividad de la solución y su temperatura, se midieron con un conductímetro (marca HACH *sensION* 5), que se calibró diariamente con una solución estándar de Cloruro de Sodio $1000 \pm 10 \mu S/cm$ (marca HACH).

El flujo se controló durante toda la etapa experimental a 1.8 GPM, y para ello se utilizó un rotámetro de acrílico y PVC con un intervalo de operación de 0.2 a 2.0 GPM, (marca King Instruments Company serie k72-5/1).

El sistema en toda la etapa experimental, se mantuvo en un intervalo de temperatura de 27 ± 5 °C, utilizando un intercambiador de calor de cupro-níquel conectado a un baño con recirculación (Polyscience con control digital de temperatura).

2.2 Generación de iones plata y cobre.

Los iones de plata y de cobre se electrogeneraron utilizando un equipo AUTOLAB/PGSTAT30 (marca BRINKMAN). Este equipo está conectado a una computadora personal mediante una interfase y cuenta con un software para registrar la señal electrónica en tiempo real. La figura 2.2, muestra una fotografía del equipo utilizado para este propósito.

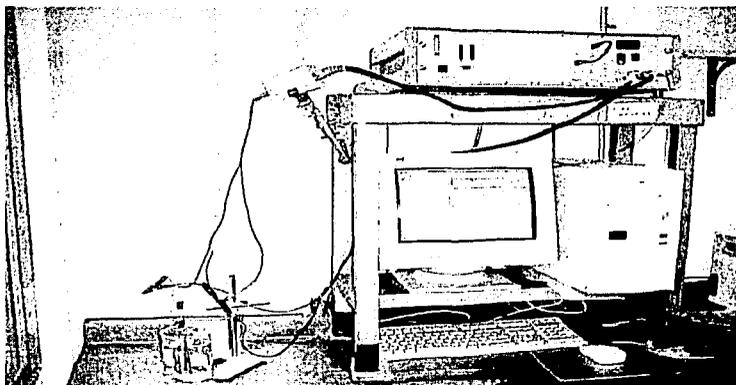


Figura 2.2. Equipo utilizado para la electrogeneración de los iones de plata y de cobre. El sistema completo, cuenta con equipo AUTOLAB/PGSTAT30, computadora personal con interfase y una celda electroquímica con electrodos de plata o cobre.

Para la generación de los iones se utilizaron electrodos (placas) de plata (99% de pureza) de aproximadamente 30 cm^2 y de cobre (100% de pureza) de aproximadamente 55 cm^2 , ambas placas de 1 mm de espesor.

Los electrodos antes de ser utilizados para la electrogeneración de los iones, se pulieron con una lija fina (Nº 500) de agua con el propósito de eliminar la mayor cantidad de óxidos e impurezas adheridas en la superficie, se enjuagaron con agua destilada y se secaron con papel absorbente.

Una vez limpios y secos, se colocaron en una celda electroquímica de dos electrodos la cual contenía agua destilada o una solución del ion previamente electrogenerado en agua destilada.

La figura 2.3, muestra una fotografía de la celda electroquímica. La electrogeneración de los iones se llevó a cabo potencioestáticamente, aplicando un voltaje constante de 8 voltios para la generación de los iones plata y de 9 voltios para la generación de los iones cobre.

El electrodo de trabajo para la generación de los iones de plata, fue de plata y de cobre para la generación de los iones de cobre, el electrodo de referencia fue del mismo material que el electrodo de trabajo. La celda electroquímica, se mantuvo en todo el proceso de generación a temperatura ambiente.

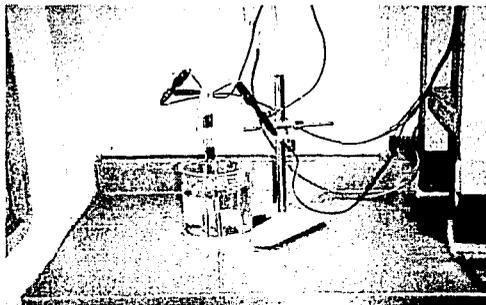


Figura 2.3. Celda electroquímica utilizada para la electrogeneración de los iones de plata y de cobre, utilizados en la parte experimental. El equipo consta: de un vaso de precipitados de un litro de capacidad con agua destilada o bien con una solución de iones plata o cobre, cuenta con electrodos de trabajo y de referencia conectados al equipo AUTOLAB/PGSTAT30.

2.3 Análisis químicos.

La concentración de los iones se determinó utilizando un espectrofotómetro (marca HACH modelo DR/2010). Para analizar la plata se utilizó el método colorimétrico 8120 del manual de operación de dicho equipo, de la misma manera, la determinación del cobre, se llevó a cabo utilizando el método 8026 del mismo manual.

En los experimentos en los que se usó cloro, éste provenía de una solución comercial de hipoclorito de sodio al 6% de cloro libre. La concentración de dicho elemento también se determinó por colorimetría; con el método DPD 8021, se analizó el cloro libre y el análisis del cloro total con el DPD 8167 del manual de operación del espectrofotómetro utilizado.

2.4 Análisis bacteriológico.

2.4.1 Bacterias coliformes.

Las bacterias coliformes se cuantificaron utilizando la técnica de las pruebas Colilert. Esta técnica se utiliza para detectar y confirmar de manera simultánea coliformes totales y E coli en agua. Se basa en la tecnología de sustrato definido utilizando indicadores-nutrientes, los cuales, producen color y/o fluorescencia al ser metabolizados por las bacterias coliformes totales y E coli. Esta prueba es capaz de detectar bacterias a 1 NMP/100 ml aún con una presencia de hasta 2 millones de bacterias heterotróficas de otra especie por 100 ml.

El procedimiento para la determinación de las bacterias coliformes se llevó a cabo de la siguiente manera: en un frasco de Nalgene, perfectamente limpio, se tomó de manera aséptica 100 ml de muestra (toda la operación se llevó a cabo cerca de la flama de un mechero). A los 100 ml de muestra, se le adicionaron 5 ml de solución neutralizante (15% de tiosulfato de sodio y 10% de tioglicolato de sodio), esta solución sirve para anular el efecto biocida combinado del cloro y la plata y/o el cobre (Landeem *et. al.*, 1989). Se tomó la muestra del frasco de Nalgene con una pipeta automática graduada y esterilizada. Se realizaron las diluciones pertinentes, las cuales se hicieron utilizando agua destilada previamente

esterilizada y dentro de un intervalo de 10^{-4} a 100 ml de acuerdo con las características de cada experimento y con el tiempo de toma de la muestra. Su contenido se vertió en un frasco de vidrio (frasco lechero). A la muestra contenida en el frasco lechero se le adicionó el contenido de un sobre de reactivo Colilert, se tapó y se agitó vigorosamente de manera que todo el reactivo se disolviera en el agua. La muestra, una vez preparada, se vació de manera aséptica a la charola Quanti-Tray, esta charola consta de 49 celdas grandes y 48 chicas las cuales hacen un volumen de 100 ml.

La charola con la muestra se colocó en un dispositivo de goma y se introdujo en un aparato sellador Quanti-Tray Sealer modelo 2X de IDDEX.

Posteriormente la charola se incubó por espacio de 24 horas a una temperatura de 35 ± 0.5 °C en una incubadora (marca Thermolyne Tipo 42000).

Al concluir el período de incubación, la charola se retiró de la incubadora y se contaron las celdas. Para el caso de las coliformes totales, el color amarillo en las celdas indica presencia de estas bacterias y se considera como positivo. Se contabiliza el número de celdas positivas, contando por separado las celdas grandes y las pequeñas, el resultado obtenido es utilizado para determinar el Número Más Probable por 100 ml (NMP/100ml) de unidades formadoras de colonias, esto se logra utilizando la tabla de número más probable IDDEX Quanti-Tray/2000.

Para el caso de la E coli, las celdas positivas se determina por fluorescencia utilizando una lámpara de luz ultravioleta (marca HACH), el conteo en este caso, se realizó en un cuarto oscuro, el método para determinar el número más probable fue similar al utilizado para las coliformes totales.

Todo el material utilizado en estas pruebas se esterilizó en un autoclave (marca felisa) a una presión manométrica de 1.0 kg/cm^2 y a una temperatura de 121 °C por espacio de 15 minutos. Una vez que se contó el número de celdas positivas, tanto para las coliformes total como para la E coli, las charolas se esterilizaron en autoclave antes de ser desechadas.

2.4.2 Bacterias Relacionadas con Hierro (IRB), Bacterias Sulfato Reductoras (SRB) y Bacterias Formadoras de Lama (SLYM).

Para llevar a cabo el estudio de estas bacterias, se utilizaron las pruebas de reacción de la actividad biológica (BART™ por sus siglas en inglés). Éste es un sistema de análisis microbiológico empleado para detectar bacterias potencialmente dañinas en medio acuoso. Este sistema puede involucrar diferentes tipos de pruebas, que permiten diagnosticar la presencia de una determinada especie, así como detectar la actividad (agresividad) de las mismas. Las pruebas de reacción de la actividad biológica detectan reacciones biológicas relacionadas al desarrollo de eventos como la formación de turbiedad, lama y gel. Estas reacciones están relacionadas con la manera de interactuar de los microorganismos con el biodetector. La formación de gases, precipitación de sólidos y cambios de color son algunas de las manifestaciones de estas reacciones.

La naturaleza del biodetector permite realizar las pruebas con muestras que contienen a los microorganismos aún en su estado natural, lo cual los hace diferentes y posiblemente superiores a las técnicas que utilizan agar. En los métodos de cultivo con agar, el agua debe estar estrechamente ligada al mismo, esto significa, que los microorganismos tienen que pasar de un medio acuoso a un medio cristalino para poder crecer, lo que ocasiona que en muchas ocasiones los microorganismos no se adapten a estos cambios y no sean capaces de desarrollarse.

El biodetector presenta una serie de características que permiten el crecimiento de las bacterias durante el desarrollo de las pruebas:

- No es necesario diluir la muestra
- Por la naturaleza del biodetector, éste se ajusta a muestras que provienen de diversos medios.
- Las bacterias que pueden estar activas y reaccionar dentro de las condiciones selectivas creadas por el biodetector, pueden ser consideradas como pertenecientes a un grupo específico de bacterias.

Con el fin de crear las condiciones propicias para el desarrollo de la actividad microbiológica; el biodetector, figura 2.4, está conformado por dos cilindros concéntricos de acrílico, además de una esfera contenida en el cilindro interior el cual también contiene los nutrientes selectivos en la base del mismo.

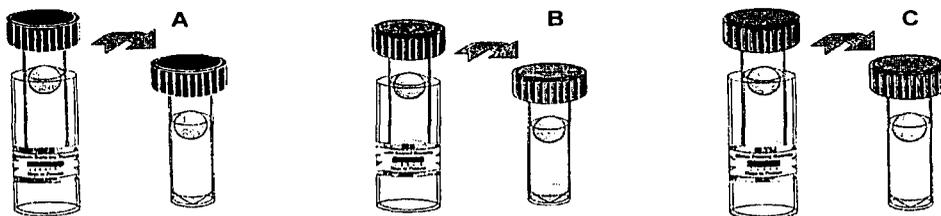


Figura 2.4. Sistema de análisis microbiológico BART: A) biodetector utilizado para el estudio de las bacterias relacionadas con hierro, (IRB); B), se utilizó para el estudio de las bacterias sulfato reductoras, (SRB), y C), para las bacterias formadoras de lama, (SLYM)

La función de la esfera, es la de restringir el paso del oxígeno hacia la parte más baja de la solución contenida en el cilindro; los nutrientes en cambio, son los que promueven y sustentan el desarrollo de un grupo específico de microorganismos. En el caso de la esfera, ésta se encuentra flotando en la superficie de la muestra, el oxígeno penetra en la solución a través del espacio generado entre la esfera y la pared del biodetector, permitiendo el desarrollo de las bacterias aerobias que requieren de este elemento para su crecimiento. Estas bacterias consumen todo el oxígeno que se encuentra disuelto en el agua, lo que ocasiona que la muestra en su parte más baja quede sin oxígeno, generando de esta manera condiciones propicias que favorecen el crecimiento de bacterias anaerobias en el fondo del cilindro.

Un biodetector cuenta con las características necesarias para generar ambientes aerobios (oxidantes) y anaerobios (reductores), creando un gradiente oxidoreductor con una zona de transición en la muestra.

Las bondades de este dispositivo, permiten el crecimiento de diferentes microorganismos a lo largo de todo el gradiente redox, esto permite observar reacciones y actividad en esa zona. Muy a menudo, el primer signo de esta

actividad es el desarrollo de una nube de crecimiento microbiano, que puede ser difusa y borrosa o bien, una placa de grasa flotando en el medio acuoso.

Sin duda, el factor más importante para determinar la presencia de diferentes tipos de bacterias es el medio cristalino selectivo agregado en el fondo del cilindro de acrílico, éste, empieza lentamente a disolverse cuando se adiciona la muestra, generando un fenómeno de difusión que se mueve lentamente hacia la parte superior de la muestra contenida en el cilindro.

El lento movimiento de este proceso de difusión, permite a las bacterias adaptarse al incremento en la concentración de los nutrientes, lo que da oportunidad a los microorganismos más sensibles de desarrollarse y crecer en los ambientes creados en este tipo de pruebas.

La localización del crecimiento bacteriano en la muestra, da una idea del tipo de microorganismos involucrados. La actividad en la base del biodetector tiende a sugerir la presencia de organismos anaerobios, mientras que la actividad en la parte superior de la solución, alrededor de la esfera, indica probable presencia de organismos aerobios.

Con frecuencia la actividad puede desarrollarse a lo largo del frente de difusión del medio cristalizado, cuando esto ocurre, los microorganismos probablemente son capaces de crecer bajo condiciones tanto aerobias como anaerobias (anaerobios facultativos).

Estas pruebas facilitan el desarrollo de diferentes tipos de medio ambiente; y gracias al medio de cultivo, se favorece el crecimiento de diversos microorganismos, que llegan a desarrollarse en comunidades bacterianas y a su vez ser detectadas.

La información obtenida en las pruebas BART, puede ser utilizada para crear un bosquejo de la comunidad bacteriana presente en la muestra y estimar el tamaño de su población. Las características del consorcio bacteriano, pueden ser determinadas por una serie de patrones de reacción exhibidas durante el desarrollo de la prueba. La población es determinada por la extensión del tiempo de retraso, con el entendido de que entre más largo sea este tiempo en la

detección de cada una de las reacciones, la agresividad de la población microbiana es menor, este factor es diferente para cada una de las pruebas.

El tiempo de retraso normalmente es medido en días, a partir de la primera observación de la reacción.

2.4.2.1 Bacterias Relacionadas con Hierro (IRB).

El hierro es conocido por ser una sustancia elemental para la vida, en los animales, es parte fundamental del mecanismo de oxigenación de la sangre, además, debido a que desempeña una función importante en el metabolismo, se genera una competencia de tipo biológico por obtener dicho elemento. Con algunos microorganismos ocurre algo similar, ya que el hierro es utilizado para llevar a cabo algunas de sus funciones vitales.

Muchas bacterias pueden ligar los iones de Fe^{3+} en estructuras quelatadas conocidas como ligandos, esto quiere decir que son capaces de ligar y retener el hierro de diversas maneras, formando grandes estructuras ricas en hierro las cuales son algunas veces observadas como: incrustaciones, tubérculo y fangos con depósitos de hierro. Hay muchas bacterias que pueden continuar acumulando hierro a un punto tal, que en su crecimiento llegan a estar casi saturadas con óxidos de hierro formando incrustaciones muy duras, las cuales, pueden incorporar carbonatos y sulfuros con un alto contenido de hierro.

El desarrollo de las bacterias relacionadas con hierro normalmente ocurre en presencia de oxígeno y son fácilmente observadas como lama o incrustaciones. Estas formaciones tienen dos características comunes: una concentración alta de iones de Fe^{3+} y una densa población de bacterias relacionadas con hierro. Este tipo de bacterias son capaces de oxidar el hierro a Fe^{3+} o bien de reducirlo a su forma Fe^{2+} .

El biodetector está diseñado para detectar estas bacterias y es capaz de llevar a cabo reacciones de óxido-reducción involucrando hierro.

El medio selectivo para el desarrollo de las bacterias relacionadas con hierro, se basa en un compuesto de citrato férrico de amonio que contiene en su estructura química los elementos esenciales para el desarrollo de estas bacterias: carbón,

nitrógeno y hierro. Este complejo se encuentra en la base del biodetector y comienza a disolverse una vez que la muestra ha sido adicionada, dando lugar a una serie de reacciones químicas y biológicas que dependen de la composición de la muestra, del gradiente redox y del gradiente de difusión de los nutrientes.

Esta prueba aprovecha específicamente la capacidad de estas bacterias para utilizar el hierro en su forma oxidada y reducida, generando diversas reacciones las cuales giran en torno a un complejo patrón de señales que se manifiestan como: cambios de color, producción de gas, turbiedad y formación de lama, ver tabla 2.1 (*BART™*). Estos eventos reflejan reacciones que involucran bacterias relacionadas con hierro.

Tabla 2.1
Bacterias Relacionadas con Hierro

REACCIONES CARACTERÍSTICAS EN LAS PRUEBAS IRB-BART		
Código de Reacción	Reacciones	Población Bacteriana
FO	Espuma alrededor de la bola	Bacterias anaerobias
BR	Anillo café alrededor de la bola	Bacterias aerobias formadoras de lama IRB
CL	Solución turbia	Bacterias heterotróficas
GC	Solución verde turbia	Pseudomonas
RC	Solución roja turbia	Bacterias entéricas
BL	Solución negra	Pseudomonas y entéricas

2.4.2.2 Bacterias Sulfato Reductoras (SRB).

Las bacterias sulfato reductoras son un grupo de bacterias anaerobias, que como parte de su actividad normal generan sulfuro de hidrógeno (H_2S). Esta sustancia puede causar un sin número de problemas: desde mal olor, olor a huevos podridos, ennegrecimiento de equipo y del agua, formación de lama, así como la iniciación de procesos corrosivos.

La detección de estos microorganismos es un poco problemática, debido a que son bacterias anaerobias que tienden a crecer en la parte más profunda de la biopelícula como una parte de un consorcio bacteriano. Este tipo de bacterias son

un grupo inusual ya que utilizan nitrógeno como elemento básico para llevar a cabo muchas de sus actividades metabólicas.

La actividad de este tipo de bacterias en el biodetector es fácilmente reconocida desde el momento en que los sulfatos son reducidos a sulfuro de hidrógeno, este compuesto posteriormente reacciona con el Fe^{2+} difundido en la muestra para formar sulfuros de hierro de color negro. Los sulfuros normalmente se forman en la base como precipitados de color negro o bien, alrededor de la esfera que flota en la superficie de la muestra como un anillo irregular de color negro, ver tabla 2.2 (BART™).

En reacciones posteriores las bacterias sulfato reductoras pueden formar parte de un consorcio aerobio que se desarrolla alrededor de la esfera. Normalmente cuando esto pasa, el ennegrecimiento puede ser visto como estructuras granulares adheridas a un anillo de lama que no esta totalmente negro al rededor de la esfera.

Ocasionalmente las bacterias heterotróficas anaerobias pueden llegar también a estar muy activas y crecer más rápido que las propias bacterias sulfato reductoras, cuando esto sucede la solución tiende a ponerse turbia.

Tabla 2.2
Bacterias Sulfato Reductoras

REACCIONES CARACTERÍSTICAS EN LAS PRUEBAS SRB-BART		
Código de Reacción	Reacciones	Población Bacteriana
BB	Negro en la base del biodetector	Lama densa de bacterias y consorcio de SRB
BT	Negro alrededor de la esfera	Bacterias aerobias formadoras de lama y consorcio de SRB
BA	Negro en la base del biodetector y alrededor de la esfera	Consorcio bacteriano complejo con SRB presente
CL	Solución turbia	Bacterias anaerobias

2.4.2.3 Bacterias Formadoras de Lama (SLYM).

Bacterias formadoras de lama es el nombre que reciben las bacterias que son capaces de producir copiosas cantidades de lama sin tener necesariamente la acumulación de hierro. Este tipo de bacterias también pueden crecer bajo diferentes condiciones redox, pero generalmente producen la más espesa formación de lama bajo condiciones aerobias, esto puede desarrollarse como anillos alrededor de la esfera que flota en la solución. El crecimiento de la lama, también puede ser visto como turbiedad o como un gel que puede ser localizado o bien manifestarse en todo el cuerpo de la muestra, generalmente el gel se desarrolla del fondo hacia arriba en la columna líquida.

Una gran mayoría de bacterias pueden producir lama. La lama está formada por una gran variedad de polímeros exopolisacáridos. Esta sustancia polimérica extracelular, literalmente cubre a las células dentro de una masa común de lama que tiene capacidad para acumular grandes cantidades de agua en su interior.

Algunas bacterias producen sustancias poliméricas extracelulares que mantienen fuertemente unidas células individuales. Otras, en cambio, generan una copiosa cantidad de sustancias poliméricas extracelulares que son envueltas como una masa completa de células dentro de una lama común.

La función de la lama parece ser de protección, si las condiciones ambientales son adversas, la capa de lama tiende a ser espesa. No sólo la lama actúa como protección de las células residentes, también actúa como una bioesponja por la acumulación de muchas sustancias que podrían formar o una base de nutrientes o bien ser compuestos tóxicos para las mismas células.

Las bacterias formadoras de lama tienden a ser aerobias y formar lama en los límites de un gradiente óxido-reductor, este gradiente puede formarse alrededor de la esfera originando un anillo de lama o en la profundidad de la columna líquida formando un crecimiento de lama de manera apreciable. Este crecimiento puede ser como un disco y parecer que flota a una profundidad específica, como una nube con bordes indefinidos, como una base densa de lama en la parte cónica del biodetector o bien, tener la apariencia de gel manteniendo esa forma aún cuando el biodetector sea inclinado.

Muchas bacterias formadoras de lama pueden producir varios pigmentos que colorean la lama, tales crecimientos son generalmente de color blanco, gris, amarillo o de color beige. Estos frecuentemente oscurecen con el tiempo, particularmente en presencia de luz. Distintos colores de lama incluyen el rojo (comúnmente asociado a *Serratia marcescens*) y violeta (asociado a especies de *Chromobacterium* o *Janthinobacterium*).

El oscurecimiento también puede ocurrir particularmente después del crecimiento. Esto puede ser como resultado de la producción de sulfuro de hierro o carbonatos, los cuales están comúnmente asociados con la presencia de cultivos mixtos incluyendo bacterias entéricas, ver tabla 2.3 (BARTTM).

Tabla 2.3
Bacterias Formadoras de Lama

REACCIONES CARACTERÍSTICAS EN LAS PRUEBAS SLYM-BART		
Código de Reacción	Reacciones	Población Bacteriana
DS	Lama en la base del biodetector	Bacterias formadoras de lama densa
SR	Lama alrededor de la esfera	Bacterias anaerobias facultativas
CL	Solución turbia	Bacterias aerobias formadoras de lama
PB	Azul pálido encendido	<i>Pseudomona aeruginosa</i>
BL	Solución negra	Bacterias <i>Pseudomonas</i> y Entéricas
TH	Filamentos	Bacterias de lama densa

2.5 Procedimiento realizado en las pruebas BART

Para realizar estas pruebas, se procedió de la siguiente manera: bajo condiciones asépticas, se sacó el biodetector de su empaque de aluminio y se adicionó 15 ml de agua sin diluir proveniente del sistema de flujo continuo al cilindro interior del biodetector.

Se tomaron cuatro muestras: a las 0, 24, 48 y 72 horas, la muestra de las cero horas, se tomó antes de adicionar el biocida y es considerada como referencia para determinar la eficiencia del tratamiento. Con el empleo de tablas y con la ayuda de algunos parámetros, es posible determinar el tipo y la densidad de la población en la muestra. Todas las muestras se estuvieron observando por

espacio de 8 días, llevando un registro diario en una bitácora de las reacciones observadas. Las muestras permanecieron durante el desarrollo de la prueba a temperatura ambiente y protegidas de la luz. Al terminar el periodo de observación los biodetectores con todo y muestra, se esterilizaron a una temperatura de 121 °C y a una presión de 1.0 kg/cm² de presión manométrica utilizando un Autoclave para posteriormente ser desechadas.

Una vez que la muestra ha sido adicionada al biodetector, se activan una serie de factores que hacen posible el desarrollo de los microorganismos, debido a que se crean en el biodetector diferentes escenarios que permiten la proliferación de los mismos. Cuando inicia la actividad microbiológica, se llevan a cabo una serie de reacciones propias de cada especie, las que se manifiestan por medio de: cambios de color en la solución (muestra más nutrientes), turbiedad, formación de lama, generación de gas, lo que origina la formación de espuma, precipitados en el fondo del biodetector, incrustaciones alrededor de la esfera, fluorescencia a la luz ultravioleta. Estos son considerados como códigos de reacción que permiten, junto con el empleo de las tablas 2.1 a 2.3 determinar el tipo de bacterias presentes en esa muestra.

2.6 Procedimiento experimental.

Una vez conocida la concentración de la solución de los iones plata y cobre, así como la concentración de cloro, se procedió a evaluar su capacidad biocida utilizando agua residual de la planta de tratamiento del Instituto de Investigaciones Eléctricas y agua de repuesto al sistema de enfriamiento de la Central Termoeléctrica de Valle de México. Se realizaron varios experimentos utilizando diferentes concentraciones y combinaciones de biocida, los sistemas utilizados fueron los siguientes: plata, plata/cobre, cloro y plata/cobre/cloro.

Estos sistemas, sus combinaciones y concentraciones, fueron definidas con base a un estudio previo *Silva M. Susana y Álvarez G. Alberto, (2001) y datos de la Tabla 1.1.*

Antes de efectuar cada experimento, el sistema de flujo continuo, fue acondicionado previamente utilizando para ello la misma concentración y combinación de biocidas que sería utilizada en cada prueba, el volumen en este caso se complementó con agua destilada, se controló también la temperatura, el flujo y el pH. El acondicionamiento del sistema de flujo continuo para cada experimento fue por un período de 24 horas, al término del cual se enjuagaba con agua destilada. Al terminar cada experimento, el sistema era sometido a un lavado con una solución de ácido nítrico al 12% por un período de 24 horas, con el fin de eliminar restos de iones de plata y cobre de experimentos anteriores que pudieran interferir con el desarrollo de la siguiente prueba.

Al inicio de cada experimento se adicionó primero el agua residual o de repuesto al estanque, esta es la única parte del sistema que estuvo expuesta al medio ambiente. Posteriormente, con cronómetro en mano, se adicionó el biocida, se aforo el sistema a un volumen de 11 litros y se tomó el tiempo, conectando simultáneamente la bomba para recircular la mezcla en el sistema. Una válvula a la salida de la bomba, permitió controlar el flujo a través del sistema por medio de un rotámetro. El pH, la conductividad, así como la temperatura se monitorearon de manera continua por medio de electrodos y se registraron los datos cada hora sin interrumpir la operación del sistema, se llevó un registro en una bitácora de estos parámetros para cada experimento realizado. El pH, sobre todo para el agua de la planta termoeléctrica, se registró con mayor frecuencia debido a su tendencia a un valor alcalino mayor a un pH de 8. Este factor es importante debido a que valores de pH alcalino promueven la formación de precipitado de minerales que pueden incrustarse en el intercambiador de calor, así mismo, un buen desempeño de los iones, sobre todo de los iones de plata, dependen en gran medida de este parámetro, (*Chambers et al., 1962; Moyasar y Yahya 1989*).

El factor tiempo desempeña un papel muy importante en el desarrollo de este trabajo, por tal motivo, las muestras de agua se tomaron del sistema continuo a diferentes intervalos que previamente habían sido establecidos a las: 0, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 7.0, 11.0 horas, a partir de esta hora, las muestras se tomaron cada 6 horas hasta terminar el experimento. Las muestras tomadas de esta forma se

utilizaron para analizar las bacterias coliformes; mientras que el muestreo para el análisis del resto de las bacterias, se llevó a cabo cada 0, 24, 48 y 72 horas, usando los biodetectores BART.

Cada experimento tuvo una duración aproximada de 72 horas, tiempo en el cual el sistema fue monitoreado a diferentes intervalos, siendo estos intervalos más frecuentes al inicio de cada experimento, ya que es en los primeros minutos cuando mayor impacto se observó en la reducción de la población bacteriana, sobre todo en la población de bacterias coliformes.

Un período de 72 horas es considerado como representativo de los fenómenos químicos y biológicos que se registran en un sistema de enfriamiento.

La concentración de la solución biocida de iones plata, cobre y cloro para cada experimento se calculó empleando la ecuación 2.1.

$$V_1 C_1 = V_2 C_2$$

ec. 2.1

Donde:

V_1 = Volumen de la solución de iones plata y/o cobre requerido, l

C_1 = Concentración de los iones plata y/o cobre, mg l^{-1}

V_2 = Volumen total (muestra más biocida), l

C_2 = Concentración requerida para cada ion en cada experimento, mg l^{-1}

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

2.7 Efectividad del tratamiento.

Para evaluar la efectividad de cada tratamiento se llevó a cabo un control microbiológico encaminado a determinar la población microbiana presente en el agua a diferentes intervalos a lo largo de todo el proceso.

La efectividad de los diferentes sistemas biocidas estudiados en el presente trabajo, se determinó con base en las reacciones desarrolladas por las bacterias en los biodetectores BART. Las reacciones se desarrollaron a diferentes intervalos de tiempo. El tiempo que tarda en aparecer la primera reacción desde el inicio de la prueba para una muestra determinada analizada con el biodetector, se determina tiempo de retraso T_L . Cuanto más grande es T_L , menos agresivas son las bacterias detectadas.

El tiempo de retraso para estimar la agresividad de las bacterias, es diferente para cada consorcio bacteriano, se espera que un tratamiento sea exitoso en la medida en que las reacciones tarden en aparecer, esto se mide comúnmente en días de retraso.

La magnitud de la diferencia del tiempo de retraso antes y después de un tratamiento, indican la efectividad del mismo, esto se puede interpretar de manera más clara utilizando la siguiente ecuación.

$$T_{LD} = T_{LDT} - T_{LAT} \quad \text{ec. 2.2}$$

Donde:

T_{LD} , la diferencia de tiempo originada por el tratamiento.

T_{LDT} , es el tiempo de retraso después del tratamiento, días.

T_{LAT} , es el tiempo de retraso antes del tratamiento, días.

Un tiempo de retraso negativo significa que el tratamiento no ha sido efectivo, además, las bacterias en el agua se han vuelto más agresivas, en la tabla 2.4 ($BART^{TM}$) se muestran los diferentes intervalos utilizados en la evaluación de la efectividad del tratamiento.

Tabla 2.4
Intervalos del tiempo de retraso para evaluar la efectividad del tratamiento

TL_D, días	Observación
>-1.0	El tratamiento ha fallado, las bacterias han llegado a ser mucho más agresivas en el agua
-0.9 a -0.1	El tratamiento ha fallado en reducir la carga bacteriana en el agua
-0.1 a 0.1	Tratamiento inefectivo
0.2 a 0.9	Tratamiento marginalmente efectivo
1.0 a 2.9	El tratamiento aplicado es efectivo, pero la biopelícula probablemente comience de nuevo
> 3.0	Tratamiento muy efectivo con un control mayor al 99.9% de la población bacteriana

2.8 Desarrollo de la biopelícula y su eliminación.

Para observar el comportamiento de los sistemas biocidas sobre la biopelícula, se realizaron dos tipos de experimentos: por lotes, y en continuo utilizando el sistema de flujo continuo parcialmente abierto. Se realizaron dos experimentos por lotes, uno de los cuales, consistió en observar la formación de la biopelícula sobre la superficie de la probeta, y el otro, en observar el efecto de los sistemas biocidas en la biopelícula adherida a la superficie de las probetas. En los experimentos realizados con el sistema de flujo continuo se le dio seguimiento a la formación de la biopelícula sobre la superficie de la bomba de recirculación y en las paredes del estanque.

2.8.1 Prueba microbiológicas para observar el desarrollo de la biopelícula por lotes, sin uso de biocida.

Los reactores utilizados para llevar a cabo estas pruebas fueron reactores de polietileno de alta densidad, de un litro de capacidad (marca Hach). Este material fue seleccionado debido a su baja capacidad para adsorber iones de plata.

El procedimiento para preparar los reactores fue el siguiente:

- Se lavaron con fibra, agua y jabón.
- Se enjuagaron con agua potable y destilada.
- Se llenaron a su capacidad con una solución de ácido nítrico al 12%, permaneciendo con esta solución por doce horas.
- Finalmente, los reactores se enjuagaron con agua destilada.

Una vez acondicionados los reactores, se adicionó un litro de agua de la planta de tratamiento de aguas residuales del Instituto de Investigaciones Eléctricas.

Para esta prueba se utilizaron cuatro probetas de admiralty (70% cobre/ 30% níquel) de 3.1 cm². Las probetas, cuatro para la primera prueba, se prepararon de la siguiente manera:

- Se metieron en benceno por espacio de cinco minutos.
- Se mantuvieron treinta minutos en una solución de ácido clorhídrico.
- Se enjuagaron con agua destilada.
- Se colocaron en una solución de anaranjado de metilo.
- Se enjuagaron con alcohol isopropílico y benceno.
- Se secaron con papel absorbente y se colocaron en el desecador en bolsas de polietileno.

Todo lo anterior se llevó a cabo de acuerdo a lo establecido en la norma ASTM D 2688-94. Una vez preparadas las probetas, éstas se identificaron y se colocaron dentro del reactor, suspendidas con hilo en el agua residual. La prueba se realizó a temperatura ambiente, no se controló ningún parámetro, sólo se mantuvo constante el volumen del agua en el reactor. Esta prueba, tuvo una duración de cuarenta y cinco días, por lo que al final de este período, las probetas fueron retiradas del agua y puestas a secar a temperatura ambiente. La probeta identificada con el número 1, se limpió con papel absorbente con el fin de eliminar la biopelícula formada en su superficie. Una vez secas las probetas, se colocaron en un desecador para evitar que las condiciones ambientales modificaran la morfología de su superficie. En este experimento, se utilizó una quinta probeta como testigo, esta probeta no se colocó en el agua residual, pero fue preparada de la misma manera que las cuatro anteriores.

La superficie de las probetas se analizó con un microscopio electrónico de barrido, Digital Scanning Microscope DSM 960 (marca Zeiss).

Para tomar las primeras fotografías, primero fue necesario dar un baño de plata a las probetas, esto se realizó con el propósito de disminuir interferencias debido a la formación de la biopelícula sobre la superficie de las probetas, lo que podía

originar que las cargas eléctricas sobre la superficie de las probetas no tuvieran continuidad y no se cerrara el circuito.

2.8.2 Prueba microbiológicas para observar el desarrollo de la biopelícula por lotes, con uso de biocida.

El procedimiento para llevar a cabo este experimento fue similar al experimento anterior en lo que respecta a la preparación del reactor y las probetas, salvo que para este experimento, se pulió ambas caras de las probetas, utilizando lija fina de agua (N° 2000).

Este experimento, se realizó para observar el comportamiento de los sistemas biocidas: plata/cobre y plata/cobre/cloro, en la eliminación de la biopelícula formada en las probetas.

Se prepararon ocho recipientes de nalgen de 100 ml cada uno. En este experimento, se utilizaron ocho probetas: cuatro, estuvieron inmersas en el agua residual por treinta días, y cuatro, lo estuvieron por sesenta días. El acondicionamiento de estos recipientes se realizó de manera similar a la preparación de los reactores, con la diferencia de que los recipientes de nalgen se mantuvieron por 24 horas con una solución de biocida de concentración similar a la que sería usada en cada prueba.

Las probetas se colocaron en los sistemas biocidas de acuerdo a la tabla 2.5. Las pruebas se realizaron a temperatura ambiente y protegidas de la luz. Una vez concluido el tiempo de exposición entre el sistema biocida y las probetas, 48 y 72 horas, éstas se retiraron de la solución y se pusieron a secar a temperatura ambiente. Las probetas, una vez secas, se colocaron en un desecador.

El análisis morfológico de la superficie de las probetas, se realizó con el microscopio electrónico de barrido Digital Scanning Microscope DSM 960 (marca Zeiss).

Para tomar las fotografías de estas pruebas no se realizó el baño de plata a las probetas por considerarlo innecesario al suponer que los sistemas utilizados habían sido efectivos. Afortunadamente esto se pudo confirmar más tarde con las fotografías tomadas a las probetas con el microscopio electrónico.

Tabla 2.5
Tiempo de exposición al sistema biocida

Probeta N°	1.2 mg l ⁻¹ de Ag/0.6 mg l ⁻¹ de Cu				0.2 mg l ⁻¹ de Ag/1.2 mg l ⁻¹ de Cu/0.3 mg l ⁻¹ de Cl			
	1 mes		2 meses		1 mes		2 meses	
	48 hr	72 hr	48 hr	72 hr	48 hr	72 hr	48 hr	72 hr
6			X					
7				X				
8							X	
9								X
10	X							
11		X						
12					X			
13						X		

2.8.3 Experimento realizado en el sistema de flujo continuo para observar el desarrollo de la biopelícula y su eliminación con biocida.

Al igual que los reactores de polietileno utilizados en las pruebas por lotes, el sistema de flujo continuo, también fue acondicionado para realizar estos experimentos. Se recirculó, por 24 horas, una solución biocida de concentración similar en iones de plata, cobre y cloro a la que sería utilizada en cada experimento.

Los experimentos realizados se llevaron a cabo empleando un volumen de 11 litros de agua residual de la planta de tratamiento de lodos activados del Instituto de Investigaciones Eléctricas. Cada tercer día, se reponía el agua perdida por evaporación, aproximadamente un litro diario; esto con el fin de mantener el volumen constante y suministrar nutrientes para sostener el desarrollo de la población microbiana.

La temperatura se controló en un intervalo de 27±5 °C y se mantuvo un flujo de 1.8 galones por minuto.

Cada experimento tuvo una duración de 30 días, tiempo suficiente para el desarrollo de la película biológica sobre la superficie de la bomba y los componentes del sistema; la superficie de la bomba, fue la más favorecida del sistema para el crecimiento microbiano, y fue, el motivo de interés de este estudio.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Se observó acumulación de material biológico sobre la superficie de la bomba a los 30 días de iniciado el experimento, y se documentó la formación de la biopelícula mediante fotografías (se utilizó una cámara Nikon).

Al término de la sesión fotográfica se adicionó la primera dosis de biocida. Transcurridas 48 horas después de la adición del biocida, se realizó la segunda sesión fotográfica, al termino de la cual, se adicionó la segunda dosis del sistema biocida. Transcurridas 48 horas, después de la segunda adición de biocida, se tomó la última sesión fotográfica. El procedimiento fue similar con los sistemas biocidas: plata/cobre y plata/cobre/cloro utilizados.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

CAPÍTULO TRES

RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Los sistemas biocidas utilizados con el agua residual de la planta de tratamiento de lodos activados del Instituto de Investigaciones Eléctricas fueron los siguientes:

- A) 0.6 mg l⁻¹ de plata/1.2 mg l⁻¹ de cobre
- B) 0.6 mg l⁻¹ de plata/0.6 mg l⁻¹ de cobre
- C) 0.2 mg l⁻¹ de plata/1.2 mg l⁻¹ de cobre/1.0 mg l⁻¹ de cloro
- D) 1.0 mg l⁻¹ de cloro
- E) 3.0 mg l⁻¹ de cloro
- F) 1.2 mg l⁻¹ de plata
- G) 0.2 mg l⁻¹ de plata/1.2 mg l⁻¹ de cobre/0.3 mg l⁻¹ de cloro
- H) 0.2 mg l⁻¹ de plata/1.2 mg l⁻¹ de cobre

Para el estudio del agua de repuesto de la Central Termoeléctrica de Valle de México, se utilizaron los siguientes sistemas biocidas:

- I) 0.6 mg l⁻¹ de plata/1.2 mg l⁻¹ de cobre
- J) 1.2 mg l⁻¹ de plata/0.6 mg l⁻¹ de cobre

A continuación, se reportan los resultados obtenidos para cada sistema biocida estudiado, analizando su comportamiento en el aniquilamiento de las bacterias presentes en los dos tipos de agua empleados.

3.1 Bacterias coliformes en el agua residual de la planta de tratamiento del Instituto de Investigaciones Eléctricas.

Es evidente el efecto que produce la combinación de los iones de plata y cobre en las bacterias coliformes, sobre todo en los primeros minutos de contacto, donde logran abatir de manera significativa niveles importantes de la población bacteriana. La figura 3.1, muestra la variación del Número Más Probable por 100 ml de coliformes totales y E coli en función del tiempo para los sistemas biocidas: (A) 0.6 mg l^{-1} de plata/ 1.2 mg l^{-1} de cobre y (B) 0.6 mg l^{-1} de plata/ 0.6 mg l^{-1} de cobre.

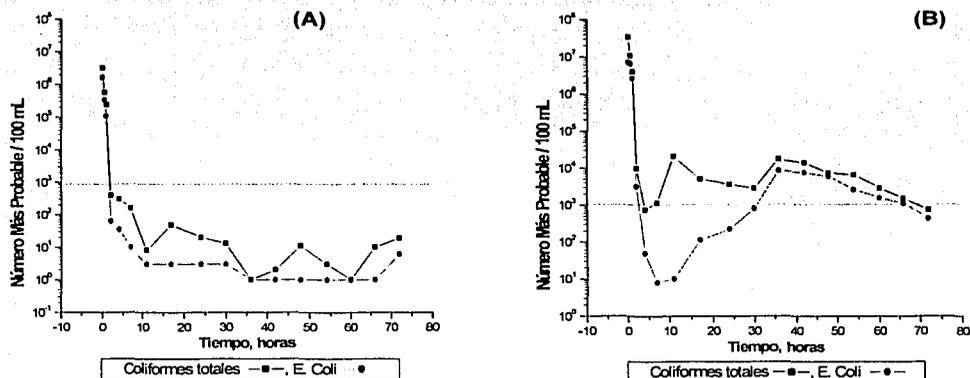


Figura 3.1, Variación del Número Más Probable de Coliformes totales y E coli en función del tiempo para los sistemas (A) 0.6 mg l^{-1} de plata/ 1.2 mg l^{-1} de cobre y (B) 0.6 mg l^{-1} de plata/ 0.6 mg l^{-1} de cobre, se empleo agua residual de la planta de lodos activados del Instituto de Investigaciones Eléctricas. Los sistemas trabajaron en un intervalo de temperatura de $27 \pm 5 \text{ }^\circ \text{C}$, a un flujo de 1.8 GPM, en un intervalo de pH de 7 a 8. La línea punteada indica el límite máximo permitido por la Norma Oficial Mexicana.

Ambos sistemas muestran en el transcurso de las primeras horas, un comportamiento muy similar en el impacto que tienen los sistemas biocidas sobre la población de este tipo de bacterias, llegando incluso, a valores por debajo de los límites establecidos por la NORMA OFICIAL MEXICANA que permite un máximo de 1000 NMP/100 ml. Sin embargo, esta tendencia no se mantiene constante a lo largo de todo el proceso experimental para el sistema (B). Este sistema presenta

un recrecimiento importante de coliformes totales a partir de las 7 horas y no vuelve a estar por debajo de lo establecido por la norma hasta después de las 70 horas, casi al final del experimento.

Se puede apreciar que las bacterias E coli son más sensibles a los iones metálicos de plata y cobre pues les toma más tiempo en recuperarse, pero después de las 30 horas, logran alcanzar una población que rebasa por mucho las 1000 NMP/100 ml y no vuelven a estar por debajo de este valor hasta el final del proceso, mostrando una tendencia similar a la manifestada por las coliformes totales. Por el contrario el sistema (A), mantiene un comportamiento consistente a lo largo de todo el experimento, manteniendo después de las dos horas de tratamiento los niveles de coliformes totales y de E coli muy por debajo de las 1000 NMP/100 ml.

Buscando mejores alternativas, siempre con la idea de alcanzar niveles aceptables en la disminución de la población de coliformes totales y E coli, se trabajó con otras combinaciones que mostraron resultados similares o mejores a los obtenidos con las combinaciones de plata y cobre. La figura 3.2, muestra la variación del Número Más Probable de coliformes totales y E coli en función del tiempo para los sistemas: (C) 0.2 mg l^{-1} de plata/ 1.2 mg l^{-1} de cobre/ 1.0 mg l^{-1} de cloro y (D) 1.0 mg l^{-1} de cloro. Los resultados mostrados en la figura 3.2, presentan un comportamiento similar a los presentados en la figura 3.1, sobre todo en los primeros minutos de contacto. Sin embargo, los sistemas (C) y (D), mostraron mayor efectividad, tanto que en los primeros 30 minutos lograron abatir la población de estas bacterias a niveles superiores al 99% de la población original.

El sistema (D), manifiesta buena agresividad en un principio, logrando reducir la población en un 99.9% tanto de coliformes totales como de E coli, manteniendo la población microbiana durante las primeras 17 horas de experimentación por debajo de las 1000 NMP/100 ml de coliformes totales y de E coli. A partir de las 20 horas la población de las coliformes totales se mantiene fluctuando sobre las 1000 NMP/100 ml para finalmente mostrar una clara tendencia hacia un recrecimiento

sostenido en la población de esta especie. Por lo que respecta a la especie *E. coli*, el cloro a esta concentración mantuvo la población a niveles aceptables.

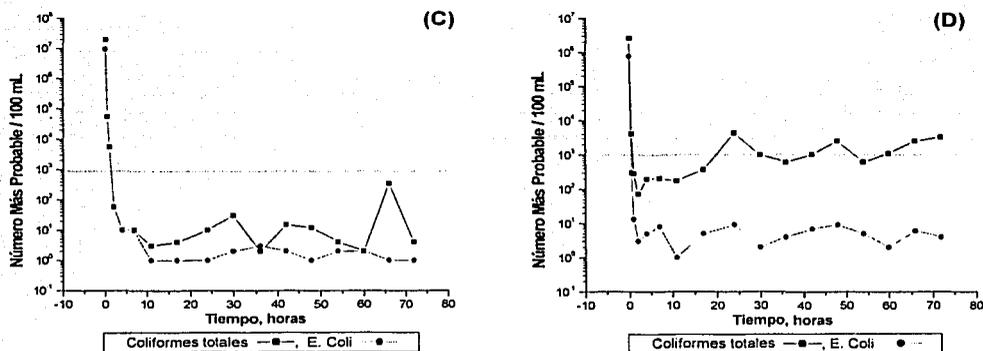


Figura 3.2, Variación del Número Más Probable de Coliformes totales y *E. coli* en función del tiempo para los sistemas (C) 0.2 mg l⁻¹ de plata/1.2 mg l⁻¹ de cobre/1.0 mg l⁻¹ de cloro y (D) 1.0 mg l⁻¹ de cloro, se empleó agua residual de la planta de lodos activados del Instituto de Investigaciones Eléctricas. Los sistemas trabajaron en un intervalo de temperatura de 27± 5 ° C, a un flujo de 1.8 GPM, en un intervalo de pH de 7 a 8. La línea punteada indica el límite máximo permitido por la Norma Oficial Mexicana.

El sistema (C), también mostró un inicio bastante bueno logrando disminuir la población de ambas especies por arriba del 99%, manteniendo la población de coliformes totales y *E. coli* muy por debajo de las 1000 NMP/100 ml a partir de las dos horas de tratamiento, tendencia que se mantuvo constante a lo largo de todo el experimento.

3.2 Bacterias coliformes en el agua de repuesto de la Central Termoeléctrica de Valle de México.

La Variación del Número Más Probable de coliformes totales y *E. coli* en función del tiempo para los sistemas (I) 0.6 mg l⁻¹ de plata/1.2 mg l⁻¹ de cobre y (J) 1.2 mg l⁻¹ de plata/0.6 mg l⁻¹ de cobre, empleando agua de repuesto del sistema de enfriamiento de la Central Termoeléctrica de Valle de México, se presenta en la figura 3.3. Como se puede observar en esta figura, el comportamiento es muy

similar al mostrado por los sistemas anteriores. Una efectividad bastante buena al inicio del experimento, logrando abatir la población bacteriana a niveles por arriba del 99.9% para ambas especies en las dos primeras horas de contacto; manteniendo las bacterias por debajo del límite establecido por la Norma Oficial Mexicana.

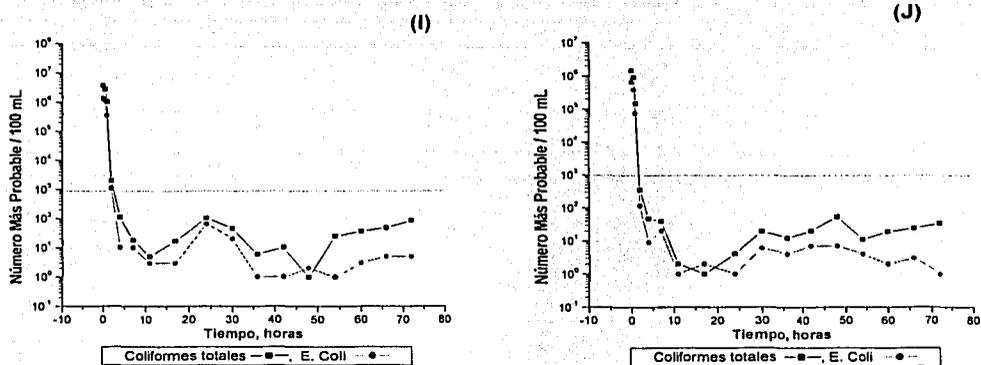


Figura 3.3. Variación del Número Más Probable de Coliformes totales y E coli en función del tiempo para los sistemas (I) 0.6 mg l⁻¹ de plata/1.2 mg l⁻¹ de cobre y (J) 1.2 mg l⁻¹ de plata/0.6 mg l⁻¹ de cobre, se empleó agua de repuesto del sistema de enfriamiento de la Central Termoeléctrica de Valle de México. Los sistemas trabajaron en un intervalo de temperatura de 27± 5 ° C, a un flujo de 1.8 GPM, en un intervalo de pH de 7 a 8. La línea punteada indica el límite máximo permitido por la Norma Oficial Mexicana.

El sistema (J), presentó una efectividad ligeramente superior al sistema (I), sobre todo en los primeros 60 minutos de contacto en la reducción de la población de coliformes totales y E coli, sin embargo, a las dos horas de iniciado el experimento la reducción de la población para ambos sistemas fue prácticamente la misma. Los dos sistemas presentaron un comportamiento muy similar en el control de las coliformes totales y E coli, logrando mantener el nivel de estas especies muy por debajo de las 1000 NMP/100 ml prácticamente durante el desarrollo de todo el experimento.

Es interesante y a la vez alentador, observar el comportamiento mostrado por los sistemas plata/cobre en las relaciones anteriormente mencionadas, utilizadas en el control de las bacterias coliformes. Los sistemas plata /cobre, compiten con el cloro al mostrar una agresividad similar a la observada con el empleo del cloro, así mismo los sistemas plata/cobre, mostraron una mayor consistencia en todos los experimentos donde fueron utilizados. El sistema (D), en los primeros minutos fue el sistema que mejor se comportó de todos, sin embargo, su efectividad se vio reducida considerablemente en el transcurso del experimento, sobre todo, con la población de las coliformes totales. Estas bacterias, mostraron ser menos sensibles a todos los sistemas utilizados y el sistema (D), fue uno de los dos sistemas que no pudo mantener los niveles de la población de estas bacterias por debajo de la norma, lo que hace suponer que su efecto residual es muy pobre, permitiendo que las bacterias se recobren y se multipliquen de nuevo. Estas observaciones ponen de manifiesto el efecto residual de los sistemas plata/cobre. El sistema (B) no solo falló en mantener bajo control la población de las coliformes totales, sino también a la población de E coli, aquí es digno de señalar que quizás la cantidad de los iones metálicos no fue suficiente, ya que este sistema es el que mayor población de bacterias presentó, y sin embargo, se puede apreciar que a partir de las 40 horas de exposición la población bacteriana presentaba una consistente tendencia a la baja, lo que hace suponer que el efecto de su acción residual es prolongado y efectivo.

Uno de los sistemas que mejores resultados arrojó, fue el sistema (C), este sistema mostró un comportamiento bastante bueno desde el principio y mantuvo su efectividad a lo largo de todo el experimento.

Se puede observar que las capacidades o cualidades biocidas de los elementos aquí utilizados al parecer se suman logrando un efecto simbiótico que se traduce en mejores resultados, estos resultados no se lograrían utilizando de manera separada dichos elementos.

Es necesario mencionar que aunque no se reporta el sistema (G), los resultados obtenidos con este sistema son bastante similares a los obtenidos con el sistema (C) por lo que la cantidad de cloro puede reducirse hasta en un 70%, logrando

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

prácticamente los mismos resultados en la reducción de la población de las bacterias coliformes.

Es claro que la combinación plata/cobre no tiene la misma capacidad inicial que el cloro para interactuar con las bacterias coliformes y eliminarlas, sin embargo, queda de manifiesto su efectividad en el control de este tipo de microorganismos, lo cual se puede apreciar mejor con el transcurso del tiempo, ya que su efecto residual es prolongado y efectivo, a diferencia del cloro que solo en los primeros minutos mostró ser efectivo pero que solo tuvo la capacidad de mantener bajo control la población microbiana en las primeras horas de contacto.

3.3 Bacterias Relacionadas con Hierro y Bacterias Sulfato Reductoras en el agua residual de la planta de tratamiento del Instituto de Investigaciones Eléctricas.

Otro tipo de bacterias que también mostraron sensibilidad a los sistemas plata/cobre, son las bacterias relacionadas con hierro (A) y las sulfato reductoras (B). La figura 3.4, muestra la población probable de estas especies en función de varias combinaciones de plata y cobre. Como se puede apreciar en esta figura, la especie de las *Pseudomonas*, de las bacterias relacionadas con hierro, son las bacterias que mayor resistencia mostraron y ninguna de las combinaciones empleadas logró disminuir su población por debajo de las 5000 ufc ml⁻¹; cantidad de microorganismos considera agresiva aún para los tratamientos convencionales. Por lo que respecta al resto de las especies que conforman este grupo, en su mayoría fueron controladas manteniendo los niveles de su población por debajo de las 1000 ufc ml⁻¹, valor aceptado en los tratamientos convencionales.

El sistema (A), logró disminuir casi en su totalidad a la mayoría de las especies que conforman este grupo ofreciendo los mejores resultados en el control de las bacterias. De acuerdo con la técnica empleada para el análisis de estas bacterias, el tratamiento se considera efectivo cuando se logra llevar el nivel de la población microbiana a valores por debajo de las 1000 ufc ml⁻¹, y el sistema (A), cumple satisfactoriamente con tal límite en cuatro de las cinco especies estudiadas.

Es digno de mencionar que el sistema (F), por si solo logra resultados muy similares al anterior, y es de los pocos sistemas que logró abatir la población de las bacterias heterotróficas casi en su totalidad.

Las mismas combinaciones de plata/cobre, fueron utilizadas para analizar el comportamiento de las bacterias sulfato reductoras. Con este grupo de bacterias, la efectividad de los tratamientos se observó en dos de las tres especies de bacterias que conforman este grupo al mantener su población por debajo de las 1000 ufc ml⁻¹ en tres de los cinco sistemas biocidas. Este nivel de población, se considera aceptable para este grupo de bacterias; cuando se logra disminuir la población por debajo de este valor se considera que el tratamiento ha sido exitoso. Prácticamente son los mismos sistemas biocidas los que mayor impacto logran en ambos grupos de bacterias, las relacionadas con hierro y las sulfato reductoras. El sistema (A), de nuevo muestra un comportamiento muy superior al resto de los tratamientos, eliminando casi en su totalidad la población de las tres especies que conforman las bacterias sulfato reductoras.

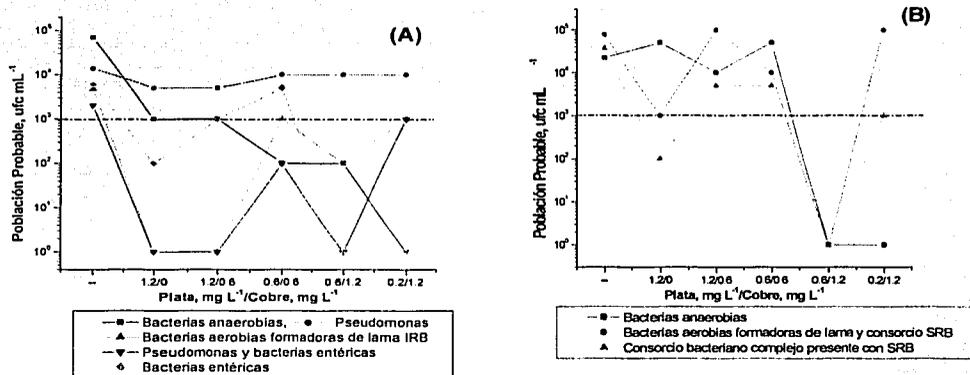


Figura 3.4, Población Probable de (A) Bacterias Relacionadas con Hierro y (B) Bacterias Sulfato Reductoras, en función de las diferentes combinaciones de Plata/Cobre, se empleo agua residual de la planta de tratamiento de lodos activados del Instituto de Investigaciones Eléctricas. Las pruebas se desarrollaron a temperatura ambiente y los resultados corresponden a las muestras tomadas a las 48 horas de exposición.

De nueva cuenta el desempeño del sistema (F), se puede considerar bastante bueno al eliminar prácticamente la totalidad las bacterias aerobias formadoras de lama y al consorcio bacteriano complejo de sulfato reductoras.

La combinación de iones de plata y cobre con cloro, así como el estudio de los sistemas utilizando solamente cloro, también fueron llevados a cabo en este trabajo. La figura 3.5, muestra la población probable por mililitro de bacterias relacionadas con hierro (A) y bacterias sulfato reductoras (B) en función de las diferentes combinaciones de plata, cobre y cloro. Debido a los resultados obtenidos por los sistemas (C) y (D) en el estudio de las bacterias coliformes, era de esperarse un comportamiento similar con las bacterias relacionadas con hierro y las sulfato reductoras, sobre todo por el comportamiento mostrado por el primer sistema. Sin embargo, la respuesta que este grupo de bacterias manifestó a los sistemas mencionados fue muy diferente.

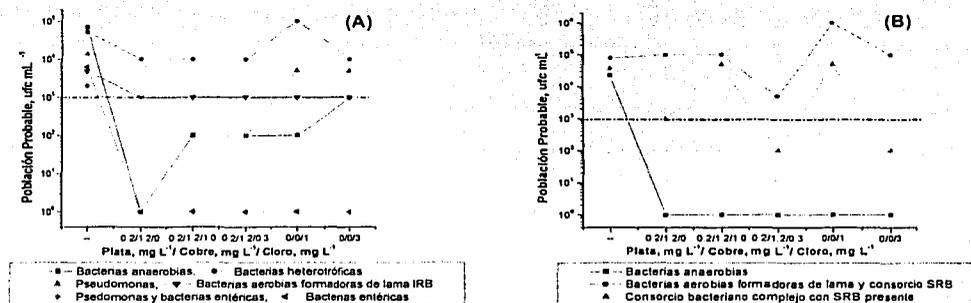


Figura 3.5, Población Probable de (A) Bacterias Relacionadas con Hierro y (B) Bacterias Sulfato Reductoras en función de las diferentes combinaciones de Plata/Cobre/Cloro, se empleo agua residual de la planta de tratamiento de lodos activados del Instituto de Investigaciones Eléctricas, las pruebas se desarrollaron a temperatura ambiente y los resultados corresponden a las muestras tomadas a las 48 horas de exposición.

Los sistemas (C) y (G), fueron los únicos que lograron mantener la población de las Pseudomonas a un nivel de 100 ufc ml⁻¹, ambos sistemas biocidas, de las seis especies estudiadas en este grupo lograron mantener por debajo de las 100 ufc ml⁻¹ la población de cuatro de ellas. Las bacterias heterotrofas fueron las únicas

especies que no lograron mantener su población por debajo de las 100 ufc ml⁻¹, pero consiguieron disminuir su población en un 80%.

Los sistemas que utilizaron solamente cloro, no probaron ser tan efectivos y solamente tres especies de las bacterias relacionadas con hierro mantuvieron una población por debajo de las 100 ufc ml⁻¹, tal es el caso del sistema (D).

Contrario a lo que pudiera esperarse el sistema (E), logró mantener por debajo de las 100 ufc ml⁻¹ solo a dos especies. La población de bacterias *Pseudomonas* y Heterotrofas no se vio afectada significativamente por estos sistemas, incluso la población de Heterotrofos en el sistema (D), duplicó su población.

Los sistemas (E) y (G), lograron controlar de manera efectiva la población de dos de las tres especies que conforman el grupo de las bacterias sulfato reductoras al mantener muy por debajo de las 1000 ufc ml⁻¹ la población de estas especies.

El sistema biocida (E), se comportó mejor con este tipo de bacterias, disminuyendo considerablemente la población de dos de ellas, sin embargo, la población de las bacterias formadoras de lama incremento su población.

3.4 Bacterias Relacionadas con Hierro y Bacterias Sulfato Reductoras en el agua de repuesto de la Central Termoeléctrica de Valle de México.

Con el fin de observar el comportamiento de los sistemas plata/cobre con agua proveniente del sistema de enfriamiento de una termoeléctrica, se realizaron dos experimentos, variando la concentración de los iones metálicos. La figura 3.6, muestra la población probable por mililitro de bacterias relacionadas con hierro (**A**) y bacterias sulfato reductoras (**B**) en función de los sistemas utilizados para los experimentos realizados con el agua de repuesto del sistema de enfriamiento de la Central Termoeléctrica de Valle de México. El sistema biocida (I), con el grupo de bacterias relacionadas con hierro, se mostró menos efectivo que cuando se utilizó con el agua del Instituto de Investigaciones Eléctricas. Sin embargo, aunque no logró disminuir la población de las *Pseudomonas* por debajo de las 100 ufc ml⁻¹, si disminuyó su población por arriba del 92%. El grupo de los heterotrofos, que en este sistema si se manifestaron, tampoco se vio afectado por esta combinación. Por el contrario, el sistema biocida (J), mejoró sustancialmente manteniendo la

población en cuatro de las cinco especies manifestada en este estudio por debajo de las 100 ufc ml⁻¹, logrando además, reducir la población de los Heterotrofos por arriba del 80%, lo que pone de manifiesto el buen desempeño de esta combinación.

Las bacterias sulfato reductoras también mostraron una respuesta favorable a estos sistemas. El sistema (J) logró disminuir la población de dos de las especies de este grupo muy por debajo de las 1000 ufc ml⁻¹, llegando incluso, a eliminar prácticamente las bacterias anaerobias. Por su parte el sistema (I), consigue controlar la población en dos de las tres especies que conforman a este grupo.

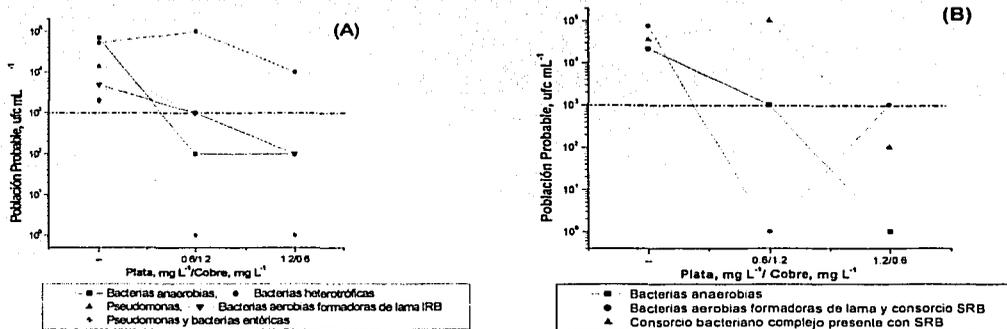


Figura 3.6, Población Probable de (A) Bacterias Relacionadas con Hierro y (B) Bacterias Sulfato Reductoras en función de las diferentes combinaciones de Plata/Cobre, se empleo agua de repuesto del sistema de enfriamiento de la Central Termoeléctrica de Valle de México, las pruebas se desarrollaron a temperatura ambiente y los resultados corresponden a las muestras tomadas a las 48 horas de exposición.

3.5 Bacterias Formadoras de Lama en el agua residual de la planta de tratamiento del Instituto de Investigaciones Eléctricas.

Las bacterias formadoras de lama, fue otro grupo de bacterias estudiadas utilizando la misma técnica. La figura 3.7, muestra la población probable por mililitro en función de las diferentes combinaciones de plata/cobre y de plata/cobre/cloro, de las bacterias formadoras de lama. Por los resultados obtenidos solo tres sistemas lograron controlar la población de dos de las tres

especies que conforman este grupo a niveles por debajo de las 1000 ufc ml⁻¹, valor que es considerado para designar el tamaño de población microbiana como de bajo riesgo. Los sistemas que utilizaron la combinación de los tres elementos: plata, cobre y cloro; son las que mejores resultados ofrecieron. El sistema (C), mostró una efectividad ligeramente superior al sistema (G), pero ambos lograron reducir de manera significativa la población de bacterias aerobias facultativas y *Pseudomona aeruginosa* controlándolas por debajo de las 1000 ufc ml⁻¹. Un sistema que no se había manifestado efectivo con las bacterias relacionadas con hierro y las sulfato reductoras, fue el sistema biocida (H), que logra mantener casi en el límite la población del mismo grupo de bacterias controladas por los sistemas que incluye cloro. Este grupo de bacterias son los microorganismos que se manifestaron en mayor número, sobre todo las aerobias formadoras de lama, especie que ningún sistema pudo controlar y que sin embargo el sistema (C), logró disminuir su población por arriba de un 97%.

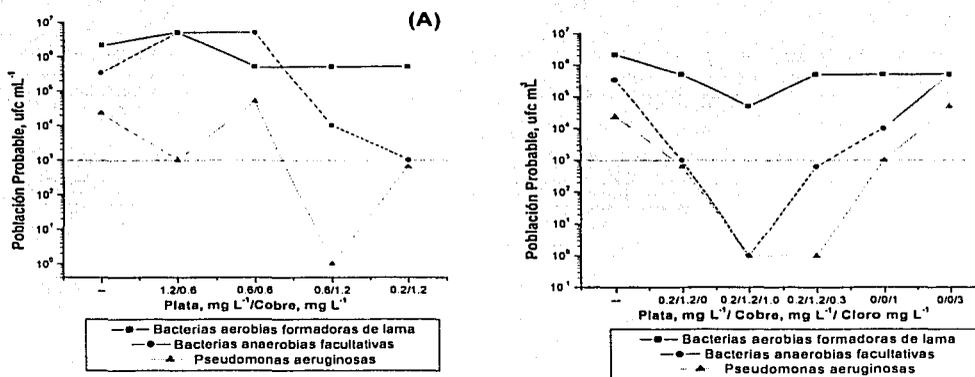


Figura 3.7, Población Probable de (A) Bacterias Formadoras de Lama, en función de las diferentes combinaciones de Plata/Cobre y de Plata/Cobre/Cloro, se empleo agua residual de la planta de tratamiento de lodos activados del Instituto de Investigaciones Eléctricas, las pruebas se desarrollaron a temperatura ambiente y los resultados corresponden a las muestras tomadas a las 48 horas de exposición.

3.6 Bacterias Formadoras de Lama en el agua de repuesto de la Central Termoeléctrica de Valle de México.

De nueva cuenta, la consistencia mostrada por las combinaciones plata/cobre a lo largo de toda la fase experimental, se pone de manifiesto al ser eliminadas prácticamente en su totalidad las tres especies que conforman el grupo de las bacterias formadoras de lama por los sistemas biocidas (I) y (J). La figura 3.8, muestra la población probable por mililitro en función de los sistemas aplicados para el estudio de las bacterias formadoras de lama del agua de repuesto de la Central Termoeléctrica de Valle de México.

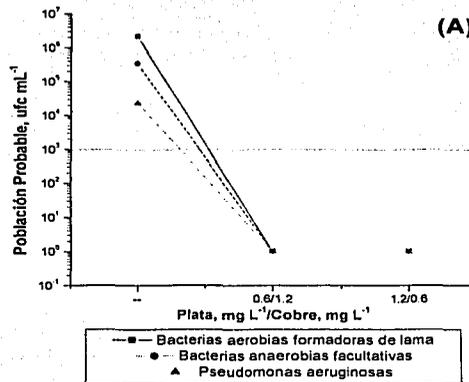


Figura 3.8, Población Probable de (A) Bacterias Formadoras de Lama, en función de las diferentes combinaciones de Plata/Cobre, se empleó agua de repuesto del sistema de enfriamiento de la Central Termoeléctrica de Valle de México, las pruebas se desarrollaron a temperatura ambiente y los resultados corresponden a las muestras tomadas a las 48 horas de exposición.

3.7 Comportamiento del pH y Conductividad

La figura 3.9, muestra un promedio de los datos obtenidos de pH y conductividad de todos los sistemas estudiados en la fase experimental en función del tiempo para los dos tipos de agua utilizadas. El pH durante toda la etapa experimental, se mantuvo cercano a la neutralidad, con adición de H₂SO₄, esto es similar al control de pH que se tiene en una central termoeléctrica con el fin de evitar incrustaciones

sobre todo en el intercambiador de calor. Sin embargo, en este trabajo también se cuidó este factor por la importancia que tenía en el desempeño de los iones de plata y de cobre. Como se puede apreciar en la gráfica de la conductividad, este parámetro, mostró una consistente tendencia hacia arriba, lo que indica que durante la fase experimental se generó un proceso de evaporación que originó una concentración de sales en el sistema, no se aprecia que este factor haya influido de manera significativa en la capacidad biocida de los iones metálicos.

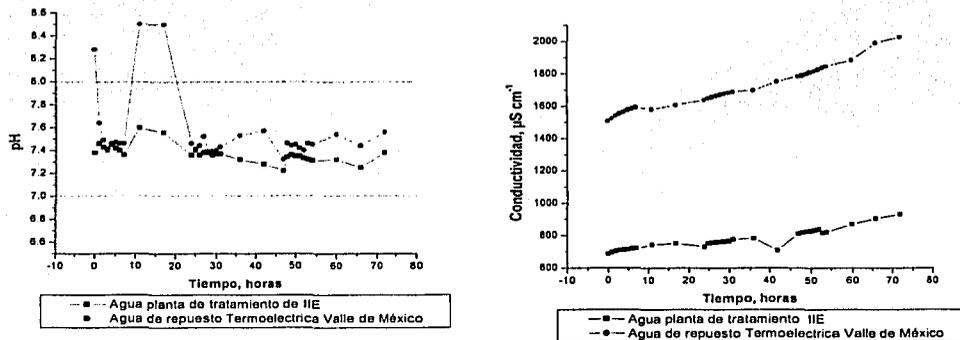


Figura 3.9. Variación promedio de pH y conductividad. Se uso agua residual de la planta de tratamiento del Instituto de Investigaciones Eléctricas y agua de repuesto del sistema de enfriamiento de la Central Termoelectrica de Valle de México.

3.8 Efectividad del tratamiento.

Las tablas 3.1 y 3.2 muestran la efectividad del tratamiento para cada una de las especies de los diferentes grupos de bacterias en función de los sistemas de Plata/Cobre y de Plata/Cobre/Cloro. Los datos corresponden a las muestras tomadas a las 48 horas de exposición, las cuales se mantuvieron a temperatura ambiente y protegidas de la luz por un periodo de observación de ocho días.

Para evaluar la efectividad que mostró cada sistema con las diferentes especies que conforman los tres grupo principales de bacterias estudiadas en este estudio, es necesario hacer uso de la tabla 2.4 (capítulo dos, pagina 47) donde se muestran los intervalos de tiempo en días que indican si un tratamiento fue o no

efectivo. Para valores mayores a la unidad, se puede considerar que el tratamiento ha sido bueno, en cambio, cuando los valores obtenidos son negativos, significa que el sistema no solo ha fallado, sino que las bacterias se han vuelto más agresivas y se han multiplicado, lo que implica un mayor riesgo.

Como se puede observar en las tablas 3.1 y 3.2 un buen número de sistemas probó ser muy efectivo con la mayoría de las bacterias; destacando los sistemas (A), (F) y (G) en el agua residual de la planta de tratamiento del Instituto de Investigaciones Eléctricas; y el sistema (J), con el agua de repuesto de la central termoeléctrica. Estos sistemas biocidas, se mostraron muy efectivos con la mayoría de las especies, logrando la mayor de las veces valores muy superiores a 3, valor considerado como muy efectivo, e indica que la población de una especie en particular disminuyó casi en un 100%. Se observa, además, que los sistemas de plata/cobre mostraron una gran consistencia en el control de la población de prácticamente todas las bacterias.

Tabla 3.1
Efectividad del tratamiento. TL_D , en días

Bacterias Relacionadas con Hierro						
Reacción	Sistema Plata/Cobre, $mg\ l^{-1}$					
	1.2/0	1.2/0.6	0.6/0.6	0.6/1.2	0.6/1.2	1.2/0.6
Bacterias anaerobias	2.75	2.75	4.75	4.75	3.75	3.75
Bacterias heterotróficas	-0-	-0-	-0-	-0-	-0.38	0.62
Bacterias aerobias formadoras de lama	3.96	3.96	0.96	2.96	0.96	3.96
Pseudomonas	1.05	1.05	0.05	0.05	2.05	4.05
Bacterias entéricas	2.08	1.08	0.08	3.26	-0-	-0-
Pseudomonas y Bacterias entéricas	3.26	3.26	1.26	3.26	3.26	3.26
Bacterias Sulfato Reductoras						
Bacterias anaerobias	-0.58	0.42	-0.58	4.42	2.42	4.42
Bacterias aerobias formadoras de lama	3.55	-0.45	1.55	5.55	5.55	3.55
Consortio bacteriano complejo	3.65	1.65	1.65	4.65	-1.35	4.65
Bacterias Formadoras de Lama						
Bacterias anaerobias formadoras de lama	-0-	-0.43	0.57	0.57	6.57	6.57
Bacterias anaerobias facultativas	-0-	-1.25	-1.25	1.75	5.75	5.75
Pseudomona aeruginosa	-0-	1.60	-0.40	4.60	4.60	4.60

Los datos correspondientes a las celdas con números cursivos, corresponden a los experimentos realizados con el agua de repuesto del sistema de enfriamiento de la Central Termoeléctrica de Valle de México. La falta de datos en alguna celda fue debido a que este tipo de bacterias no se manifestó o bien el sistema no se aplicó para ese consorcio bacteriano.

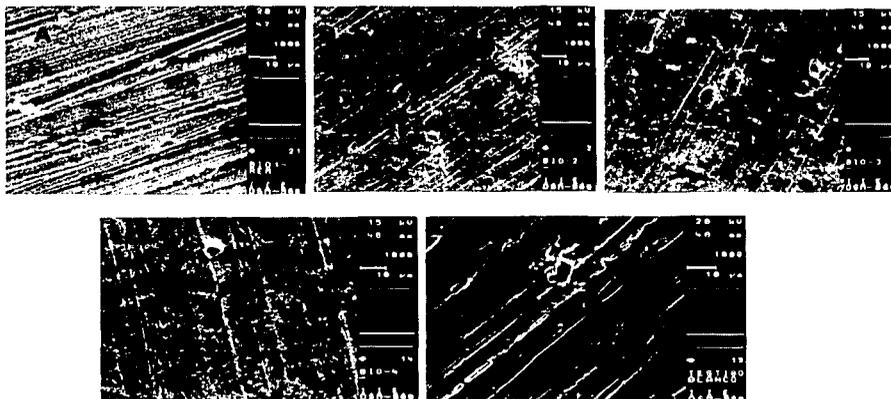
Tabla 3.2
Efectividad del tratamiento. TL_D, en días

Bacterias Relacionadas con Hierro					
Sistema Plata/Cobre/Cloro, mg l⁻¹					
Reacción	0.2/1.2/0.0	0.2/1.2/1.0	0.2/1.2/0.3	0.0/0.0/1.0	0.0/0.0/3.0
Bacterias anaerobias	5.75	3.75	3.75	3.75	2.75
Bacterias heterotróficas	0.62	0.62	0.62	-0.38	0.62
Bacterias aerobias formadoras de lama	0.96	0.96	0.96	0.96	0.96
Pseudomonas	0.05	4.05	3.05	1.05	1.05
Bacterias entéricas	4.08	4.08	4.08	4.08	4.08
Pseudomonas y Bacterias entéricas	0.26	3.26	3.26	3.26	3.26
Bacterias Sulfato Reductoras					
Bacterias anaerobias	4.42	4.42	4.42	4.42	4.42
Bacterias aerobias formadoras de lama y consorcio SRB	-0.45	-0.45	2.55	-1.45	-0.45
Consorcio bacteriano complejo y SRB	2.65	-0.35	4.65	-0.35	3.65
Bacterias Formadoras de Lama					
Bacterias aerobias formadoras de lama	0.57	1.57	0.57	0.57	0.57
Bacteria anaerobias facultativas	1.75	5.75	2.75	1.75	-0.25
Pseudomona aeruginosa	1.60	4.60	4.60	1.60	-0.40

3.9 Biopelícula.

3.9.1 Morfología de testigos de corrosión observada por lotes sin biocida.

Las pruebas realizadas para confirmar que la actividad microbiológica está de alguna manera ligada al deterioro de ciertos materiales, –admiralty (70% cobre/ 30% níquel) en este caso- se puede apreciar en las fotografías mostradas en la figura 3.10. Las fotografías A) a D), muestran un segmento de superficie de 4 probetas que permanecieron por espacio de 45 días sumergidas en agua residual; la fotografía A), a diferencia de B), C) y D), no muestra la presencia de material biológico sobre su superficie, esto es debido, a que se limpió con papel absorbente antes de realizar la toma. Sin embargo, se pueden apreciar los estragos que la actividad microbiológica dejó sobre su superficie.



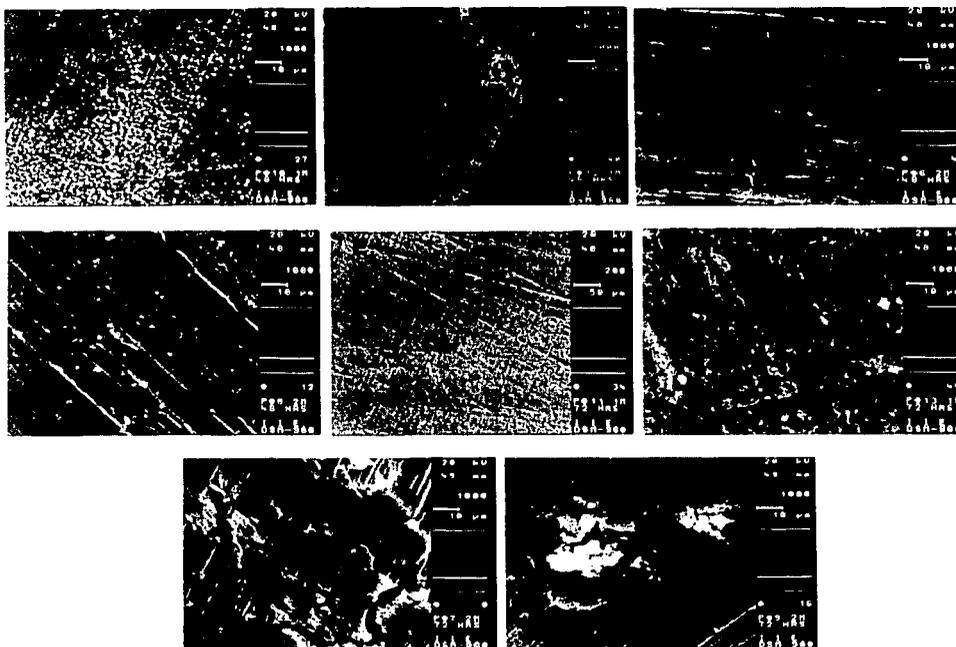
La figura 3.10, muestra un segmento de superficie representativo de cada una de las 5 probetas utilizadas en el experimento sin biocida. Las probetas utilizadas, fueron de admiralty de 1.5 cm². La prueba tuvo una duración de 45 días, se realizó a temperatura ambiente y sólo se controló el volumen de agua en el reactor. El agua utilizada para este experimento, fue agua residual de la planta de tratamiento de lodos activados del Instituto de Investigaciones Eléctricas. Las fotografías fueron tomadas con microscopio de barrido y están amplificadas por 1000, la marca equivale a 10 micras.

Varios son los puntos negros, principalmente en y sobre las ranuras, que delatan un proceso de degradación del material; estos puntos, son más elocuentes en C) y en D), y son característicos de un ataque de corrosión influenciado microbiológicamente.

B), C) y D), muestran sobre su superficie colonias de bacterias muy similares en su morfología, lo que hace suponer –de acuerdo con un trabajo de investigación, presentado por *N. Dowling y J. Guezennel (1997)*- que se trata principalmente de bacterias sulfato reductoras. La fotografía B), aunque tiene una población muy similar a C) y D), no muestra signos de deterioro, sin embargo, es conveniente observar la importancia que tiene para el desarrollo microbiológico la rugosidad de la superficie, ya que al parecer –según estas fotos- las ranuras actúan como sitios de alta energía que favorecen las condiciones para el desarrollo de los microorganismos. La fotografía E), fue tomada de una probeta que se utilizó como referencia, no estuvo inmersa en el agua, y aunque su superficie es muy rugosa, no muestra los cambios que se pueden apreciar en las fotografías A) a D).

3.9.2 Morfología de testigos de corrosión observada por lotes con biocida.

Las fotografías correspondientes a la figura 3.11, son un segmento representativo de las áreas más interesantes que se observaron de manera más general sobre la superficie de cada una de las probetas.



La figura 3.11, muestra un segmento de superficie de las 8 probetas utilizadas para estudiar el comportamiento de los sistemas biocidas: 1.2 mg l^{-1} de plata/ 0.6 mg l^{-1} de cobre y 0.2 mg l^{-1} de plata/ 1.2 mg l^{-1} de cobre/ 0.3 mg l^{-1} de cloro sobre la biopelícula.

A), B), E) y F), estuvieron sumergidas en el agua residual un lapso de 30 días, mientras que C), D), G) y H), lo estuvieron por 60 días. A), C), E) y G), estuvieron en contacto con el sistema biocida 1.2 mg l^{-1} de plata/ 0.6 mg l^{-1} de cobre, y B), D), F) y H) con el sistema 0.2 mg l^{-1} de plata/ 1.2 mg l^{-1} de cobre/ 0.3 mg l^{-1} de cloro. Todo el experimento, se llevó a cabo a temperatura ambiente, sólo se cuidó mantener el volumen de agua constante en el reactor. Durante el tiempo de contacto con el biocida, las muestras se protegieron de la luz, y fue de 48 horas para: A), B), C) y D), y de 72 horas para: E), F), G) y H). El agua utilizada, fue agua residual de la planta de tratamiento de lodos activados del Instituto de Investigaciones Eléctricas. Las microfotografías, fueron tomadas con un microscopio de barrido y están amplificadas por 1000, salvo E) que esta amplificada por 200. La marca equivale a 10 micras con excepción de E), que es de 50 micras.

Es interesante y a la vez complicado sacar una conclusión de una muestra tan heterogénea como la obtenida en este experimento. Sin embargo, una cosa sí queda claro, el hecho de no encontrar microorganismos sobre la superficie de todas y cada una de las probetas, lo que pone de manifiesto la efectividad de los sistemas biocidas empleados en este estudio. Las fotografías B), C), D) y F), muestran un ataque corrosivo más agresivo que el resto de las probetas, y aunque éstas se pulieron con acabado espejo, de nuevo las ranuras siguen siendo el área más susceptible de ataque microbiano.

La fotografía A), es una toma bastante interesante que muestra sobre la superficie una gran cantidad de puntos aglomerados, lo que hace suponer, por su forma y arreglo, que se trata de esporas, no se realizaron pruebas adicionales para confirmar tal suposición.

Las fotografías G) y H), mostraron una especie de película adherida en la mayor parte de su superficie, como se puede observar, las ranuras de las probetas se aprecian por debajo de esta costra y no presentan huellas visibles de ataque por corrosión, posiblemente, esta capa actuó como protección de la superficie metálica.

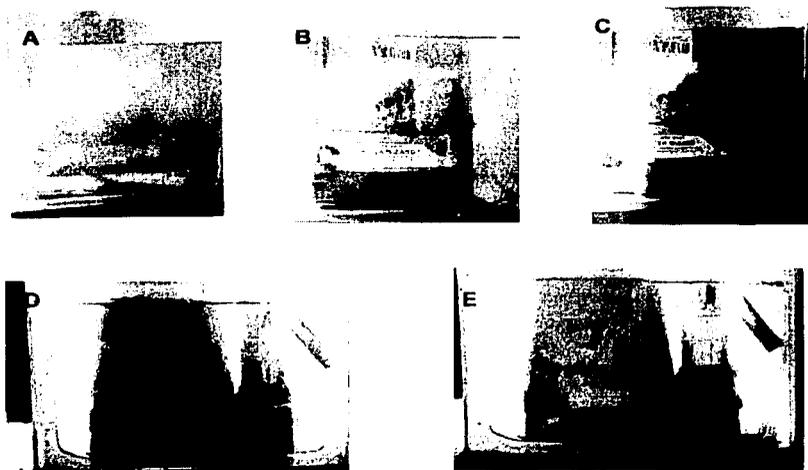
La fotografía E), de manera sorpresiva, no mostró ningún signo que mostrara alteración de la morfología de su superficie.

Por lo que se puede observar en las fotografías, 48 horas fue tiempo más que suficiente para eliminar cualquier manifestación microbiana que pusiera en riesgo la integridad de la superficie metálica.

3.9.3 Evidencias del desarrollo de la biopelícula en los componentes del sistema de flujo continuo y su eliminación con biocida.

Las imágenes tomadas durante el desarrollo del experimento efectuado con el sistema biocida (G): 0.2 mg l^{-1} de plata/ 1.2 mg l^{-1} de cobre/ 0.3 mg l^{-1} de cloro, son más que elocuentes, las fotografías de la figura 3.12, no dejan lugar a dudas del efecto que tuvo sobre la mayor parte de la biopelícula, la combinación de los iones metálicos con el cloro. Sin embargo, es necesario resaltar, que se observaron colonias microbianas que desarrollaron un espesor de película de mayor

consistencia y tamaño, sobre todo en las ranuras de la bomba, que mostraron mayor resistencia al efecto biocida.



La figura 3.12, muestra una secuencia fotográfica del experimento realizado en el sistema de flujo continuo, con el sistema biocida 0.2 mg l^{-1} de plata/ 1.2 mg l^{-1} de cobre/ 0.3 mg l^{-1} de cloro. El experimento, se llevó a cabo a una temperatura de $27 \pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$ y un flujo de 1.8 GPM. El agua utilizada, fue agua residual de la planta de tratamiento de lodos activados del Instituto de Investigaciones Eléctricas. La fotografía A), corresponde al sistema a los 30 días de iniciado el experimento, sin adición de biocida; las fotografías B) y D), corresponden a las 48 horas después de la adición de la primera dosis de biocida. Las fotografías C) y E), corresponden a las 48 horas después de la segunda adición de biocida.

Estas colonias durante el tiempo de exposición al sistema biocida al parecer no se vieron afectadas de manera significativa en su actividad. Esto se deduce por el continuo burbujeo que se desprendía del interior de la biopelícula.

Este hecho hace suponer que la concentración del biocida o que el tiempo de contacto no fueron suficientes para que los iones penetraran una película de estas características; una de las biopelículas, la que mostraba mayor actividad presentaba un espesor de varios milímetros. Como se puede apreciar en las tomas, el material biológico adherido a las paredes del estanque se desprendió casi en su totalidad.

CAPÍTULO CUATRO

ESTIMACIÓN DE COSTOS A NIVEL LABORATORIO

4.1 Evaluación de costos.

En esta sección se presenta una comparación del costo anual por el uso de cloro con el costo anual generado por concepto del uso de los iones plata y cobre y su combinación con cloro. El cálculo de los costos representa sólo una estimación del costo de los sistemas biocidas probados a nivel laboratorio y considerados como óptimos. El cálculo de la cantidad de plata y cobre, está basado en el consumo anual de agua de enfriamiento ($6\,135,564\text{ m}^3$) para una unidad de un sistema de enfriamiento de una central eléctrica particular, en las relaciones consideradas como óptimas en la efectividad del tratamiento para el agua residual y de repuesto tratada con los biocidas empleados en este estudio: 1.2 mg l^{-1} Plata/ 0.6 mg l^{-1} Cobre y 0.2 mg l^{-1} Plata/ 1.2 mg l^{-1} Cobre/ 0.3 mg l^{-1} Cloro. El costo de los metales plata y cobre se consideró con base en la cotización internacional del mercado de los metales. La onza troy de plata (31.10 g) fue cotizada a 4.57 dólares el 25 de Septiembre de 2001. El gramo de cobre se cotizó a \$0.75 en la misma fecha.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla 4.1

Comparación de costos entre el uso de cloro y el uso de las relaciones de concentración óptimas de plata/cobre/cloro

	Costos y Consumos					
	Cloro	1.2 mg l ⁻¹ Plata/0.6 mg l ⁻¹ Cobre		0.2 mg l ⁻¹ Plata/1.2 mg l ⁻¹ Cobre/0.3 mg l ⁻¹ Cloro		
		Plata	Cobre	Plata	Cobre	Cloro
Costo anual por concepto de; (\$) (*)	360.80	10,307.75	2,761.00	1,717.96	5,522.00	18.02
Costo unitario de; (\$/kg)	9.79	1,400.00	750.00	1,400.00	750.00	9.79
Consumo anual de; (kg)	36,854.58	7,362.68	3,681.34	1,227.11	7,362.68	1,840.67
Consumo específico anual de; (kg/m ³)	6x10 ⁻³	1.2x10 ⁻³	6x10 ⁻⁴	2x10 ⁻⁴	1.2x10 ⁻³	3x10 ⁻⁴
Costo anual de microbicida; (\$) (*)	700.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Costo total anual; (\$) (*)	1,060.86	10,307.75	2,761.00	1,717.96	5,522.00	18.02
Gran total anual; (\$) (*)	1,060.86	13,068.75		7,257.98		

(*) costo en miles de pesos

La tabla 4.1 muestra la comparación de costos entre el uso de cloro y el uso de las relaciones de concentración óptimas de plata/cobre/cloro en agua de enfriamiento de la CTEVM. El costo de la relación de plata/cobre y plata/cobre/cloro es de 12.3 y 6.8 veces mayor al costo por concepto del uso de cloro y microbicida. Sin embargo, el impacto ambiental, el deterioro de las instalaciones y equipo, así como los riesgos a la salud y el peligro que implica almacenar y manejar cloro, se abatiría en forma considerable con el uso alternativo de los biocidas propuestos en la presente investigación.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

La evaluación económica de los sistemas biocidas plata/cobre y plata/cobre/cloro presentada en la tabla 4.1 es solo una aproximación y deberá tomarse con cautela. Efectivamente, una evaluación económica, debería de calcularse una vez que se hayan realizado un conjunto pruebas con los sistemas biocidas propuestos en un sistema de enfriamiento a nivel industrial; de esta forma, se incluirían fenómenos que no pueden reproducirse a nivel de laboratorio por ejemplo:

1. La adsorción o (absorción) de los iones en las paredes del sistema de enfriamiento. Los iones de plata se adsorben a las superficies del recipiente que los contiene, proporcionando un efecto germicida continuo, aún después de interrumpir la adición de los iones al sistema (*Woodward 1963*).
2. El tiempo de contacto efectivo entre el sistema biocida y la carga bacteriana.
3. El tiempo de residencia promedio para los iones plata y cobre en el sistema de enfriamiento y sus concentraciones en el efluente.
4. El impacto ambiental y el riesgo para la salud del personal involucrado en el manejo de los reactivos.
5. También es importante observar el comportamiento de los sistemas biocidas en presencia de otros agentes químicos como los compuestos anticorrosivos y antiespumantes comúnmente usados en los sistemas de enfriamiento.

Si se observa un buen comportamiento de los sistemas biocidas propuestos en este trabajo en un sistema de enfriamiento real, probablemente los costos se reducirían.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

CAPÍTULO CINCO

CONCLUSIONES y RECOMENDACIONES

Los iones metálicos, a diferencia del cloro, han demostrado poseer una capacidad biocida sobre un amplio grupo de bacterias, esto ha quedado demostrado en el transcurso de este trabajo.

En su mayoría, las combinaciones de plata y cobre, en los primeros minutos de contacto lograron controlar y reducir de manera significativa la población bacteriana. Semejante resultado no se logró alcanzar con el cloro; inclusive, hubo varias especies que no se vieron afectadas por este elemento y duplicaron su población. Esto hace suponer que la efectividad del cloro decrece considerablemente con el paso del tiempo; ya sea porque su concentración no se mantiene a niveles aceptables, debido quizá, a que reacciona con otras especies químicas presentes en el agua o bien, a que se pierde su efectividad con los cambios de pH y temperatura. Hay que recordar que las especies químicas del cloro con mayor poder biocida son sensibles a estos factores. Además, mantener una concentración constante de cloro residual (1 mg l^{-1}) en el agua es un poco complicado. Por otra parte, concentraciones altas de cloro, provocan que este elemento participe de manera activa en el proceso de corrosión y en la deslignificación de la madera en las torres de enfriamiento.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Es conocido que algunas bacterias como la *Legionella* han desarrollado mecanismos de defensa que las protegen del efecto del cloro; también, y de acuerdo con los resultados obtenidos en este trabajo, especies como las bacterias formadoras de lama no se ven afectadas de manera significativa por la acción de dicho elemento, quedando de manifiesto la poca capacidad de penetración que posee el cloro sobre la biopelícula.

Solo la especie de las bacterias *Pseudomona* y el grupo de los heterótrofos, mostraron mayor resistencia al efecto combinado de la plata y el cobre. En la mayoría de los grupos de bacterias se logró mantener poblaciones cercanas a las 100 ufc ml^{-1} , lo que pone de manifiesto la capacidad biocida de estos elementos; capacidad que no se perdió con el paso del tiempo, ni con el aumento en la concentración de las especies químicas presentes en el agua.

La combinación de los iones metálicos con cloro, mostró ser uno de los sistemas más efectivos en el control microbiológico del agua. Los sistemas biocidas que utilizaron esta combinación, tuvieron buenos efectos sobre la población bacteriana y ambos arrojaron resultados muy similares; comparables a los resultados obtenidos por las mejores combinaciones de plata y cobre. En las dos combinaciones que utilizaron los tres elementos, sistemas biocidas (C) y (G), existe una marcada diferencia en la cantidad de cloro, éste solo hecho representa en si mismo una ventaja, si se toma en cuenta la gran cantidad de agua que se maneja en una torre de enfriamiento.

Por otro lado, el daño que de manera combinada estos elementos ocasionan a las bacterias debe ser mayor y de efectos irreversibles. Las ventajas que se aprecian con los sistemas biocidas que emplean de manera combinada estos tres elementos son los siguientes:

- Una reducción apreciable de cloro.
- Se facilita mantener una concentración baja de cloro constante.
- Disminuye considerablemente la generación de compuestos indeseables.
- Es más difícil para los microorganismos desarrollar mecanismos de defensa contra el efecto sinérgico de estos elementos *Pedahzur R. (1995)*.

- Es más fácil que esta combinación esté dentro de los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales. El nivel máximo permitido, de cobre y de plata, en las descargas de aguas residuales varía, según las normas mexicanas y las políticas de descarga de aguas residuales de los Estados Unidos, de 1.5 mg l^{-1} a 6.1 mg l^{-1} para el cobre (total) y de 2.0 mg l^{-1} a 2.9 mg l^{-1} para la plata (total). Las combinaciones biocidas utilizadas en este proyecto, no superan el valor mínimo de los intervalos permitidos para las descargas en el agua residual de estos elementos. Por lo que respecta al agua potable, La Agencia de Protección al Ambiente, permite un nivel máximo de concentración de: 0.1 mg l^{-1} de plata y de 1.3 mg l^{-1} de cobre *Pedahzur R. (1995)*.

Esta combinación, además mostró capacidad de penetración en la biopelícula, lo cual quedó demostrado de manera gráfica en este documento.

Por otra parte, la diferencia tan marcada en costos de los sistemas biocidas que involucran los iones metálicos contra el empleo de cloro, puede resultar engañoso al momento de tomar una decisión con respecto a estos sistemas biocidas, pues con el tiempo puede resultar más costoso decidirse por la alternativa del cloro. *Licina G.J. (1995)*.

El costo generado por el uso de los sistemas biocidas, reportado en el capítulo cuatro, representa un valor estimado, basado en los resultados obtenidos a nivel laboratorio.

Por lo expuesto anteriormente queda demostrado que bajas concentraciones de plata y cobre tienen un impacto significativo sobre una gran variedad de bacterias y otros microorganismos presentes en el agua.

Por tal razón la ionización como alternativa de control microbiológico del agua presenta un gran potencial de uso, por su bajo riesgo a la salud, por su bajo impacto sobre el medioambiente, y sobre todo al probar su efectividad, su empleo será más común, provocando que disminuyan los costos y que el proceso sea más barato.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

REFERENCIAS.

- Ashton, S.A., King, R.A. y Miller, J.D.A. British. Corros. J. Vol 8. pag 132-136. (1973).
- Babich, H. y Stotzky, G. *Environmental Factors That Influence the Toxicity of Heavy Metals and Gaseous Pollutants to Microorganisms*. CRC Crit. Rev. Microbiol. Vol 8(2). Pag 99. (1980).
- Barton Larry L. and Francisco A. Tomei. *Characteristics and Activities of Sulfate Reducing Bacteria*. SULFATE REDUCING BACTERIA, EDITED by L. BARTON. PLENUM PRESS. NEW YORK, (1995).
- BART™ <http://www.dbi.sk.ca/droycon/BARTs.html>
- Beardwood E.S. *Modeling and Performance Monitoring of Biofilms*. The Nace International Annual Conference and Corrosion Show. CORROSION/95. Paper No 201. Pag. 1-16.(1995).
- Beech, J.A. *Are Metals From Highway Dustfall Hazardous in Swimming Pools?* J. Environ. Health. Vol 42. pag. 328-331. (1980).
- Beecher, J.S., y Trautenberg, G.A., *Control Biological Growths in Open Circulating Cooling Water Systems*. Power. Vol. 108. Pag. 80-82. (1964).
- Beer Charles W, Ph.D. (Abstract) CLEARWATER. POOL SYSTEMS: <http://www.clearwatersystems.com/waterdis.htm>
- Beer Charles W., Ph. D. *Recreational Water Disinfection by Copper:Silver ions*. <http://www.clearwaterpoolsystems.com/waterdis.html>
- Bitton Gabriel. *Wastewater Microbiology*, Department of Environmental Engineering Science. A John Wiley & Sons, Inc. University of Florida, Gainesville. Wiley-Liss, (1994).
- Booth, G.H., *Polarization Studies of Mild Steel in Cultures of Sulfate Reducing Bacteria*. Trans. Faraday Soc. Vol 56. pag 1689-1699. (1960).
- British Columbia Ministry of Environment. Lands & Parks. Ambient Water Quality Criteria for Silver, 1996. <http://www.env.gov.bc.ca/cpd/cpr/criteria/awqcs.html>
- Buffle, J., *Natural Organic Matter and Metal Organic Interactions in Aquatic Systems in Metal ions in Biological Systems*. Vol 8. Sigel, H., Ed. Marcel Dekker. New York . (1984).
- Burger Robert. *Cooling Tower Technology. Maintenance, Upgrading and Rebuild*, Second Edition. The Fairmont Press Inc. Chapter 10, Cooling Water Chemistry, pag. 103-137.(1989).
- Burton and Liden. *Water Chlorination Environmental Impact and Health Effects*. Vol. 2, (1997). Nasa Technology. CLEARWATER. POOL SYSTEMS: <http://www.clearwatersystems.com/nasa.htm>
- Carlson, C.D., *Field Tests and Evaluation of Polychlorophenates in Cooling Towers Preservation*. Cooling Tower Inst. Bull., TPR-120. (1961)
- Cassells J.M., M. T. Yahya, C. P. Gerba. *Efficacy of a Combined System of Copper and Silver and Free Chlorine for Inactivation of Naegleria Fowleri Amoebas in Water*. Water Science Technology. Vol. 31, NO. 5-6. Pag. 119-122. (1995).
- Chambers Cecil W., Charles M. Proctor. and Paul W. Kabler. *Bactericidal Effect of Low Concentrations of Silver*. J. AM. WATER WORKS ASSOC. pag. 209-216, (1962).
- Characklis, W.G. *Microbial Adhesion and Agregation*. Berlin Springer Verlag. Pag 137. (1984).
- Cloclasure R. *Managing microbiological fouling potentials with a non oxidizing biocide tablet in cooling tower systems*. 62nd International Water Conference. Paper 12, October 21-25, Pittsburgh, PA. USA. (2001).

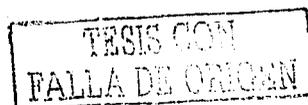
TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

- Cooksey, D.A., *Characterization of a Copper Resistance Plasmid Conserved in Copper Resistant Strains of Pseudomonas Syringae PV. Tomato*. Appli. Environ. Microbiol. Vol 53. pag 454. (1987).
- Costerton J.W. and E.S. Lashen. *Influence of Biofilm on Efficacy of Biocides on Corrosion Causing Bacteria*. CORROSION/83. Paper No. 246. pag. 88-92. April (1983). Anaheim Ca.
- Court A. W., Grant D. y Callery A. G. *Dosing Liquid disinfection chemical under vaccum: experiences from within the UK and USA water industry*. 61st International Water Conference. Paper 13, October 22-26, Pittsburgh, PA. USA. (2000).
- Cullimore D. Roy, Ph., D. *A Simplified Guide to Bacteria in Water*, Part 1, <http://www.dbi.sk.ca/droycon/bacteria.html>
- Donohue, J.M., y Woods, G.A., *On Stream Desludging of Cooling Systems*. Mat. Prot. Vol. 7, pag 15-18. (1968).
- Dowling Nicholas J.E. and Jean Guezennec. *Microbiologically Influenced Corrosion*. Chapter 94, pag. 842-855. (1997).
- Engvall, A.G. *Corrosion Aggressiveness of Soil Related to the Activity of Sulfate Reducing Bacteria*. University of Stockholm, Stockholm Sweden. Biodeterioration Papers Presented at 6th International Biodeterioration Symposium, Washington, D.C. pag 198-202. August, (1984).
- Environmental Protection Agency. *Potential Environmental Modifications. Produced by Large Evaporative cooling tower water pollution control research serves*. Water Quality Office, January, (1971).
- Environmental safety Health. *Wastewater Discharge Policy*. <http://www.nrel.gov/esh/reference/envirprot/discharg.shtm>.
- Feng Q.L., J. Wu, G.Q. Chen. *A Mechanistic Study of the Antibacterial Effect of Silver ions on Escherichia coli and Staphylococcus aureus*. John Wiley & Sons, Inc. Pag 662-668. (2000).
- Fontana Mars G. *Corrosion Engineering*. Third Edition, McGraw Hill, Inc.
- Foye, W.W., *Antimicrobial Activities of Mineral Elements in Microorganisms and Minerals*. Weinberg E.D. Ed. Marcel Dekker, New York. (1977).
- Gadd Geoffrey M. *Heavy Metals Pollutants: Environmental and Biotechnological Aspects*. Pag. 351-360. Unuversity of Dundee. Encyclopedia of Microbiology. Vol. 2, (1992).
- Garethjones E.B. *Recente Advances in Acuatic Mycology*. EDITED by Elec Science London (1976). Chapter 14, Cooling Tower Fungi, pag 359-387. R.A. Eaton.
- Garvey Syd Water Treatment *Electronic Water Purification..* Pag. 10-12. (1994).
- Gerba P. Robert B. Thurman and Charles. *The Molecular Mechanisms of Copper and Silver ion Disinfection of Bacteria and Virus*. CRC CRITICAL REVIEWS IN ENVIRONMENTAL CONTROL. Vol. 18 Issue 4. pag. 295-315. (1989).
- Grier, N., *Silver end its Compounds in Disinfection Sterilization and Preservation*. Block, S.S., Ed. Lea and Febiger Philadelphia , pag 375. (1983).
- Gump D.J. *Utilization of ultraviolet disinfection systems in industrial process*. 62nd International Water Conference. Paper 13, October 21-25, Pittsburgh, PA. USA. (2001).
- Hensley John C. *Cooling Tower Fundamentals. Compiled from the Knowledge and Experience of the Entire Marley Staff*.
- Hurst Christon J. *Manual of Environmental Microbiology*. ASM press. Washington, D.C., AMERICAN SOCIETY FOR MICROBIOLOGY. (1997).
- Hutchinson, D.W. *Metal Chelators as Potencial Antiviral Agents*. Antiviral Rest. Vol 5. pag 193. (1985).

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

ESTA TESIS NO SALE
 DE LA BIBLIOTECA

- Iverson, W.P. *Direct Evidence for the Cathodic Depolarization Theory of Bacterial Corrosion*. Science. Vol 151. pag 986-988. (1966).
- Iverson Warren P. *Mechanisms of Anaerobic Corrosion of Steel by Sulfate Reducing Bacteria*. CORROSION/83. Paper No. 243. pag. 73-75. April (1983). Anaheim Ca.
- Jones R., Echols J.F., Freeman T. y Long M. *Eliminating oxidizing biocides from condenser cooling water systems*. 61st International Water Conference. Paper 10, October 22-26, Pittsburgh PA. USA. (2000).
- Just J. and Sznioalis. *Germicidal Properties of Silver in Water*. J. AM. WATER WORKS ASSOC. Vol 28. No 4 pag 492-506, (1936).
- Kelsey R., Koontz D. y Wang W. *An innovative and alternative method for cooling water treatment*. 62nd International Water Conference. Paper 55, October 21-25, Pittsburgh PA. USA. (2001).
- Kemer Frank N., John McCallion. *Manual del Agua su Naturaleza, Tratamiento y Aplicaciones*. NALCO Chemical Company, Tomo III, McGraw Hill.(1989).
- King, R.A. Dittmer, C.K. y Miller, J.D.A. British. Corros. J. Vol 11. pag 105-107. (1976).
- Kobrin Gregory, E. I. Dude Nemours and Co. *Corrosion by Microbiological Organisms in Natural Waters.*, Inc., Beaufort, Texas. CORROSION/76. pag. 40-44. Houston Texas. March, (1976).
- Kuchta John, William Young and Louis Conley. *Controlling Legionella Using Copper-Silver Ionization*. Stanley States,. JOURNAL AWWA. Vol. 90, No. 9. pag. 122-129. (1998).
- Kuchta, J.M., *Susceptibility of Legionella Pneumophila to Chlorine in Tap Water*. Appl. Envir. Microbiol., Vol. 46, pag 1134. (1983).
- Kutz Susan M., Lee K. Landeen, Moyasart T. Yahya, and Charles P. Gerba. *Microbiological Evaluation of Copper:Silver Disinfection Units*. PROCEEDINGS OF THE 4th CONFERENCE ON PROGRESS IN CLINICAL DISINFECTION STATE UNIVERSITY OF NEW YORK, BIGHAMTON. NEW YORK, (1988).
- Landeen Lee K., Moyasart T. Yahya, and Charles P. Gerba. *Efficacy of Copper and Silver Ions and Reduced Levels of free Chlorine in Inactivation of Legionella pneumophila*. APPL. ENVIRON. MICROBIOL. Vol. 55. No 12. pag. 3045-3050, (1989).
- Landeen Lee K., Moyasart T. Yahya, Susan M. Kutz, and Charles P. Gerba. *Microbiological Evaluation of Copper:Silver Disinfection Units for use in Swimming Pools*. WAT. SCI. TECH. Vol. 21, No. 3, pag. 267-270, (1989).
- Landeen, L.K., Yahya, M.T. y Gerba, C.P. *Efficacy of Copper and Silver ions and Reduced levels of Free Chlorine in Inactivation of Legionella Pneumophila*. Appl. Environ. Microbiol. Vol 55. pag 3045. (1989).
- Laskin Allens I., Hubert A. Lechevalier. *CRC Handbook of Microbiology 2nd Edition*, Vol. VI, Growth and Metabolism. CRC Press., Inc. Boca Raton Florida *Antimicrobial Activity of Heavy Metal Salts*. Carleen Libert. pag. 349-355.(1992).
- LeChevallier, M.W. Cawton, C.D. y Ramos, G.L. *Mechanisms of Bacterial Survival in Chlorinated Drinking Water*. Water. Sci. Technology. Vol 20. pag 145. (1988).
- Licina George J, George R. Nekoksa. *The Influence of Water Chemistry and Biocide Addition on the Response of an on-line Biofilm Monitor*. CORROSION/95. Paper No 527. The Nace International Annual Conference and Corrosion Show.(1995).
- Licina George J. *Monitoring Biofilm Formation in a Brackish Water Cooled Power Plant Environment*. Structural Integrity Associates, Inc., CORROSION/97. Paper No 222. Pag. 1-16. (1997).
- Licina George J. *Monitoring Corrosion and Biofilm Formation in the Emergency Service Water System at Susquehanna*. Structural Integrity Associates, San Jose California. (1994).



- Licina George J., George R. Nekoksa and Robert L. Howard. *An Electrochemical Method for On-Line Monitoring of Biofilm Activity in Cooling Water Using The BioGEOGE Probe*. Structural Integrity Associates, San Jose California. (1994).
- Licina George J., George R. Nekoksa. *The Influence of Water Chemistry and Biocide Addition on the Response of on-line Biofilm Monitor*. Structural Integrity Associates, Inc., Corrosion Failure Analysis Control. Orlando Florida, pag. 1-17. CORROSION/95. Paper No 527. (1995).
- Licina George J., Lothar E. Willertz and Bruce M. Swoyer. *Monitoring Corrosion and Biofilm Formation in the Emergency Service Water System at Susquehanna*. 9th EPRI Service Water Reliability Improvement Seminar, (1996).
- Licina George J., R. John Diletto and Steve Dieth. *Deposition and Corrosion in Stainless Steel Heat Exchange tubes*. Structural Integrity Associates, Inc., Philadelphia Electric Company. Pag. 217-245. (1993).
- Little B., P. Wagner and F. Mansfeld. *Microbiologically Influenced Corrosion of Metals and Alloys*. International Materials Reviews. Vol. 36, No. 6, pag. 253-272. (1991).
- Little Brenda J., Richard I. Roy and P. Wagner. *TAME Microbiologically Influenced Corrosion*. Chemical Engineering Progress. pag. 51-60. (1998).
- Longley Karl E. *Wastewater Disinfection Manual of Practice*. Prepared by: Task force on wastewater disinfection., Chairman Water Pollution Control. Federation, 601 Wythe Street, Alexandria, Virginia, (1994).
- McFeters, G.A., y Camper, A.K., *Enumeration of indicador bacteria exposed to chlorine*. Adv. Appl. Microbiol. Vol 29. pag 177-193. (1983).
- Madsen Eugene L. *Methods for Determining Biodegradability*. pag. 709-717. Chapter 77.
- Mance Geoffrey. *Pollution Threat of Heavy Metals in Aquatic Environmentals*. Elsevier Applied Science. London and New York, (1987).
- Manual Técnico del Agua, cuarta edición. Degrémont, 1979.
- Martin, R.B. y Miriam, Y.H. *Interaction Between Metal Ions and Nucleic Bases, Nucleosides and Nucleotides in Solution in Metal Ions in Biological Systems*. Vol 8 Sigel H. , Ed., Marcel Dekker New York. 57. (1979).
- Marshall Kevin C. *Colonization, Adhesion and Biofilms*. Chapter 33. pag. 358-365.
- Meltcalf Mark. *Banishing Disease with Three 9-volts Batteries*. Part 1. <http://www.silversolutions.com/1.htm>
- Meltcalf Mark. *Banishing Disease with Three 9-volts Batteries*. Part 2. <http://www.silversolutions.com/4.htm>
- Miller, J.D.A., Tiller, A.K., *Microbial Aspects of Metallurgy*. Elsevier, New York. (1970).
- Mueller R. F. and A. Steiner. *Inhibition of Anaerobic Digestion Caused by Heavy Metals*. WAT. SCI. TECH. Vol. 26, No 3-4, pag. 835-846. (1992).
- Modificación a la Norma Oficial Mexicana NOM-127-SSA1-1994.
- Muyima NYO and F. Ngcakani. *Indicator Bacteria and Regrowth Potential of the Drinking Water in Alice Eastern Cape*. ISSN 0378-4738 Water S A Vol. 24, No 1, January (1998).
- Nickels, J.S., Bobbie, R.J., Martz, R.F., Smith, G.A., White, D.C. y Richards, N.L. Appl. Environ. Microbiol. Vol. 41: pag. 1262. (1981).
- Normas Oficiales Mexicanas para la Protección Ambiental. Norma Oficial NOM-001-ECOL-1996, NOM-002-ECOL-1996 y NOM-003-ECOL-1997.
- Nriagu Jerome G. *Sulfur in the Environment*. Part II Ecological Impact.. John Wiley & Sons.
- Opheim D. *Biological control in cooling tower treated with pulsed-power systems*. 62nd International Water Conference. Paper 13 October 21-25 Pittsburgh PA. USA. (2001).

- Pedahzur Rami, Ouadia Lev, Badro Fattal. *The Interaction of Silver ions and Hydrogen Peroxide in the Inactivation of E. coli: A Preliminary Evaluation of a New Long action Residual Drinking Water Disinfection..* Water Science Technology. Vol. 31, NO. 5-6. Pag. 123-129. (1995)
- Perry Robert H., Cecil H. Chilton. *Manual del Ingeniero Químico*, Quinta Edición, Vol. 1 y 2. McGraw Hill.
- Pizarro Gonzalo, David Griffeath and Daniel R. Noguera. *Biodeterioration*. Paper presented at the 6th International Biodeterioration Symposium Washington, D.C., (1984). Sponsored by The George Washington University, Virginia Common Weath University, CAB International Mycological Institute, The Biodeterioration Society. Quantitative Cellular Automotion Model for Biofilms. Journal of Environmental Engineering. pag. 782-789, (2001).
- Pope Daniel H., David Duquette, Arland H. Jahannes and Peter C. Wayner *Microbiologically Influenced Corrosion of Industrial Alloys*. CORROSION/83. Paper No. 247. pag. 68-72. April (1983). Anaheim Ca.
- Pope Daniel H., David Duquette, Peter C. Wayner, Jr, Arnold H. Johannes. *Microbiologically Influenced Corrosion a State of the Art*. Review by Materials Technology Institute of the Chemical Process Industries, Inc. Rensselaer PolyTechnic Institute Troy New York. (1973).
- Puckorius Paul R. *Messive Utility Condenser Failure Caused by Sulfide Producing Bacteria*. CORROSION/83. Paper No. 248. pag. 84-87. April (1983). Anaheim Ca.
- Rahn, R.O., J.K. Setlow y L.C. Landry. *Ultraviolet Irradiation of Nucleic Acids Complexed With Heavy Atoms. III Influence of Ag⁺ and Hg²⁺ on the Sensitivity of Phage and of Transforming DNA to Ultravioleta Radiation*. Photochem. Photobiol. Vol 18. pag 39-41. (1973).
- Richards R.M.E. *Antimicrobial Action of Silver Nitrate*. MICROBIOS. Vol. 31, pag. 83-91, (1981).
- Röller, S.D., Olivieri, V.P., y Kawata, K., Water Res. Vol. 14. pag.635-641. (1980)
- Rook, J.J., *Formation of Haloforms During Chlorination of Natural Waters*. J. Water Treatment. Exam. Vol. 23. pag 234. (1974).
- Selected Discussions On Making Collidal Silver. <http://web.idirect.com/~showcase/althealth/csdisc.htm>
- Sharpley J.M. *Microbiological Corrosion and Its Control*. Virginia Commonwealth University, Fredericksburg. Va. pag. 14-20.
- Silva M. S. y Álvarez G. A. *Estudio de una alternativa novedosa para la sustitución del uso del cloro en sistemas de enfriamiento*. Reporte Interno IIE/44/1172/I003/F. (2001).
- Silva M. Susana y Álvarez G. Alberto, *Cooling Water Bacterias Disinfection By Using Electrolytically Generated Silver And Copper Ions*. International Water Conference. Pittsburgh Pen., Ocotber (2001).
- Silver Simon and Guangyong Ji. *Newer Systems for Bacterial Resistances to Toxic Heavy Metals*. ENVIRONMENTAL HEALTH PERSPECTIVES 102, SUPPLEMENT 3, September (1994). <http://EHPNET1.NIEHS.NIH.GOV/DOCS/1994/Suppl-/silver.html>.
- Singh, A. y McFeters, G.A. *Survival and Virulence of Copper and Chlorine Stressed Yersinia Enterocolitica in Experimentally Infected Mice*. Appl. Environ. Microbiol. Vol 53. pag 1768-1774. (1987).
- Singh, A. y McFeters, G.A. *Recovery Growth and Production of Heat Stable Enterotoxin by Escherichia coli After Copper-Induced Injury*. Appli. Environ. Microbiol. Vol 51. pag 738. (1986).
- Sletten, O. J. Am. Water Works Assoc. pag 690-697. December (1974).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

- Standard Test Methods for Corrosivity of Water in the Absence of Heat Transfer (Weight Loss Methods). Norma ASTM D 2688-94, (1994).
- Stevens, A.A. Slocum, Seeger, D.R. y Robeck, G.G. *Chlorination of Organics in Drinking Water*. J. Amer. Water Works Assoc. Vol. 68: pag 615. (1976).
- Stringer Ruth y Johnon Paul, *Chlorine and the Environment an overview of the chlorine industry*, Greenpeace Research Laboratories University of Exeter, Exeter, U.K. Kluwer Academic Publishers, (2001).
- Tatnall Robert E. *Fundamentals of Bacteria Induced Corrosion*. CORROSION/81. Paper No 129. pag. 7-14, Toronto Canadá. April, (1981).
- Tatnall Robert E. *Biocorrosion of Metals in the Proces Industries*. E.I. Pont de Nemours and Co., Inc. Wilmington, Delaware, USA. Biodeterioration Papers Presented at 6th International Biodeterioration Symposium Washington, D.C. pag. 207-211. August (1984).
- Tilton Richard C. and Bernard Rosenberg. *Reversal of the Silver Inhibition of Microorganisms by Agar*. APPL. ENVIRON. MICROBIOL. Vol. 55, No. 6, pag. 1116-1120, (1978).
- TPC Publication. *The Role of Bacteria in the Corrosion of Oilfield Equipment*; an Official Nace Publication National Association Corrosion Engineers. (1986).
- Ueda, K. Morita, J., Yamashita, K. y Komano, T. *Inactivation of Bacteriophage ox174 by Mitomycin C in the Presence of Sodium Hidrosulfite and Cupric Ions*. Chem. Biol. Interact. Vol 29. pag 145. (1980).
- Understanding Electro-colloidal Silver Generation.
<http://web.idirect.com/~showcase/althealth/makeecs.htm>
- Venkobachar, C., Iyengar, L., y Prabha Kara Rao, A.V.S. *Mechanisms of Disinfection: Effect of Chlorine on Cell Membrane Functions*. Water Res. Vol 11, pag. 727-729. (1977)
- Ward W.J. *Cooling Towers*. Published by American Institute of Chemical Engineers. Vol. 2. Prepared by Editors of Chemical Engineering Progress. Cooling Water Treatment Chemical. Pag 61-63
- Woodward Richard L. *Review of the Bactericidal Effectiveness of Silver*. J. AM. WATER WORKS ASSOC. pag. 881-886, (1963).
- Yahya Moyasart T., Lee K. Landeen, Maria C. Messina, Susan M. Kutz, Richard Schulze and Charles P. Gerba. *Disinfection of Bacteria in Water Systems by Using Electrolytically Generated Copper: Silver and reduced levels of free chlorine*. CAN J. MICROBIOL. Vol. 36 pag. 109-116. (1990).
- Youmans. T. y Davidson, N. On the Complexing of Deoxiribonucleic Acid by Silver (I) Biochim. Biophys. Acta. Vol 55, pag 609. (1962).
- Woodson, R.D., *Cooling Towers*, Sci. American. Vol 224, pag 70-78. (1971).
- Wuhrmann, K., y Zobrist, F., *Investigations into the Bactericidal Action of Silver in Water*. Schweiz Hydrol. Vol 20. pag 218. (1958).

ANEXOS

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

ANEXO A-1

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

85

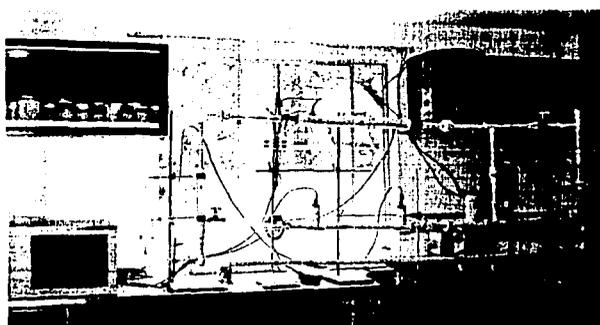
Factibilidad técnica para emplear iones plata y cobre electrogenerados en el control microbiológico de los sistemas de enfriamiento

Susana Silva M., Esteban Martínez M. y Alberto Álvarez G.

Introducción

Aun y cuando existen numerosos estudios que documentan cambios de metabolismo e inactividad de microorganismos debido al daño ocasionado por iones metálicos o halógenos, no existe un documento definitivo que ligue los cambios causados por los iones metálicos o halógenos a nivel molecular.

El objetivo de este trabajo es determinar la factibilidad técnica de sustituir el uso de cloro por otro biocida (ionización de plata o cobre) no peligroso en aguas de enfriamiento. Esta técnica de ionización podría ser empleada para tratar el agua de procesos industriales en general. El agua empleada provino del agua de repuesto del sistema de enfriamiento de la Central Termoelectrónica de Valle de México (CTEVM) y agua residual de las plantas de tratamiento del Instituto Mexicano de Tecnología del Agua (IMTA) y del Instituto de Investigaciones Eléctricas (IIE). Los tres tipos de agua empleados tienen características físicas, químicas y biológicas similares.



Materiales y métodos

Metodología experimental

- a) Prueba de jarras. Los reactores empleados para llevar a cabo las pruebas microbiológicas fueron de polietileno de alta densidad y de polipropileno. Se seleccionaron estos materiales debido a su capacidad de baja adsorción de iones plata y cobre. Los reactores se lavaron con una solución de ácido nítrico para eliminar los posibles iones metálicos adsorbidos en la superficie. Los reactores se llenaron con una solución de HNO_3 al 12% y se dejaron reposar durante la noche. Posteriormente se enjuagaron con agua destilada y se les agregó, a cada uno, un litro de la solución del ion biocida bajo estudio, a la concentración deseada, y se dejaron reposar durante 24 horas con el fin de acondicionarlos. Una vez acondicionados, se les agregaron 950 ml del agua bajo estudio (agua residual de la planta de tratamiento del IMTA o agua de repuesto de la CTEVM) a la temperatura de interés a cada uno completándose el volumen de 1000 ml con la solución del ion bajo estudio a la concentración determinada. Los reactores se colocaron en celdas alimentadas con agua del baño con recirculación para mantener la temperatura constante durante la duración de la prueba. Simultáneamente se corrió un reactor con el "experimento control" (EC), en ausencia del ion metálico, conteniendo 950 ml de agua residual aforándose a un litro con agua destilada. Se retiraron muestras de agua de cada reactor (incluyendo el EC) a diferentes intervalos de tiempo y se analizó el contenido de bacterias presentes. Una solución neutralizante de tiosulfato de sodio se adicionó a las muestras de agua inmediatamente después de ser retiradas de los reactores, esto con el fin de neutralizar cualquier efecto de los iones metálicos (Landeem, 1989). Las pruebas tuvieron una duración de 24 a 72 horas.

b) Sistema continuo. La experimentación se llevó a cabo en un sistema continuo parcialmente cerrado con capacidad de 20 litros de agua aproximadamente. En este sistema se controlaron el pH y la temperatura como variables importantes en forma similar a la operación de un sistema de enfriamiento. El pH se controló en el intervalo de $7 < \text{pH} < 8$ mediante la adición de ácido sulfúrico manteniéndose una temperatura de 27 ± 5 °C (delta de temperatura de 10 °C) y un flujo de 1.8 gpm. El pH, la temperatura, el flujo y la conductividad se midieron en línea. El electrodo de pH y el conductímetro se calibraron cada 12 horas aproximadamente. El sistema continuo se alimentó con agua residual (planta de tratamiento del IIE) tratada mediante el proceso de lodos activados tomándose la muestra antes del punto de cloración. El sistema continuo se acondicionó durante 24 horas antes de iniciar la prueba microbiológica bajo estudio. El acondicionamiento consistió en recircular once litros de una solución del agente biocida (plata y cobre) a la concentración de interés para minimizar la adsorción del mismo en los componentes del sistema durante la prueba microbiológica. La solución del agente biocida se preparó con agua destilada. El volumen inicial de 11 litros empleado en cada prueba microbiológica no se mantuvo constante durante la prueba que duró 72 horas aproximadamente debido a la evaporación y al muestreo; sólo se adicionó un volumen variable de una solución de ácido sulfúrico diluido para mantener el pH. Se colectaron muestras de agua a diferentes intervalos de tiempo para analizar a las bacterias presentes en el agua.

Biocida empleado

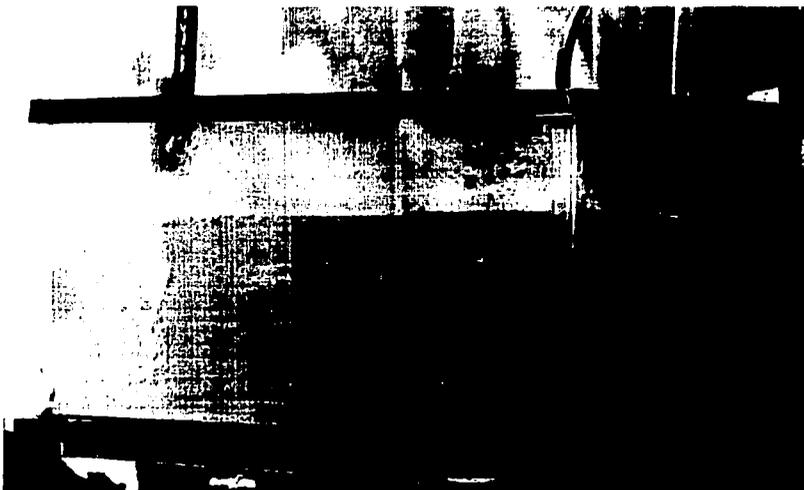
Los sistemas de plata, cobre y plata/cobre fueron empleados como biocidas en las pruebas microbiológicas. La concentración de los agentes biocida se estableció con base en los valores reportados en la Tabla 1 (Just y Sznliolis, 1936).

Electrogeneración de plata y cobre

La electrogeneración de iones de plata y cobre se llevó a cabo potencioestáticamente (equipo AUTOLAB/PGSTAT 30 marca BRINKMAN) aplicando un voltaje de 7 a 10 voltios en un arreglo experimental de dos electrodos a temperatura ambiente. El electrodo de referencia se conectó a la terminal del contraelectrodo. El contraelectrodo empleado fue del mismo material del ion bajo estudio. La ionización se llevó a cabo en agua destilada y con frecuencia se empleó una solución de plata o cobre previamente electrogenerada. La concentración de los iones de plata y cobre se analizó espectrofotométricamente al término de la ionización. Los electrodos de plata y cobre se fabricaron empleando láminas de plata (99% de pureza) y láminas de cobre (100% de pureza) de 1mm de espesor. Las láminas metálicas se adquirieron en un taller de la ciudad de Taxco, Guerrero. El área de los electrodos fue de 20 a 30 cm² aproximadamente. Los electrodos se pulieron con lija de agua fina (No. 500), se secaron con papel absorbente y se conectaron a la celda para ser empleados.

Análisis químicos

La concentración de plata y cobre se analizó con el espectrofotómetro DRL/2010 marca HACH, el pH y la conductividad se midieron con un medidor de pH y un conductímetro marca HACH respectivamente.



TESIS CON
FALLA DE

Análisis bacteriológicos

Bacterias Coliformes. Las bacterias coliformes se cuantificaron empleando un *kit* de Pruebas Colilert (IDEXX, 2000). El *kit* de pruebas colilert permite la detección y confirmación simultánea de coliformes totales y *E. Coli* (coliformes fecales) en agua. Las pruebas Colilert consisten en la determinación del número más probable de coliformes por 100 ml (NMP/ 100 ml). El reactivo colilert se adiciona a 100 mL de muestra de agua contenida en un recipiente esterilizado (frasco lechero). Una vez disuelto el reactivo, se agrega la mezcla de reactivo y muestra a un dispositivo Quanti-Tray/2000, sellando el dispositivo en el sellador (Quanti-Tray Sealer) y se incuba por 24 horas a 35 °C. Posteriormente se cuenta el número de celdas positivas y con la tabla de NMP, junto con el *kit*, se determina el número más probable de bacterias coliformes. Las bacterias coliformes totales desarrollan celdas amarillas y las bacterias coliformes fecales desarrollan celdas que fluorescen con luz ultravioleta.

Bacterias relacionadas con fero (IRB) y bacterias sulfato reductoras (SRB). Las bacterias IRB y SRB se determinaron empleando las pruebas de reacción de la actividad biológica BART-Test (BART% 2000). Estas pruebas detectan la actividad (agresividad) de las bacterias presentes en el agua con base en el tiempo, T_L , que tarda en aparecer la primera reacción desde el inicio de la prueba. Entre mayor sea el T_L antes de observar la primera reacción, menos agresivas son las bacterias en la muestra en particular. Una población mayor de 1000 unidades formadoras de colonias por mililitro (ufc/ml) se considera como altamente agresiva reflejando su agresividad en la formación de la biopelícula en los intercam-

biadores de calor y, en general, en los componentes del sistema de enfriamiento, esto como consecuencia el posible desarrollo de corrosión microbiológica. Una agresividad media está relacionada con una población de 1000 a 100 ufc/ml mientras que una agresividad baja se presenta en poblaciones de 10 ufc/m, o menor. Las reacciones se relacionan con la manera en la cual los microbios interactúan dentro del ambiente de las pruebas BART. Estas reacciones pueden ser cambios de color, desarrollo de gas y precipitación. La naturaleza única de las pruebas BART, que la hace diferente y posiblemente superior a las técnicas de cultivo en agar, es que el agua usada en la prueba proviene completamente de la muestra y aún contiene los microbios en su hábitat natural. Los métodos de cultivo de agar, proveen superficies de agar a los microbios para que éstos crezcan creando así un ambiente no apto para muchos microbios. De esta manera los posibles resultados son: no creció, no aparece o no se puede contar. Las pruebas BART contienen nutrientes selectivos para que grupos específicos de microbios se desarrollen y exhiban su actividad biológica mediante las reacciones descritas anteriormente y consisten en la adición, aseptica, de 15 ml de la muestra de agua sin diluir a la prueba BART. Observar la prueba diariamente durante ocho días registrando los códigos de reacción correspondientes a las reacciones desarrolladas para cada tipo de prueba (IRB y SRB). Se colectaron muestras de agua cada 24, 48 y 72 horas para llevar a cabo dichas pruebas.

Efectividad del tratamiento

La efectividad del tratamiento con los iones metálicos se evaluó empleando el tiempo que tarda en aparecer la primera reacción. Este tiempo es representado por T_{LD} . El T_{LD} , medido comúnmente en días de retardo, indica la agresividad del consorcio bacteriano que se está estudiando. Los tiempos de retardo para diferentes grados de agresividad son diferentes para cada prueba BART y cada consorcio bacteriano. Como resultado de esto, la diferencia en el tiempo de retardo antes y después del tratamiento puede ser usado para determinar la efectividad del tratamiento. Lo anterior se expresa por la ecuación

$$T_{LD} = T_{LAT} - T_{LBT}$$

Donde T_{LD} es la diferencia de tiempo creada por el tratamiento expresado en días. Esto reflejaría el desplazamiento del logaritmo de la población como resultado del tratamiento, T_{LAT} representa los días que tarda en aparecer la primera reacción después del tratamiento y T_{LBT} representa los días que tarda en aparecer la primera reacción antes del tratamiento. Un valor negativo de T_{LD} significa no solo que el tratamiento ha sido inefectivo sino que también ha habido una liberación de bacterias (de la biopelícula hacia el agua) que confiere mayor agresividad a las bacterias. Si el T_{LD} se encuentra en el intervalo de -0.1 a +0.1 entonces el tratamiento podría ser considerado que no tuvo un significativo impacto sobre el consorcio bacteriano que se está estudiando empleando las pruebas BART. Un impacto significativo en el tratamiento resultaría en un valor de T_{LD} mayor de 0.9. La efectividad del tratamiento se obtuvo mediante el cálculo de T_{LD} y con base en la Tabla 2.

Resultados

Los sistemas metálicos estudiados en el establecimiento del control microbiológico en el agua residual y agua de repuesto son plata, plata/cobre y cobre en los intervalos de concentración de 200 mg/L a 3000 mg/L de plata y de 200 mg/L a 1200 mg/L de cobre. Los experimentos realizados en la prueba de jarras (sistema cerrado) se llevaron a cabo a dos temperaturas ($25^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ y $32^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$) sin controlar el pH; mientras que en el sistema continuo el pH se mantuvo en el intervalo de pH de 7 a 8 mediante la adición de ácido sulfúrico y se conservó un delta de temperatura de 10°C ($27^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$). El pH, la conductividad y la temperatura se midieron en forma continua.

Electrogeneración de iones metálicos

La eficiencia de electrogeneración de los iones metálicos de plata y cobre depende de la calidad (concentración y composición química) del agua empleada y del grado de pureza de la superficie metálica del ion por electrogenerar. En este estudio se realizaron pruebas de electrogeneración de iones plata empleando agua de la llave, agua destilada con electrolito de fondo (NaNO_3 y Na_2SO_4) y agua destilada. El agua destilada fue el agua que mejor calidad y producción de plata originó, debido a que los otros tipos de agua probados formaban precipitados con el ion plata (AgCl , AgSO_4 , etc.), disminuyendo así la cantidad de plata libre en el agua para ser empleada en el abatimiento de la carga bacteriana en las pruebas microbiológicas. Se procedió de la misma manera para electrogenerar los iones de cobre empleando agua destilada, con el fin de eliminar posibles problemas de formación de precipitados del cobre con los aniones presentes en agua no destilada. La cantidad de iones electrogenerados (concentración) puede ser conocida teóricamente mediante una relación matemática muy simple (Bard and Faulkner, 1980; Southampton Electrochemistry Group, 1993). Sin embargo, por las razones antes expuestas, se consideró importante partir de concentraciones conocidas experimentalmente. Just y Sznitolis (Just y Sznitolis, 1936) reportaron que la composición mineral del agua influye enormemente en el consumo de la corriente eléctrica durante la generación de los iones resultando en una eficiencia de generación de iones plata en aproximadamente del 50%.

Es importante mencionar que los iones cobre son interferentes para determinar la concentración de plata cuando se electrogenera usando a la aleación cobre/plata como superficie metálica. Con base en esta observación, en las pruebas microbiológicas llevadas a cabo con el sistema plata/cobre, se procedió a: generar los iones metálicos por separado, determinar su concentración experimentalmente y preparar la mezcla plata/cobre a la concentración deseada para la prueba.

Bacterias coliformes

Las bacterias coliformes (totales y fecales) se cuantificaron en el agua residual proveniente de la planta de tratamiento del IMTA en los sistemas de plata, cobre y plata/cobre usando plata y cobre electrogenerados en la prueba de jarras. Así pues, se emplearon reactivos químicos de nitrato de plata y cloruro de cobre manteniendo las mismas relaciones plata/cobre con la finalidad de comparar el

impacto de los iones provenientes de reactivos químicos con respecto a los electrogenerados en el aniquilamiento de las bacterias. Se observó que el sistema plata es capaz de inactivar las bacterias coliformes resultando en un aniquilamiento de alrededor del 90% en los primeros 30 minutos de contacto a las concentraciones de plata empleadas. Un valor promedio inicial de coliformes fecales de 10^9 NMP/100 ml se redujo a 10^3 NMP/100 ml en las primeras seis horas de contacto aproximadamente empleando 600 $\mu\text{g/L}$ de plata. El sistema cobre mostró una inactivación de las bacterias coliformes resultando en un aniquilamiento de alrededor del 90% después de cinco horas de contacto a las concentraciones de cobre empleadas permaneciendo en ese valor hasta alrededor de las 30 horas. Después de ese tiempo, las bacterias coliformes adquirieron valores similares a los del experimento control. El experimento control representa el comportamiento de las bacterias coliformes en ausencia de iones metálicos. En el sistema plata/cobre en donde se mantiene constante la concentración de la plata en 600 $\mu\text{g/L}$ y se varía la concentración de cobre en las relaciones plata/cobre estudiadas, se encontró un comportamiento similar al reportado en el sistema plata excepto que no se observó recrecimiento de las bacterias coliformes. Después de cinco horas de contacto, este sistema reportó un aniquilamiento total de las bacterias coliformes. Los iones provenientes de los reactivos químicos tuvieron un comportamiento similar a los sistemas plata y cobre mostrando recrecimiento de las bacterias coliformes después de 15 horas de contacto adquiriendo valores de 10^3 NMP/100 mL aproximadamente. Es importante mencionar que los valores de las bacterias coliformes fueron similares a los obtenidos con muestras en ausencia y presencia de la solución neutralizante.

Los sistemas de plata y plata/

cobre estudiados en el abatimiento de bacterias coliformes en el sistema continuo se llevaron a cabo para observar el efecto del pH (controlado con adición de ácido sulfúrico), el delta de temperatura de 10 °C aproximadamente, el flujo y observar tanto el efecto de la concentración de sales debido a la evaporación como el impacto de las condiciones sépticas sobre el comportamiento del agente biocida y las bacterias presentes en el agua. Se empleó agua residual proveniente de la planta de tratamiento del IIE y se midió el pH, la conductividad y la temperatura en forma continua manteniéndose constante el flujo. Estos sistemas lograron inactivar a las bacterias coliformes resultando en un aniquilamiento de coliformes totales y fecales del 99% en las primeras dos horas de contacto. El sistema 600µg/L plata/1200µg/L cobre, fue el sistema que mostró recrecimiento por debajo de 100 NMP/100 ml de coliformes to-

tales y por debajo de 10 NMP/100 ml de coliformes fecales. En el resto de los sistemas las coliformes totales y fecales mostraron recrecimiento alcanzando valores máximos de 1000 NMP/100 ml excepto por el sistema 600µg/L plata/600µg/L cobre, cuyos valores fueron de hasta 10⁴ NMP/100 ml. Los recrecimientos de las bacterias coliformes fueron observados entre las primeras 10 y 15 horas de contacto. La Figura 1 muestra dos gráficas del número más probable de coliformes totales y fecales en función del tiempo para los sistemas de 600µg/L plata/600µg/L cobre y 600µg/L plata/1200µg/L cobre. La línea punteada marca el máximo valor permisible de coliformes fecales en la descarga establecido por la Norma Oficial Mexicana (NOM-001-ECOL-1996/ NOM-003-ECOL-1997).

Las bacterias coliformes se analizaron en el agua de repuesto al sistema de enfriamiento de la CTEVM se analizaron como una medida de control mientras se estudiaban las bacterias relacionadas con hierro y bacterias sulfato reductoras en los experimentos sucesivos.

Bacterias IRB y SRB

La Figura 2 muestra una gráfica de la población probable de bacterias relacionadas con hierro en función de la concentración de plata. La muestra es agua de repuesto del sistema de enfriamiento de la Central Termoeléctrica de Valle de México a temperatura constante (32 °C ± 0.5 °C) sin control del pH. Esta gráfica muestra que el intervalo óptimo de concentraciones de plata es de 0.6 a 3.0 mg/L en donde se logró abatir más del 90% de las poblaciones bacterianas relacionadas con hierro. Las muestras permanecieron 48 horas en contacto con la respectiva

Figura 1. Efecto de los iones plata/cobre sobre el aniquilamiento de bacterias coliformes totales y coliformes fecales. Experimento realizado en sistema continuo usando agua residual proveniente de la planta de tratamiento del IIE a pH entre 7.2 y 7.8 y temperatura de 27 °C ± 5 °C.

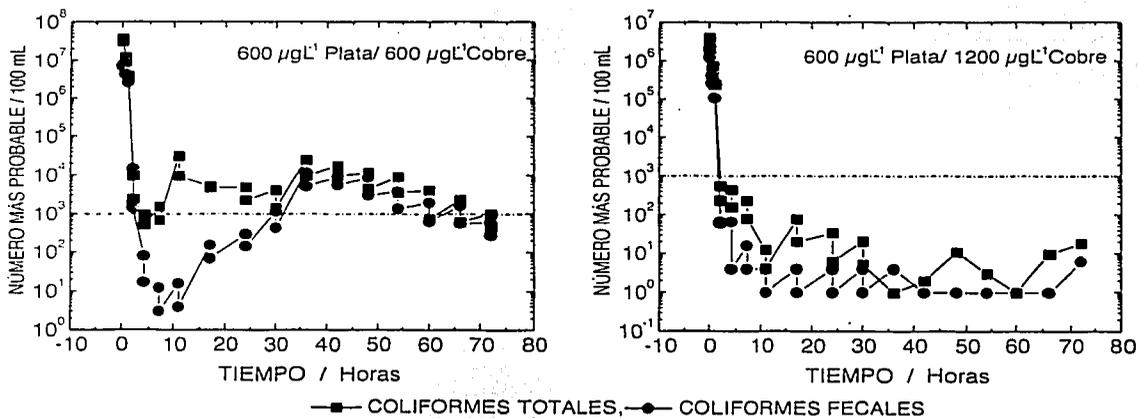


Figura 2. Efecto de la concentración del ion metálico plata sobre el aniquilamiento de bacterias relacionadas con fierro. Experimento realizado en prueba de jarvis usando agua de repuesto del sistema de enfriamiento de la Central Termoelectrónica de Valle de México a temperatura constante (32 °C).

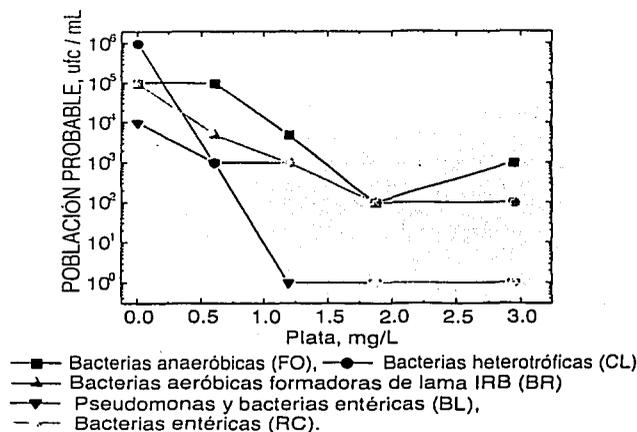
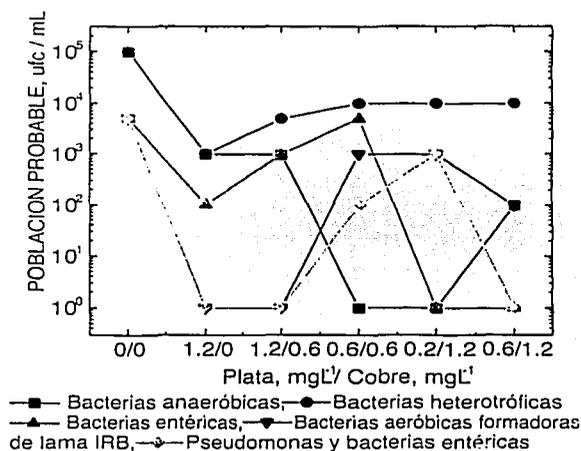


Figura 3. Efecto de las relaciones de concentración de plata/cobre sobre las bacterias relacionadas con fierro presentes en el agua residual proveniente de la planta de tratamiento del IIE. Tiempo de contacto de los iones metálicos con el agua: 48 horas. El pH se mantuvo entre 7.2 < pH < 7.8 con adición de ácido sulfúrico y temperatura constante de 27 ± 5 °C en el sistema continuo.



concentración de plata antes de proceder con el análisis de IRB-BART.

Las Figuras 3 y 4 presentan la variación de la población probable de IRB y SRB presentes en el agua residual de la planta de tratamiento del IIE en función de la relación de concentraciones de plata/cobre respectivamente. Las muestras permanecieron 48 horas en contacto con las respectivas relaciones plata/cobre. La relación 1.2 mgL⁻¹ plata/0 mgL⁻¹ cobre (ver Figura 3) es la relación más eficiente para inactivar a las bacterias relacionadas con fierro con un aniquilamiento del 99% y mayor. Las bacterias heterotróficas se abatieron en un 90% en el resto de las relaciones plata/cobre estudiadas. La relación 0.6 mgL⁻¹ plata/1.2 mgL⁻¹ cobre logró inactivar a las IRB con un aniquilamiento igual o mayor al 99%, exceptuando a las bacterias heterotróficas. Esta misma relación (ver Figura 4) resultó ser muy efectiva en la inactivación total de las bacterias sulfato reductoras con un aniquilamiento del 100% de SRB.

Efecto del control del pH, evaporación y delta de temperatura

No se observó un apreciable impacto de la concentración de las sales debido a la evaporación, control del pH y el delta de temperatura estudiado sobre el aniquilamiento de las poblaciones bacterianas empleando los iones plata y cobre.

Efectividad del tratamiento

Los resultados de la efectividad del tratamiento con los iones metálicos se reportan en las Tablas 3 y 4 para las bacterias relacionadas con fierro y bacterias sulfato reductoras respectivamente. Estos resultados se obtuvieron después de haber estado la plata y las relaciones de plata/cobre en contac-

to durante 48 horas con las bacterias presentes en el agua residual proveniente de la planta de tratamiento del IIE en el sistema continuo. La Tabla 5 muestra los resultados de la efectividad del tratamiento de los iones metálicos de las pruebas IRB-BART y SRB-BART realizadas en la prueba de jarras usando agua de repuesto del sistema de enfriamiento de la Central Termoeléctrica de Valle de México.

Conclusiones

Los sistemas de plata, plata/cobre y cobre estudiados resultaron ser una buena alternativa con un mínimo impacto ambiental para sustituir el cloro en los sistemas de enfriamiento. Estos sistemas lograron abatir a las poblaciones bacterianas promotoras de la corrosión influenciada microbiológicamente y del ensuciamiento biológico a niveles de 1000 ufc/mL y menores compitiendo con los tratamientos de aguas de enfriamiento convencionales. Así mismo, la capacidad de adherencia de la biopelícula sobre las superficies del sistema de enfriamiento se vería seriamente afectada debido a que la plata se adsorbe a la superficie que la contiene y aún continua su efecto bactericida (Thurman y Gerba, 1989). Adicionalmente, las bacterias coliformes son reducidas por debajo de los niveles aceptados por la Norma Oficial Mexicana.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el apoyo otorgado para la realización del presente trabajo de investigación (adquisición de equipo de inversión y complemento de beca de tres estudiantes de maestría).

Susana Silva Martínez
Ingeniería Industrial en Química por el Instituto Tecnológico de Zacatepec (1983), maestra en

Figura 4. Efecto de las relaciones de concentración de plata/cobre sobre las bacterias sulfato reductoras presentes en el agua residual proveniente de la planta de tratamiento del IIE. Tiempo de contacto de los iones metálicos con el agua: 48 horas. El pH se mantuvo entre $7.2 < \text{pH} < 7.8$ con adición de ácido sulfúrico y temperatura constante de $27 \pm 5^\circ\text{C}$ en el sistema continuo.

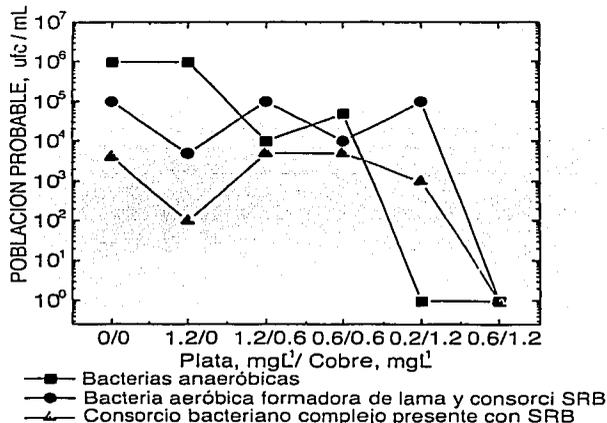


Tabla 1. Plata requerida para desinfección de diferentes calidades de agua

Tipos de agua	Concentración de plata, $\mu\text{g/L}$
Agua potable y agua mineral	25 - 100
Agua de albercas	150 - 200
Agua para hacer hielo artificial	400
Agua para lavar vajillas y utensilios de fábricas preparadoras de alimentos	25 - 600.

Tabla 2. Evaluación del tratamiento.

Intervalo de T_{LD}	Efectividad del Tratamiento
> -1.0	El tratamiento falló y las bacterias se han vuelto más agresivas en el agua.
-0.9 a -0.1	El tratamiento falló en reducir la carga microbiana en el agua.
-0.1 a $+0.1$	Tratamiento no efectivo.
$+0.2$ a $+0.9$	Tratamiento marginalmente efectivo.
$+1.0$ a $+2.9$	Tratamiento efectivo sin embargo es probable que el bioensuciamiento se inicie otra vez.
$> +3.0$	Tratamiento muy efectivo con un $> 99.9\%$ control.

Tabla 3. Efectividad del tratamiento usando el sistema de plata/cobre en agua residual.

plata/cobre mgL ⁻¹ /mgL ⁻¹	Bacterias Relacionadas con Fierro				
	Bacterias Anaerobias (TL _D / Días)	Bacterias Entericas (TL _D / Días)	Bacterias Heterotróficas (TL _D / Días)	Bacterias Aerobias formadoras de lama IRB (TL _D / Días)	Pseudomonas y Entericas (TL _D / Días)
1.2/0.0	3	3	3	5	3
1.2/0.6	3	1	1	4	1
0.6/0.6	6	0	1	0	0
0.2/1.2	4	0	0	0	0
0.6/1.2	3	2	-1	2	2

Tabla 4. Efectividad del tratamiento usando el sistema de plata/cobre en agua residual.

plata/cobre mgL ⁻¹ /mgL ⁻¹	Bacterias Sulfato Reductoras		
	Bacterias Anaerobias (TL _D / Días)	Bacterias Aerobias formadoras de la- ma y consorcio de SRB (TL _D / Días)	Consorcio Bacteriano complejo presente con SRB (TL _D / Días)
1.2/0.0	-1	2	2
1.2/0.6	-2	0	1
0.6/0.6	-2	2	0
0.2/1.2	4	0	3
0.6/1.2	2	6	2

Intervalo de *TL_D Efectividad del Tratamiento

> -1.0 El tratamiento falló y la bacteria se volvió más agresiva en el agua

-0.1 a +0.1 Tratamiento no efectivo

+1.0 a +2.9 El tratamiento aplicado es efectivo, sin embargo es probable que el ensuciamiento biológico inicie otra vez

> +3.0 Tratamiento muy efectivo con > 99.9% de control

*TL_D = Diferencia de tiempo creada por el tratamiento expresada en días. Condiciones experimentales: Tiempo de contacto 48 h, 7.2 < pH < 7.8, temperatura 27 ± 5°C

Tabla 5. Evaluación del tratamiento del agua de enfriamiento de la Central Termoeléctrica de Valle de México.

Población Bacteriana	T _{LD} / días	Efectividad del tratamiento
Muestras colectadas para las pruebas IRB-BART y SRB-BART después de la adición de: 1196 mgL ⁻¹ Ag/ 0 mgL ⁻¹ Cu		
		1196 mgL ⁻¹ Ag/ 600 mgL ⁻¹ Cu
Bacteria anaeróbica (IRB)	2	3
Bacterias heterotróficas (IRB)	3	5
Bacterias aeróbicas formadoras de lama IRB	3	3
Bacterias anaeróbicas (SRB)	1	1
Consorcio bacteriano complejo presente con SRB	1	-

+1.0 a +2.9:
tratamiento efectivo pero es probable
que el ensuciamiento biológico
inicie otra vez
+3: Tratamiento muy efectivo con
un 99.9% de control

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

T_{LD} = Diferencia de tiempo creada por el tratamiento expresado en días.

Muestras colectadas a las 48 horas de contacto del ion metálico y agua.

Ciencias Químicas con especialidad en Química Analítica por la UNAM (1989) y doctora en Química con especialidad en Electroquímica por la Universidad de Southampton, Inglaterra (1997). Ingresó al IIE en 1984. Para su campo desarrolla infraestructura teórica-experimental para evaluar la factibilidad técnica de sustituir el cloro por otro biocida en el establecimiento del control microbiológico en agua de los sistemas de enfriamiento de Centrales Termoeléctricas. Actualmente es Investigador Nacional del SNI.

silva@iie.org.mx

Esteban Martínez Meza

Ingeniero Industrial Químico, egresado del Instituto Tecnológico de Durango (1985). Cursó su maestría en Ingeniería Ambiental en la UNAM, actualmente se encuentra en la etapa de redacción de su tesis:

"Estudio de una Alternativa Novedosa para la Sustitución del Uso del Cloro en Sistemas de Enfriamiento". Ha trabajado en la elaboración de reactivos químicos en la Industria de Reactivos Químicos de México, S.A. de C.V. y en el Grupo Roche-Syntex de México.

Alberto Álvarez Gallegos

Egresó de la Universidad Michoacana como ingeniero químico (1979). Cursó una especialidad en Química Analítica en la Universidad de Paris VI (1982). Doctor en Electroquímica por la Universidad de Southampton Inglaterra (1998). Desde su ingreso al IIE en 1985, su campo de trabajo está enfocado a la química del agua en procesos industriales y a la oxidación de contaminantes orgánicos en efluentes industriales. Actualmente es miembro del SNI.

aalvar2@iie.org.mx

TESIS CON
FALLA

Referencias

- Bard, A. J. and L. R. Faulkner. *Electrochemical Methods. Fundamentals and Applications*, John Wiley & Sons, New York, Chichester, Brisbane and Toronto, 1980, p.19.
- BART%o (<http://www.dbi.sk.ca/droycon/BARTs.html>).
- Chang, S.L. "Modern concept of disinfection", in Proc. Natl. Special Conf. Disinfection, American Society of Civil Engineers, New York, 635,1970.
- Domek M.J., Robbins J.E., Anderson M.E., and McFeters G.A., *Metabolism of Escherichia Coli Injured by Copper*, Canadian Journal of Microbiology 1987, 33, pp. 57-62.
- Gardiner, R.E. Hobbs, N. J. and Jeffery, J. *Hydrogen peroxide a real alternative to chlorine in water treatment*, Water chlorination, Jolly, R. L. Ed. Ann Arbor Science Pub., 1983.
- Hamilton G. J. *Water Chlorination Environmental Impact and Health Effects*, vol.2, Ann Arbor Science. Publishers INC., 1977.
- IDEXX, 2000. Quanti-Tray/2000. INDEXX Laboratories, INC. US Patent Numbers 4,925,789; 5,429,933; 5,518,892.
- Just, J., and A. Szaniolis. *Germicidal properties of silver in water*, J. Am. Water Works Assoc., 28, 492, 1936.
- Kutz S. M., Landeen L. K, Yahya M.T, Gerba Ch.P. *Microbiological evaluation of copper:silver disinfection units*, Proceedings of the Conference on Progress in Clinical Disinfection. State University of New York, Binghamton New York, 1988.
- Landeen L. K, Yahya M. T., Kutz S. M. *Microbiological evaluation of copper:silver disinfection of units for use in swimming pools*, Wat. Sci. Tech., vol. 21, no.3,1989, pp. 267-270.
- Landeen L.K., Yahya M.T. and Gerba Ch.P. *Efficacy of Copper and Silver Ions and Reduced Levels of Free Chlorine in Inactivation of Legionella Pneumophila*, Applied and Environmental Microbiology, 55, 1989, pp. 3045-3050.
- LeChevallier, M. W. *Coliform regrowth in drinking water: a review*, J. Amer. Wat. Works Assoc. 82, 11, 74, 1990.
- Lund, E. *The significance of oxidation in chemical inactivation of poliovirus*, Arch. Ges. Virusforsch., 12, 648 1963.
- Normas Oficiales Mexicanas para la Protección Ambiental. Norma Oficial NOM-001-ECOL-1996 y NOM-003-ECOL-1997.
- Park, G. A. *Adsorption in the marine environment*, in *Chemical Ocean*, vol. 1, Riley, J.P. and Skirrow, G., Eds., Academic Press, New York, 1976, p. 241.
- Peterwig, H.G. *Pharmacology and toxicology of heavy metals: silver*, Pharmacol. Ther., 1,127,1976.
- Richards R. M. E., *Antimicrobial action of silver nitrate*, Microbios 31, 1981, pp. 83-91.
- Sletten, O. *Halogens and their role in disinfection*, J. Am. Water Works Assoc. December, 1974, p. 690.
- Southampton Electrochemistry Group, *Instrumental Methods in Electrochemistry*, University of Southampton, Ellis Horwood Limited, Chichester, West Sussex, England, p. 18, 1993.
- Thurman R.B., and Gerba Ch. P. *The Molecular Mechanisms of Copper and Silver ion Disinfection of Bacteria and Viruses*, Critical Reviews in Environmental Control, 1989, vol. 18, issue 4, pp. 295-315.
- Tilton, R.C. and Rosenberg, B. *Reversal of the silver inhibition of microorganisms by agar*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 35, 1116, 1978.
- White C., *Handbook of Chlorination and alternative disinfectants*. Third Edition, 1992.
- Woodward, R. L. *Review of the bactericidal effectiveness of silver*, J. Am. Water Works Assoc., July, 881, 1963.
- Yahya M.T, Landeen L.K., Messina M.C., Kutz S. M., Schulze R. and Gerba Ch.P. *Disinfection of bacteria in water systems by using electrolytically generated copper:silver and reduced levels of free chlorine*, Canadian Journal of Microbiology, 36, 1990, pp. 109-116.

ANEXO A-2

TESIS CON
FALLA DE ORDEN

REVISTA INTERNACIONAL DE CONTAMINACIÓN AMBIENTAL

(International Journal of Environmental Pollution)

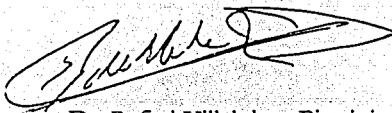
Mayo 3, 2002

Dra. Susana Silva Martínez
Instituto de Investigaciones Eléctricas
Av. Reforma No. 113
Col. Palmira
Temixco 62490 Morelos México

Después de una profunda revisión editorial su trabajo **TECNOLOGÍA ALTERNATIVA COMPATIBLE CON EL MEDIO AMBIENTE PARA TRATAMIENTO DE AGUAS DE ENFRIAMIENTO: IONIZACIÓN DE PLATA Y COBRE**, ha sido aceptado para su publicación en el número 2, del volumen 18 correspondiente a 2002 de la REVISTA INTERNACIONAL de CONTAMINACIÓN AMBIENTAL.

Favor de tomar en cuenta el comentario que sobre el manuscrito hace un revisor y envíe su trabajo por correo electrónico (rvp@atmosfera.unam.mx) o en disco en Word. Incluya también el título en inglés para el Contenido y el título resumido en español para las cornisas de las paginas impares.

Atentamente



Dr. Rafael Villalobos Pietrini
Editor

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

TECNOLOGÍA ALTERNATIVA COMPATIBLE CON EL AMBIENTE PARA TRATAMIENTO DE AGUAS DE ENFRIAMIENTO: IONIZACIÓN DE PLATA Y COBRE.

Susana SILVA MARTÍNEZ, Esteban MARTÍNEZ MEZA y Alberto ALVAREZ GALLEGOS

Instituto de Investigaciones Eléctricas, Av. Reforma No. 113, Col. Palmira, Temixco, Mor., México. C.P. 62490. ssilva@iie.org.mx.

Palabras clave: bacterias coliformes, bacterias relacionadas con hierro, bacterias sulfato reductoras, corrosión influenciada microbiológicamente, cloro.

RESUMEN

En este trabajo se propone una alternativa novedosa con gran potencial de uso para sustituir el cloro por otro biocida con menor impacto ambiental en los sistemas de enfriamiento para establecer un control microbiológico de las bacterias que comúnmente se encuentran en los sistemas de enfriamiento. El biocida propuesto es el uso de iones de plata y iones de cobre generados electroquímicamente. Adicionalmente, se estudio el efecto de cloro y su combinación con estos iones sobre la disminución de la agresividad y abatimiento de la población bacteriana presente en el agua estudiada. Se encontró que la relación de concentración de 1.2 mg L⁻¹ plata/0.6 mg L⁻¹ cobre y la concentración de 0.3 mg/L de cloro combinada con 0.2 mg/L de plata y 1.2 mg/L de cobre son buena alternativa para sustituir o disminuir en forma apreciable el consumo de cloro en los sistemas de enfriamiento empleando concentraciones, relativamente bajas, de plata y cobre ocasionando un mínimo impacto ambiental. Estas relaciones de concentración abatieron las bacterias relacionadas con hierro y las bacterias sulfato reductoras mostrando que el tratamiento fue muy efectivo con un 99% de control. El cloro por sí sólo, a concentraciones de 1 y 3 mg/L, logró abatir algunas de estas bacterias siendo más efectiva para las bacterias relacionadas con hierro. Estos sistemas fueron capaces de aniquilar las poblaciones bacterianas promotoras de la corrosión influenciada microbiológicamente y del ensuciamiento biológico a niveles de 1000 ufc/mL y menores compitiendo con los tratamientos de aguas de enfriamiento convencionales. Adicionalmente, las bacterias coliformes son reducidas por debajo de los niveles aceptados (1000 NMP/100 mL) por la Norma Oficial Mexicana.

INTRODUCCIÓN

Los microorganismos se desarrollan en forma natural en agua potable, aguas recreativas, fuentes de ornato, sistemas calientes, torres de enfriamiento, etc. Estos microorganismos pueden ser protozoarios, bacterias o

Key words: Coliform bacteria, iron related bacteria, sulfate reducing bacteria, slime forming bacteria, microbiologically influenced corrosion, chlorine, biofilm.

ABSTRACT

A novel alternative with great potential of use is proposed to replace chlorine by another biocide in the cooling systems. This alternative has a minimum environmental impact allowing the establishment of a microbiological control of the cooling systems by decreasing the bacteria population commonly present in cooling water. The proposed alternative to be used as biocide is the electrolytically generated silver and copper ions. The effect of chlorine and its combination with these ions on decreasing the aggressivity and discouraging bacterial population grow was also studied. The concentration relationships of 1.2 mg L⁻¹ silver/0.6 mg L⁻¹ copper and 0.3 mg L⁻¹ of chlorine combined with 0.2 mg L⁻¹ silver/1.2 mg L⁻¹ copper are good alternative to replace or decrease appreciably chlorine consumption in the cooling systems. In this way, a minimum environmental impact will be produced with relatively low concentrations of silver and copper ions. These concentration relationships showed that the iron related bacteria and sulfate reducing bacteria can be killed establishing a very effective treatment with 99% of control. Chlorine at concentrations of 1.0 mg L⁻¹ and 3.0 mg L⁻¹ killed some of these bacteria proving to be more effective for the iron related bacteria. These systems were able to lower the bacterial population that promote the microbiologically influenced corrosion and biofilm formation to levels of 1000 ufc/mL competing with the conventional cooling water treatments. Coliform bacteria were also reduced below the levels accepted (1000 NMP/100 mL) by the Mexican Official Norm.

virus y pueden además ser patógenos poniendo en riesgo la salud. Un tratamiento adecuado del agua para controlar la proliferación de microorganismos patógenos es indispensable. El agua puede ser tratada empleando la acción química mediante el uso de halógenos y sus derivados (Cl₂, Br₂, I₂, HOCl, OCl₂,

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

ClO₂, HOBr, HOI, resinas aniónicas de poliyodo, etc.), compuestos oxigenados y compuestos altamente oxidantes, iones metálicos (Ag⁺, Cu²⁺, etc.), ácidos y bases fuertes y enzimas, o empleando la acción física mediante radiación electromagnética, radiación de partículas y corriente eléctrica (Rajeshwar e Ibanez 1997). Los microorganismos pueden encontrarse en agua, aire, tierra y bajo condiciones ambientales extremas. Estos microorganismos juegan un papel muy importante en la rotación de elementos en la naturaleza y en el mantenimiento del balance ecológico. Cambios ecológicos adversos frecuentemente se reflejan en un incremento del número de ciertas especies en particular en un periodo dado (Lechevallier 1990). La contaminación microbiológica del agua es preocupante por la posible propagación de enfermedades y los problemas serios encontrados en procesos industriales debidos a la corrosión influenciada microbiológicamente y al ensuciamiento causado principalmente por la formación de biopelículas. La biopelícula es un medio adecuado para la supervivencia de bacterias. Las biopelículas se forman a partir de sustancias excretadas por microorganismos y tienen la propiedad de adherirse. Adicionalmente, las biopelículas ocasionan problemas de ensuciamiento biológico causando daños serios a superficies, tuberías, sistemas de conducción de agua, etc. Así mismo, las biopelículas protegen a los microorganismos patógenos de la acción del desinfectante. Gracias al metabolismo de estos microorganismos se desarrollan condiciones ácidas las cuales promueven la disolución del material de las superficies. Los sistemas de enfriamiento promueven condiciones ambientales ideales que favorecen el crecimiento de microorganismos y proveen un balance adecuado de nutrientes para su reproducción. Adicionalmente a los nutrientes, la recirculación del agua y las diferentes zonas de pH y temperatura son importantes para su supervivencia y el desarrollo de sus múltiples actividades en detrimento del sistema y del funcionamiento del mismo. La mayoría de estos microorganismos entran a los sistemas de enfriamiento a través del aire, agua y polvo. El ensuciamiento biológico, la corrosión y la formación de precipitados en los sistemas de enfriamiento son los problemas más comunes que dañan al equipo del sistema, ocasionan pérdida de producción, aumentan los costos de mantenimiento, reducen la eficiencia en la transferencia de calor y aumentan el consumo de energía. El tratamiento microbiológico de los sistemas de enfriamiento se lleva a cabo generalmente mediante el uso de cloro. Sin embargo, se ha observado que el cloro origina problemas de seguridad inherentes a su manejo y almacenamiento. Una de las desventajas del

uso del cloro es la formación de compuestos organoclorados en el agua los cuales pueden tener efectos muy nocivos para el ambiente y los componentes del proceso (White 1992). Otra desventaja del uso de cloro es que éste tiende a reaccionar con amoníaco o nitrógeno, cuando éstos se encuentran presentes en el agua, formando así cloraminas las cuales son consideradas dañinas tanto para el ambiente como para los seres vivos. La alternativa que se propone aquí para establecer un control microbiológico en el agua de sistemas de enfriamiento es la ionización. La ionización consiste en la generación electroquímica de iones de cobre y plata en el agua contaminada con materia orgánica. Las propiedades biocidas de los iones de cobre y plata han sido empleadas para tratar agua de albercas, estanques y hospitales principalmente. Los iones de cobre tienen la capacidad de aniquilar las algas; mientras que, los iones de plata tienen la capacidad de exterminar una amplia gama de bacterias y virus (Richards 1981, Kutz *et al.* 1988, Landeen *et al.* 1989a, Yahya *et al.* 1990). Varios investigadores (Domek *et al.* 1987, Thurman y Gerba 1989) han reportado que uno de los principales procesos biocidas de estos iones es la penetración de la célula de los microorganismos. Durante este proceso los iones de cobre, cargados positivamente, forman enlaces electrostáticos con sitios, cargados negativamente, de la pared celular resultando en un debilitamiento de la membrana celular. Esta situación facilita que los iones de plata penetren a través de sitios específicos de la célula. Los iones de plata forman enlaces con la proteína celular y con las enzimas respiratorias; desactivando de esta forma la estructura de la célula.

Un estudio (Park 1976, Murray 1978) reportó que los microorganismos desarrollan superficies cargadas debido a la ionización de grupos prototrópicos tales como: grupos carboxilos, amino, guanidilos y grupos imidazol. Estos grupos ionizados pueden ser responsables de las cargas negativas de los microorganismos a valores de pH cercanos a la neutralidad. Cationes, tales como cobre y plata, son atraídos electrostáticamente por la carga negativa de los microorganismos pudiéndose llevar a cabo reacciones de superficie. Es sabido que especies neutras cruzan la membrana celular mejor que las especies ionizadas. Una vez que las especies neutras se encuentran dentro de la célula, la ionización puede ocurrir debido a cambios en el pH que permiten a los iones metálicos actuar en sitios de RNA, DNA o enzimas. Este mecanismo de penetración de la barrera de la carga ha sido sugerido para explicar la eficiencia de desinfección de HOCl en comparación con el ion OCl⁻¹ (Sletten 1974). Una gran variedad de factores influyen en la eficiencia de desinfección,

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

tales como: el tiempo de contacto, naturaleza química y concentración del ion metálico (agente desinfectante), la manera inicial de mezclado, punto de inyección, temperatura, tipo, concentración y edad de los microorganismos así como la naturaleza del líquido que los contiene.

Las sales de plata tienen efectos bactericidas. Se ha reportado que la capacidad bactericida de los iones plata se debe a la concentración del ion plata sin importar su naturaleza física (Just y Szniolis 1936). Woodward (1963) observó que los iones plata se adsorben a la superficie proporcionando un efecto germicida continuo aún después de interrumpir la adición de iones plata a la solución acuosa. Otro investigador (Thurman y Gerba 1989) reportó que adicionó 100 µg/L de plata al agua y la almacenó durante 3 años en recipientes de polipropileno sin que la calidad del agua disminuyera. Durante el tiempo de almacenamiento, casi toda la plata se había adsorbido en las superficies del recipiente y aún así previno el crecimiento de bacterias. Los iones cobre han sido empleados principalmente como algicidas y se ha reportado que el cobre es uno de los metales más tóxicos para bacterias heterotróficas en medios acuáticos.

Se han propuesto tres posibles mecanismos para la inhibición de microorganismos por la plata (Tilton y Rosenber 1978): interferencia en el transporte de electrones, unión con el DNA e interacción con la membrana celular. La formación de complejos con grupos sulfhidrilos puede inactivar las enzimas de la superficie de la célula e interferir con la respiración de la membrana celular. La capacidad de desinfección de la plata se debe a la facilidad que tiene para formar compuestos insolubles con aniones, grupos sulfhidrilos y materiales biológicos tales como enzimas. Chang (1970) reportó que la plata requiere de un prolongado tiempo de contacto para desinfectar y que no penetra la célula. La manera en que la plata actúa en el proceso de desinfección es formando complejos sulfhidrilos reversibles sobre la superficie de la célula, previniendo el proceso de deshidrogenación. Así mismo observó que niveles de 50 µg/L de plata son muy bajos para observar cualquier efecto desinfectante. La desnaturalización de las proteínas es más difícil que la oxidación de grupos sulfhidrilos lo cual permite explicar el porqué se requiere un mayor contenido de plata residual para aniquilar virus con relación a las bacterias. El cobre puede atacar enzimas respiratorias de la bacteria *E. Coli*; sugerencia basada en la observación de la disminución del uso de oxígeno y aumento en los pasos de la fermentación durante el periodo de recuperación de *E. Coli* cuando ésta ha sido dañada (Thurman y Gerba 1989). También se cree que el cobre facilita la hidrólisis o desplazamiento de

reacciones nucleofílicas en cadenas de péptidos o ácidos nucleicos. Asimismo, el cobre puede ser capaz de quelatarse con grupos fosfato resultando en un posible rompimiento de dobles enlaces (Zimmer *et al.* 1971). Aún y cuando existen numerosos estudios que documentan cambios de metabolismo e inactividad de microorganismos debido al daño ocasionado por iones metálicos o halógenos, no existe un documento definitivo que ligue los cambios causados por los iones metálicos o halógenos a nivel molecular (Thurman y Gerba 1989).

Las propiedades biocidas de los iones de plata y cobre, en medios acuosos (albercas, fuentes decorativas, agua potable y desechos acuosos de hospitales) contaminados por microorganismos, han sido observadas y documentadas por numerosos investigadores en la materia (Richards 1981, Domek *et al.* 1987, Kutz *et al.* 1988, Landeen *et al.* 1989b, Thurman y Gerba 1989, Yahya, *et al.* 1990). Con base en esto, los mencionados iones metálicos han sido seleccionados en el presente estudio para observar la capacidad de los mismos en establecer un control microbiológico en aguas de enfriamiento. El control microbiológico se enfoca hacia el abatimiento de la población bacteriana comúnmente encontrada en los sistemas de enfriamiento. Las bacterias bajo estudio son: bacterias sulfato reductoras, bacterias relacionadas con hierro, bacterias formadoras de lama y bacterias coliformes (totales y fecales).

El Objetivo de este estudio es determinar la factibilidad técnica de sustituir el cloro por otro biocida (iones plata y/o cobre) no peligroso en aguas de enfriamiento. El biocida bajo estudio podría ser empleado para tratar el agua de procesos industriales en general. El agua tratada de esta forma podría ser empleada para riego e incluso podría recircularse en el sistema de enfriamiento si ésta se trata previamente para disminuir el potencial incrustante.

MATERIALES Y MÉTODOS

Metodología experimental.

En este trabajo se utilizaron dos tipos de agua con características físicas, químicas y biológicas similares. La primera de ellas se obtuvo directamente del sistema de enfriamiento de la Central Termoeléctrica de Valle de México (agua de repuesto) y la segunda se tomó de la planta de tratamiento del Instituto de Investigaciones Eléctricas (agua residual). Las muestras se tomaron antes del punto de cloración y el análisis químico y bacteriológico promedio de cada una de ellas se muestra en la tabla I. La experimentación se llevó a cabo en un sistema hidráulico continuo y parcialmente cerrado, con capacidad de 20 litros de agua, donde se simuló la operación de un sistema de enfriamiento real (Fig. 1). El sistema hidráulico se

acondicionó durante 24 horas antes de iniciar la prueba microbiológica bajo estudio. El acondicionamiento consistió en recircular, antes de cada experimento, 11 litros de una solución de ácido nítrico al 12% para lavar el sistema hidráulico y para adsorber los iones metálicos que pudieran adsorberse durante las pruebas microbiológicas. Posteriormente el sistema hidráulico trabajó unas horas con agua destilada y finalmente éste se acondicionó con una solución del sistema biocida (plata, plata/cobre, cloro, etc.) bajo estudio, a la concentración de interés. Este acondicionamiento es importante sobre todo para los iones de plata y cobre debido a que se minimiza su adsorción en los componentes del sistema durante la experimentación. En la experimentación se controlaron principalmente el pH ($7 < \text{pH} < 8$), mediante la adición de ácido sulfúrico, la temperatura se mantuvo constante ($25 \pm 5^\circ\text{C}$), el flujo (1.8 gpm). El pH, la temperatura, el flujo y la conductividad se midieron en forma continua. El electrodo de pH y el conductímetro se calibraron cada 12 horas. Para la experimentación, las soluciones de biocidas (iones o cloro) se prepararon con agua destilada y las muestras de agua (residual o de repuesto) problema fueron siempre de 11 litros, este volumen no se mantuvo constante durante la experimentación (que duró 72 horas aproximadamente) debido a la evaporación natural y al muestreo que se efectuó a diferentes intervalos de tiempo para analizar las bacterias presentes en el agua.

Biocida empleado.

Los sistemas de plata, plata/cobre, cloro y plata/cobre/cloro fueron empleados como biocidas en las pruebas microbiológicas. La concentración de estos biocidas se estableció con base en los valores reportados en la tabla II (Just y Szniolis 1936) y en estudios previos (Silva y Alvarez 2001a, 2001b y 2001c, Martínez 2002).

Electrogeneración de plata y cobre.

La electrogeneración de iones de plata y cobre se llevó a cabo potenciales estáticamente (equipo AUTOLAB/PSTAT 30 marca BRINKMAN) aplicando un voltaje de 7 a 10 voltios en un arreglo experimental de dos electrodos a temperatura ambiente. El electrodo de trabajo fue de plata (para electrogenerar iones plata) o cobre (para electrogenerar iones cobre). El contraelectrodo fue del mismo material del electrodo de trabajo. La ionización se llevó a cabo en agua destilada y con frecuencia se empleó una solución de plata o cobre previamente electrogenerada. La concentración de los iones de plata y cobre se analizó espectrofotométricamente al término de la ionización. Los electrodos de plata y cobre se fabricaron empleando láminas de plata (99% de pureza) y

láminas de cobre (100% de pureza) de 1mm de espesor. Las láminas metálicas se adquirieron en un taller de Taxco, Gro. El área de los electrodos fue de 20 a 30 cm^2 aproximadamente. Los electrodos se pulieron con lija de agua fina (No. 500), se secaron con papel absorbente y se conectaron a la celda para ser empleados. La eficiencia de electrogeneración de los iones metálicos de plata y cobre depende de la calidad (concentración y composición química) del agua empleada y del grado de pureza de la superficie metálica del ion por electrogenerar. En este estudio se realizaron pruebas de electrogeneración de iones plata empleando agua de la llave, agua destilada con electrólito de fondo (NaNO_3 y Na_2SO_4) y agua destilada. El agua destilada fue el agua que mejor calidad y producción de plata originó debido a que los otros tipos de agua probados formaban precipitados con el ion plata (AgCl , AgSO_4 , etc.) disminuyendo así la cantidad de plata libre en el agua para ser empleada en el abatimiento de la carga bacteriana en las pruebas microbiológicas. Se procedió de la misma manera para electrogenerar los iones de cobre empleando agua destilada con el fin de eliminar posibles problemas de formación de precipitados del cobre con los aniones presentes en agua no destilada. La cantidad de iones electrogenerados (concentración) puede ser conocida teóricamente mediante una relación matemática muy simple (Bard and Faulkner 1980, Southampton Electrochemistry Group 1993). Sin embargo, por las razones antes expuestas, se consideró importante partir de concentraciones conocidas experimentalmente. Just y Szniolis (1936) reportaron que la composición mineral del agua influye enormemente en el consumo de la corriente eléctrica durante la generación de los iones resultando en una eficiencia de generación de iones plata en aproximadamente del 50%. Es importante mencionar que los iones cobre son interferentes para determinar la concentración de plata. Con base en esta observación, en las pruebas microbiológicas llevadas a cabo con el sistema plata/cobre, se procedió a generar los iones metálicos por separado (en vez de usar una aleación de cobre-plata), determinar su concentración experimentalmente y preparar la mezcla plata/cobre a la concentración deseada para la prueba.

Análisis químicos.

Se empleó una solución comercial de hipoclorito de sodio con un contenido de cloro libre al 6%. Se analizó el cloro libre y el cloro total mediante el método DPD (HACH Company, 1997) usando un espectrofotómetro DR 2010 marca HACH. El contenido de sodio, potasio, calcio, nitratos y fosfatos del agua residual se determinó con electrodos selectivos (marca HACH). El contenido de cloruros,

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

dureza total y alcalinidad se determinó por volumetría. La concentración de plata y cobre se determinó (HACH Company, 1997) inmediatamente después de haber electrogenerado a los iones de plata y cobre con un espectrofotómetro DR 2010 (marca HACH).

Análisis bacteriológicos.

Bacterias Coliformes. Las bacterias coliformes se cuantificaron empleando un estuche de Pruebas Colilert (IDEXX, 2000). El estuche de pruebas colilert permite la detección y confirmación simultánea de coliformes totales y E. Coli (coliformes fecales) en agua. Las pruebas Colilert consisten en la determinación del Número Más Probable de coliformes por 100 mL (NMP / 100 mL). El reactivo colilert se adiciona a 100 mL de muestra de agua contenida en un recipiente esterilizado (frasco lechero). Una vez disuelto el reactivo, se agrega la mezcla de reactivo y muestra a un dispositivo Quanti-Tray/2000, sellando el dispositivo en el sellador (Quanti-Tray Sealer) y se incuba por 24 horas a 35 °C. Posteriormente se cuenta el número de celdas positivas y con la tabla de NMP, adjunta con el estuche de pruebas, se determina el Número Más Probable de bacterias coliformes. Las bacterias coliformes totales desarrollan celdas amarillas y las bacterias coliformes fecales desarrollan celdas que fluorescen con luz ultravioleta.

Bacterias relacionadas con hierro (IRB), bacterias sulfato reductoras (SRB) y bacterias formadoras de lama (SLYM). Las bacterias IRB, SRB y SLYM se determinaron empleando las pruebas de reacción de la actividad biológica BART-Test (BART™ 2000). Estas pruebas detectan la actividad (agresividad) de las bacterias presentes en el agua con base en el tiempo, T_L , que tarda en aparecer la primera reacción desde el inicio de la prueba. Entre mayor sea el T_L antes de observar la primera reacción menos agresivas son las bacterias en la muestra en particular. Una población mayor de 1000 unidades formadoras de colonias por mililitro (ufc/mL) se considera como altamente agresiva reflejando su agresividad en la formación de la biopelícula en los intercambiadores de calor, y en general en los componentes del sistema de enfriamiento, y como consecuencia el posible desarrollo de corrosión microbiológica. Una agresividad media está relacionada con una población de 1000 a 100 ufc/mL mientras que una agresividad baja se presenta en poblaciones de 10 ufc/mL o menor. Las reacciones se relacionan con la manera en la cual los microbios interactúan dentro del ambiente de las pruebas BART. Estas reacciones pueden ser cambios de color, desarrollo de gas y precipitación. La naturaleza única de las pruebas BART, que la hace diferente y posiblemente superior a las técnicas de cultivo en

agar, es que el agua usada en la prueba proviene completamente de la muestra y aún contiene los microbios en su hábitat natural. Mientras que los métodos de cultivo de agar, proveen superficies de agar a los microbios para que éstos crezcan creando así un ambiente no apto para muchos microbios y de esta manera los posibles resultados son: no creció, no aparece, no se puede contar, etc. Las pruebas BART contienen nutrientes selectivos para que grupos específicos de microbios se desarrollen y exhiban su actividad biológica mediante las reacciones descritas anteriormente y consisten en la adición, aséptica, de 15 mL de la muestra de agua sin diluir a la prueba BART. Observar la prueba diariamente durante 8 días registrando los códigos de reacción correspondientes a las reacciones desarrolladas para cada tipo de prueba (IRB, SRB y SLYM).

La frecuencia de muestreo en cada experimento se llevó a cabo cada 0, 24, 48 y 72 horas para llevar a cabo las pruebas BART. El muestreo correspondiente a las 0 horas se refiere a la muestra de referencia o muestra testigo.

Efectividad del tratamiento.

La efectividad del tratamiento con los iones metálicos se evaluó empleando el tiempo que tarda en aparecer la primera reacción. Este tiempo es representado por T_{LD} . El T_{LD} , medido comúnmente en días de retardo, indica la agresividad del consorcio bacteriano que se está estudiando. Los tiempos de retardo para diferentes grados de agresividad son diferentes para cada prueba BART y cada consorcio bacteriano. Como resultado de esto, la diferencia en el tiempo de retardo antes y después del tratamiento puede ser usado para determinar la efectividad del tratamiento. Lo anterior se expresa por la ecuación

$$T_{LD} = T_{LAT} - T_{LBT}$$

Donde T_{LD} es la diferencia de tiempo creada por el tratamiento expresado en días. Esto reflejaría el desplazamiento del logaritmo de la población como resultado del tratamiento, T_{LAT} representa los días que tarda en aparecer la primera reacción después del tratamiento y T_{LBT} representa los días que tarda en aparecer la primera reacción antes del tratamiento. Un valor negativo de T_{LD} significa no solo que el tratamiento ha sido inefectivo sino que también ha habido una liberación de bacterias (de la biopelícula hacia el agua) que confiere mayor agresividad a las bacterias. Si el T_{LD} se encuentra en el intervalo de -0.1 a + 0.1 entonces el tratamiento podría ser considerado que no tuvo un significativo impacto sobre el consorcio bacteriano que se está estudiando empleando las pruebas BART. Un impacto significativo en el tratamiento resultaría en un valor de T_{LD} mayor de 0.9. La efectividad del tratamiento

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

se obtuvo mediante el cálculo de T_{LD} y con base en la tabla III.

RESULTADOS

Se tomaron 11 litros de agua problema (residual o de repuesto) para estudiar diferentes sistemas biocidas para establecer un control microbiológico con plata, plata/cobre, plata/cobre/cloro y cloro en los intervalos de concentración de 0.2 mg/L a 1.2 mg/L de plata, de 0.6 mg/L a 1.2 mg/L de cobre y 0.3 mg/L a 3.0 mg/L cloro. El pH se mantuvo en el intervalo de $7 < \text{pH} < 8$ mediante la adición de ácido sulfúrico y se conservó un delta de temperatura de 10°C ($27^\circ\text{C} \pm 5^\circ\text{C}$).

Abatimiento de Bacterias Coliformes Totales y Fecales.

El abatimiento de las bacterias coliformes totales y fecales se estudió, en experimentos separados, con seis muestras de 11 litros de agua cada una (residual o de repuesto), en el sistema hidráulico mostrado en la figura 1, empleando los siguientes sistemas biocidas *a*: 0.6 mg L⁻¹ plata/0.6 mg L⁻¹ cobre, *b*: 0.6 mg L⁻¹ plata/1.2 mg L⁻¹ cobre, *c*: 1.2 mg L⁻¹ plata/0.6 mg L⁻¹, *d*: 0.2 mg L⁻¹ plata/1.2 mg L⁻¹ cobre/1.0 mg L⁻¹ cloro y *e*: 1.0 mg L⁻¹ cloro. Durante los experimentos se mantuvieron constantes el pH ($7 < \text{pH} < 8$), la temperatura ($27^\circ\text{C} \pm 5^\circ\text{C}$) y el flujo de agua (1.8 gpm) y se midió la conductividad y la temperatura en forma continua. En intervalos regulares de tiempo se tomó una muestra representativa del sistema hidráulico y se analizó el número más probable de bacterias fecales y totales. En los primeros dos experimentos con agua residual se evaluaron los sistemas biocidas *a* y *b*. La figura 2 muestra dos gráficas del Número Más Probable de coliformes totales y fecales presentes en el agua residual en función del tiempo. La línea punteada indica el máximo valor permisible del número más probable de bacterias en las descargas, establecido por la Norma Oficial Mexicana (NOM-001-ECOL-1996/NOM-003-ECOL-1997). Los sistemas biocidas *b* y *c* se probaron en dos experimentos por separado, bajo condiciones experimentales similares a los anteriores, usando agua de repuesto. La figura 3 muestra dos gráficas del Número Más Probable de coliformes totales y fecales presentes en el agua de repuesto en función del tiempo. De una forma similar a la antes descrita, se probaron los sistemas biocidas *d* y *e* con muestras de agua residual. La figura 4 muestra el Número Más Probable de coliformes totales y fecales presentes en el agua residual en función del tiempo. Los sistemas biocidas estudiados, en el abatimiento de las bacterias coliformes totales y fecales, contemplan el efecto de la variación del pH (controlado con adición de ácido sulfúrico), el delta de temperatura de 10°C aproximadamente, el flujo de agua, la concentración de sales debido a la

evaporación y el impacto de la atmósfera sobre el comportamiento de los agentes biocida con respecto al abatimiento de las bacterias presentes en dos tipos de agua (residual y de repuesto). Estos sistemas biocidas lograron abatir las bacterias coliformes totales y fecales en un 99% en las primeras dos horas de contacto. Sin embargo, todos muestran diferentes velocidades de recrecimiento de bacterias a partir de las primeras 10 horas de contacto. Los mejores resultados se obtienen con los sistemas biocidas *c* y *d* (Figs. 3 y 4) que logran mantener el NMP/100 mL de bacterias Coliformes Totales y Fecales por debajo de 100, durante al menos 80 horas de contacto. De acuerdo a los resultados experimentales, el sistema biocida *e* abate de una forma eficiente, las bacterias Fecales únicamente, mientras que las Coliformes Totales muestran un recrecimiento incontrolado (> 1000 NMP/100 mL) a partir de las primeras 20 horas de contacto (Fig. 4).

Abatimiento de IRB y SRB.

Todos los experimentos se llevaron a cabo como se describió anteriormente. Para el agua residual se probaron los siguientes sistemas biocidas, compuestos únicamente por relaciones plata/cobre en mg L⁻¹, con un tiempo máximo de contacto de 48 horas: *a*: 1.2/0, *b*: 1.2/0.6, *c*: 0.6/0.6, *d*: 0.2/1.2 y *e*: 0.6/1.2. En la figura 5 se muestran los principales resultados obtenidos por estos sistemas en el abatimiento de las bacterias relacionadas con hierro (IRB) y las sulfato reductoras (SRB) para el agua residual. Los resultados del sistema biocida *a* (Fig. 5) muestran que esta relación de concentraciones es más eficiente para inactivar a las bacterias relacionadas con hierro con un aniquilamiento del 99% y mayor. Las bacterias heterotróficas se abatieron en un 90% en el resto de las relaciones plata/cobre estudiadas. La relación *e* logró inactivar a las IRB con un aniquilamiento igual o mayor al 99% exceptuando a las bacterias heterotróficas. Esta misma relación resultó ser muy efectiva en la inactivación total de las bacterias sulfato reductoras con un aniquilamiento del 100% de SRB. Para el agua de repuesto se estudiaron los siguientes sistemas biocidas plata/cobre: *a*: 1.2/0.6 y *b*: 0.6/1.2. Estos sistemas logran abatir en más del 99% a la mayoría de las bacterias IRB y SRB exceptuando por las bacterias heterotróficas y las del consorcio bacteriano complejo presente con SRB (Fig. 6). La relación 1.2 mg L⁻¹ plata/0.6 mg L⁻¹ cobre disminuye apreciablemente la agresividad de las bacterias SRB e IRB excepto por las bacterias heterotróficas las cuales las abate a un 90%. Esta relación es la que mejor resultados ofrece. El efecto de cloro y sus combinaciones con los iones metálicos sobre las bacterias IRB y SRB para el agua residual se presenta en la figura 7. Las relaciones estudiadas

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

plata/cobre/cloro (0.2/1.2/0, 0.2/1.2/0.3, 0.2/1.2/1.0, 0/0/1.0 y 0/0/3) en mg/L mantienen a las bacterias relacionadas con hierro en valores de 1000 ufc/mL o menores excepto por las bacterias heterotróficas que se mantienen en su valor inicial. Sin embargo, estas relaciones no muestran un apreciable efecto sobre el consorcio bacteriano complejo presente con SRB y las bacterias aerobias formadoras de lama y consorcio de SRB excepto por las bacterias anaerobias las cuales fueron aniquiladas en su totalidad.

Abatimiento de Bacterias Formadoras de Lama (Slym).

Siguiendo el mismo protocolo experimental se realizaron dos experimentos con los siguientes sistemas biocidas (1.2 mg L⁻¹ plata/0.6 mg L⁻¹ cobre y 0.6 mg L⁻¹ plata/1.2 mg L⁻¹ cobre) para probar su eficiencia en el abatimiento de las bacterias formadoras de lama (SLYM) presentes en el agua de repuesto. Los principales resultados se muestran en la figura 8. Ambas relaciones de concentración plata/cobre fueron capaces de disminuir apreciablemente la agresividad de las bacterias aerobias formadoras de lama, *Pseudomona aeruginosa* y a los aerobios facultativos abatiéndolas en más de un 99.9%.

Es importante mencionar que no se observó un apreciable impacto de la concentración de las sales debido a la evaporación, control del pH y el delta de temperatura estudiado sobre el aniquilamiento de las poblaciones bacterianas empleando los iones plata y cobre.

Los resultados de la efectividad del tratamiento con los iones metálicos se reportan en las figuras 9 y 10 para las bacterias IRB y SRB. Estos resultados se obtuvieron después de haber estado en contacto las relaciones de plata/cobre/cloro durante 48 horas con las bacterias presentes en el agua de repuesto al sistema de enfriamiento de la CTEVM y agua residual de la planta de tratamiento del IIE respectivamente. El tratamiento con la relación de concentraciones de 1.2 mg L⁻¹ plata/0.6 mg L⁻¹ cobre (Fig. 9) resultó ser muy efectivo con un 99 % de control para las bacterias SRB e IRB excepto para las bacterias heterotróficas cuyo tratamiento resultó ser efectivo. Las relaciones de 0.2 mg L⁻¹ plata/1.2 mg L⁻¹ cobre/0.3 mg L⁻¹ cloro (Fig. 10) muestran que el tratamiento es muy efectivo para las bacterias anaerobias, bacterias entéricas y las *Pseudomonas* y entéricas, y efectivo para las bacterias heterotróficas. El tratamiento en la relación plata/cobre/cloro (0.2 mg L⁻¹/1.2 mg L⁻¹ /1.0 mg L⁻¹) resultó ser muy efectivo para las *Pseudomonas* y entéricas, bacterias anaerobias, bacterias entéricas y bacterias aerobias. La concentración de 3 mg L⁻¹ cloro (0 mg L⁻¹ plata/ 0 mg L⁻¹ cobre /3 mg L⁻¹ cloro) mostró ser muy efectiva para las bacterias entéricas y efectiva para las

bacterias *Pseudomonas* y entéricas y las bacterias aerobias. Sin embargo las bacterias heterotróficas y las bacterias aerobias, para el resto de las relaciones plata/cobre/cloro se encuentran clasificadas como que el tratamiento fue marginalmente efectivo observándose lo mismo para el caso de la relación 0.2 plata mg L⁻¹ /1.2 cobre mg L⁻¹ /0 cloro mg L⁻¹, excepto por las bacterias anaerobias que mostraron un tratamiento muy efectivo con un 99 % de control. Respecto a las SRB, el tratamiento resultó ser muy efectivo para la relación 0.2 plata mg L⁻¹ /1.2 cobre mg L⁻¹ /0.3 cloro mg L⁻¹, siendo ésta la mejor relación de concentraciones investigada para esas bacterias.

Evaluación de Costos

En esta sección se presenta una comparación del costo anual de cloro con respecto al costo del uso de los iones plata/cobre y su combinación con cloro para controlar a los microorganismos. El cálculo de la cantidad de metal de la plata y cobre está basado en el consumo anual de agua de enfriamiento (6 135,564 m³), para una unidad de un sistema de enfriamiento de una Central particular y en las relaciones consideradas como óptimas en el tratamiento para el agua residual y de repuesto tratada con los biocidas empleados en este estudio: 1.2 mg L⁻¹ plata/0.6 mg L⁻¹ cobre y 0.2 mg L⁻¹ plata/1.2 mg L⁻¹ cobre/0.3 mg L⁻¹ cloro. El costo de los metales plata y cobre se considero con base en la cotización internacional del mercado de los metales. La onza troy de plata (31.10 g) fue cotizada a 4.57 dólares el 25 de Septiembre. El gramo de cobre se cotizó a 0.75 dólares en la misma fecha.

La tabla IV muestra la comparación de costos entre el uso de cloro y el uso de las relaciones de concentración óptimas de plata/cobre/cloro en agua de enfriamiento de la CTEVM. El costo de la relación de plata/cobre y plata/cobre/cloro es de 12.3 y 6.8 veces mayor al costo por concepto del uso de cloro y microbicida. Actualmente el cloro (y también el bromo) es el biocida oxidante más usado para controlar el crecimiento de los microorganismos. Obviamente la ventaja del cloro es su bajo costo y fácil manejo. Sin embargo tiene importantes limitaciones y algunas de ellas se han vuelto más severas en la última década:

1. Oxidación de aleaciones de cobre, las más usadas en intercambiadores de calor en los sistemas de enfriamiento.
2. Efluentes industriales con altos contenidos de cobre y cloro.
3. Es tóxico, no solamente contra los organismos que se desea abatir sino contra otros que no fueron contemplados en el programa del tratamiento.

TESIS CON
FALLA DE OPERAR

4. En algunos casos una técnica de cloración en el efluente es necesaria.
5. La eficiencia de la cloración depende del pH y la temperatura.
6. Impacto ambiental alto.

Estas limitaciones han justificado la búsqueda de mejores alternativas para el control de los microorganismos en aguas de enfriamiento. En este contexto, otros enfoques han sido investigados, por ejemplo la aplicación de biocidas bioestáticos (McCall *et al.* 1999). Sin embargo, los pocos programas de dosificación de biocidas bioestáticos que controlan efectivamente el crecimiento de microorganismos son entre dos y diez veces más caros que el cloro. Además, el uso de estos biocidas bioestáticos enfrenta el mismo problema que el cloro: alto impacto ambiental (Lutey 2000).

La investigación y el desarrollo de nuevos enfoques tecnológicos, que permitan reemplazar al cloro como biocida en los sistemas de enfriamiento, están todavía abiertos y la frontera tecnológica apunta a varias direcciones que actualmente están siendo estudiadas para los sistemas de enfriamiento: dosificación de biocidas bioestáticos en forma de tabletas (Colclasure 2001), aplicación de luz ultravioleta (Gump 2001), aplicación de impulsos eléctricos (Opheim 2001), variaciones dramáticas en la presión (Kelsey *et al.* 2001), limpieza mecánica en línea (Jones *et al.* 2000), dosificación de biocidas oxidantes al vacío (Court *et al.* 2000). Todos estos enfoques tecnológicos tienen aún importantes interrogantes sin contestación y son, por ahora, más costosos que el cloro.

La evaluación económica de los sistemas biocidas plata/cobre y plata/cobre/cloro presentada en la tabla IV es solamente una aproximación y debería tomarse con cautela. Efectivamente, una evaluación económica debería de calcularse una vez que se hayan realizado un conjunto de pruebas, con el biocida aquí propuesto, en una planta termoeléctrica. De esta forma se incluirían fenómenos que no pueden reproducirse en el laboratorio, por ejemplo: 1. la adsorción (o absorción) de los iones en el material del sistema de enfriamiento; 2. el tiempo de contacto efectivo entre el biocida y la carga bacteriana; 3. el tiempo de residencia promedio para los iones plata y cobre en el sistema de enfriamiento y sus concentraciones en el efluente; 4. el impacto ambiental y el riesgo del personal en el manejo de cloro. En general, las nuevas tecnologías son, al principio, más caras que la tecnología que se pretende sustituir y conforme aumenta el número de usuarios de una tecnología cara el precio también disminuye. Por otro lado, muchas de las preguntas que actualmente están abiertas en este enfoque propuesto, podrían inclinar la balanza en una u otra dirección al

ser respondidas con evidencias experimentales. Por ejemplo, está documentado (Woodward 1963, Thurman *et al.* 1989) que los iones plata se adsorben a las superficies del recipiente que los contiene, proporcionando un efecto germicida continuo, aún después de interrumpir la adición de iones plata al sistema acuoso. Si este comportamiento se observa en un sistema de enfriamiento real, los costos seguramente bajarán. Algo similar pasaría si se logra abatir el riesgo en el manejo del cloro y su impacto ambiental.

DISCUSIÓN

La población bacteriana en los sistemas de enfriamiento abiertos con recirculación puede exceder a un millón de ufc/mL. Los niveles de la población bacteriana que se deberían de alcanzar con los tratamientos convencionales se encuentran en el orden de miles de ufc/mL. Cuando la población bacteriana alcanza o excede a 500,000 ufc/mL existe el riesgo de un crecimiento de legionela. Altos niveles de bacterias pueden también aumentar el riesgo del desarrollo de corrosión influenciada microbiológicamente y favorecer la formación de la biopelícula sobre las superficies húmedas. Se ha observado que la biopelícula puede proteger a las capas internas de la misma de la acción del biocida aplicado. Bajo estas circunstancias, el nivel de oxígeno de las capas interiores es deficiente promoviendo el crecimiento de bacterias anaerobias incluyendo a las bacterias sulfato reductoras y las bacterias que metabolizan el hierro (IRB). Las bacterias sulfato reductoras producen ácido al reducir los sulfatos, las bacterias relacionadas con hierro pueden literalmente consumir el hierro del sistema para cubrir la demanda de las necesidades de su metabolismo y de esta forma estos dos tipos de bacterias pueden ocasionar grandes estragos de corrosión sobre el sistema. Las bacterias tienen la capacidad de desarrollar resistencia a la acción destructora de los biocidas por medio de la producción de enzimas, cambios en la estructura interna de la célula, cambios en la permeabilidad del citoplasma de la membrana y cambios en la composición de la pared celular así como mutaciones y transferencia genética. Con base en las características de "aprendizaje" de las bacterias es recomendable la rotación de biocidas.

La acción biocida de la plata y sus relaciones con cobre principalmente mostraron un apreciable impacto sobre las bacterias coliformes, las bacterias relacionadas con hierro, las bacterias sulfato reductoras y las bacterias formadoras de lama. La concentración de 0.3 mg/L de cloro combinada con 0.2 mg/L de plata y 1.2 mg/L de cobre es una buena alternativa para disminuir apreciablemente el

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

consumo de cloro en los sistemas de enfriamiento empleando concentraciones de plata y cobre relativamente bajas. Esta relación de concentraciones logró alcanzar un abatimiento de las bacterias IRB y SRB mostrando que el tratamiento fue muy efectivo con un 99% de control excepto por las bacterias aerobias. El cloro por sí sólo, 1 y 3 mg/L, logra abatir a algunas de las bacterias IRB y SRB siendo más efectiva para las bacterias IRB. Así mismo, el cloro abate a las bacterias coliformes fecales por debajo de los niveles que la Norma Oficial Mexicana recomienda.

Las relaciones de concentración de 1.2 mg L⁻¹ plata/0.6 mg L⁻¹ cobre y 0.2 mg L⁻¹ plata/1.2 mg L⁻¹ cobre/0.3 mg L⁻¹ cloro ofrecieron un tratamiento muy efectivo resultando en una buena alternativa con un mínimo impacto ambiental para sustituir el cloro o disminuir su uso en aguas de sistemas de enfriamiento a nivel laboratorio. Estos sistemas lograron abatir a las poblaciones bacterianas promotoras de la corrosión influenciada microbiológicamente y del ensuciamiento biológico a niveles de 1000 ufc/mL y menores compitiendo con los tratamientos de aguas de enfriamiento convencionales. Así mismo, la capacidad de adherencia de la biopelícula sobre las superficies del sistema de enfriamiento se vería seriamente afectada debido a que la plata se adsorbe a la superficie que la contiene y aún continua su efecto bactericida (Thurman y Gerba 1989). Adicionalmente, las bacterias coliformes son reducidas por debajo de los niveles aceptados por la Norma Oficial Mexicana. Este nuevo enfoque tecnológico podría competir, en el control bacteriológico, con el cloro y los biocidas bioestáticos, presentando problemas ambientales menores.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología el apoyo otorgado para la realización de este trabajo de investigación (proyecto 31145-U).

REFERENCIAS

Bard A., J. y Faulkner L. R. (1980). *Electrochemical Methods. Fundamentals and Applications*. Wiley, Nueva York, Chichester, Brisbane y Toronto, 19 p.

BART™

(<http://www.dbi.sk.ca/droycon/BARTs.html>).

Cloclasure R. (2001). Managing microbiological fouling potentials with a non-oxidizing biocide tablet in cooling tower systems. 62nd International Water Conference. Paper 12, October 21-25, Pittsburgh, PA. USA.

Court A. W., Grant D., y Callery A. G. (2000). Dosing liquid disinfection chemicals under vacuum: experiences from within the UK and USA water industry. 61st International Water Conference. Paper 13, October 22-26, Pittsburgh, PA. USA.

Chang, S.L. (1970). Modern concept of disinfection. Proc. Natl. Special Conf. Disinfection, American Society of Civil Engineers, Nueva York, 635 p.

Domek M.J., LeChevallier M.W., Cameron S.C., y McFeters G.A.. (1984). Evidence for the role of copper in the injury process of coliform bacteria in drinking water. Appl. Environ. Microbiol. 48, 289-293.

Domek M.J., Robbins J.E., Anderson M.E., y McFeters G.A.. (1987). Metabolism of *Escherichia coli* injured by copper. Canad. J. Microbiol. 33, 57-62.

Gump D. J. (2001). Utilization of ultra violet disinfection systems in industrial process. 62nd International Water Conference. Paper 13, October 21-25, Pittsburgh, PA. USA.

HACH Company. (1997). *Water analysis handbook*, Loveland Colorado. USA. 379 p y 1111 p.

IDEXX, 2000. Quanti-Tray/2000. INDEXX Laboratories, INC. US Patent Numbers 4,925,789; 5,429,933; 5,518,892.

Jones R., Echols J. F., Freeman T., y Long M. (2000). Eliminating oxidizing biocides from condenser cooling water systems. 61st International Water Conference. Paper 10, October 22-26, Pittsburgh, PA. USA.

Just J. y Sznoliis A. (1936). Germicidal properties of silver in water. J. Am. Water Works Assoc. 28, 492-506.

Kelsey R., Koontz D. y Wang W. (2001). An innovative and alternative method for cooling water treatment. 62nd International Water Conference. Paper 55, October 21-25, Pittsburgh, PA. USA.

Kutz S. M., Landeen L. K., Yahya M.T. y Gerba Ch.P. (1988). Microbiological evaluation of copper:silver disinfection units. Proceedings of the Conference on Progress in Clinical Disinfection. State

University of New York, Binghamton, New York, 351-357.

Landeen L.K., Yahya M.T. y Gerba Ch.P. (1989a). Efficacy of copper and silver ions and reduced levels of free chlorine in inactivation of *Legionella pneumophila*. Appl. Environ. Microbiol. 55, 3045-3049.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

105

- Landeen L. K., Yahya M. T. y Kutz S. M. (1989b). Microbiological evaluation of copper:silver disinfection of units for use in swimming pools. *Water. Sci. Tech.* 21, 267-270
- LeChevallier M. W. (1990). Coliform regrowth in drinking water: a review. *J. Amer. Water. Works Assoc.* 82, 74 -80.
- Lutey R. (2000) Microbiological control in process water systems: an overview. 61st International Water Conference. Paper 1, October 22-26, Pittsburgh, PA. USA.
- Martínez M. E. (2002). Tratamiento de agua industrial mediante la técnica de ionización: una alternativa para sustituir el uso del cloro. Tesis de Maestría, en preparación. DEFP, UNAM, Temixco, México.
- Murray J. P. (1978). Thermodynamics of poliovirus adsorption, PhD thesis, Stanford University, Palo Alto, C.A.
- McCall E., Stout J. E. y Yu I. V. (1999). Efficacy of biocides against biofilm-associated *Legionella* in a Model System. 60th International Water Conference. Paper 19, October 18-20, Pittsburgh, PA. USA.
- Normas Oficiales Mexicanas para la Protección Ambiental. Norma Oficial NOM-001-ECOL-1996 y NOM-003-ECOL-1997.
- Opheim D. (2001). Biological control in cooling towers treated with pulsed-power systems. 62nd International Water Conference. Paper 13, October 21-25, Pittsburgh, PA. USA.
- Park G. A. (1976). Adsorption in the marine environment. En: *Chemical Ocean* (J.P. Riley y G. Skirrow Eds). Academic Press, Nueva York, Vol. 1, 241p.
- Rajeshwar K. and Ibañez J., *Environmental Electrochemistry - Fundamentals and Applications in Pollution Abatement*, Academic Press, San Diego, 1997.
- Richards R. M. E. (1981). Antimicrobial action of silver nitrate. *Microbios* 31, 83 -91.
- Silva M. S. y Alvarez G. A. (2001a). Cooling water bacteria disinfection by using electrolytically generated silver and copper ions. Proceedings of the 62nd International Water Conference. Paper 53. October 21-25, Pittsburgh, Pennsylvania. USA.
- Silva M. S. y Alvarez G. A. (2001b). Estudio de una alternativa novedosa para sustitución del uso del cloro en sistemas de enfriamiento. Reporte final. IIE/44/11727/1001/F.
- Silva M. S. y Alvarez G. A. (2001c). Estudio de una alternativa novedosa para sustitución del uso del cloro en sistemas de enfriamiento. Reporte Anual IIE/44/11727/1001/P.
- Sletten O. (1974). Halogen and their role in disinfection. *J. Am. Water Works Assoc.* December, 690-697.
- Southampton Electrochemistry Group, University of Southampton. (1993). *Instrumental methods in electrochemistry*. Ellis Horwood Limited, Chichester, West Sussex. PO 19 EB. England, 18 p.
- Thurman R.B. y Gerba Ch. P. (1989). The molecular mechanisms of copper and silver ion disinfection of bacteria and viruses. *Crit. Rev. Environ. Contr.* 18, 295-315.
- Tilton R.C. y Rosenberg B. (1978). Reversal of the silver inhibition of microorganisms by agar. *Appl. Environ. Microbiol.* 35, 1116-1120.
- White C. (1992). *Handbook of chlorination and alternative disinfectants*. Van Nostrand Reinhold. New York. Third Edition.
- Woodward R. L. (1963). Review of the bactericidal effectiveness of silver. *J. Am. Water Works Assoc.*, 7, 881-886.
- Yahya M.T., Landeen L.K., Messina M.C., Kutz S. M., Schulze R. y Gerba Ch.P. (1990). Disinfection of bacteria in water systems by using electrolytically generated copper:silver and reduced levels of free chlorine. *Canad. J. Microbiol.* 36, 109-116.
- Zimmer C., Luck G., Fritzsche H., y Triebel H. (1971). DNA-copper (II) complex and the DNA-conformation. *Biopolymers*, 10, 441-448.

TABLA I. CARACTERIZACIÓN PROMEDIO DEL AGUA RESIDUAL DE LA PLANTA DE TRATAMIENTO DEL IIE Y DE REPUESTO AL SISTEMA DE ENFRIAMIENTO DE LA CTEVM.

Tipo de Agua	Parámetros Químicos, mg/L								Bacterias Coliformes, NMP/100 mL	
	pH	Calcio*	Magnesio*	Sulfato	Cloruros	Alcalinidad*	Fosfatos	Silice	CT	CF
CTEVM	8.0	80	120	20	110	390	19	68	10 ^{3.7}	10 ^{3.3}
IIE	7.8	70	32	22	75	98	6	60	10 ^{4.4}	10 ^{4.4}

CTEVM.- Agua de enfriamiento de la Central Termoeléctrica de Valle de México. IIE.- Agua residual de la planta de tratamiento de las instalaciones del Instituto de Investigaciones Eléctricas. CT.- Coliformes Totales. CF.- Coliformes Fecales. * mg/L como CaCO₃.

TABLA II. PLATA REQUERIDA PARA DESINFECCIÓN DE DIFERENTES CALIDADES DE AGUA.

Tipos de agua	Concentración de plata, µg/L
Agua potable y agua mineral	25 - 100
Agua de albercas	150 - 200
Agua para hacer hielo artificial	400
Agua para lavar vajillas y utensilios de fábricas preparadoras de alimentos	25 - 600

TABLA III. EVALUACIÓN DEL TRATAMIENTO.

Intervalo de T _{LD}	Efectividad del Tratamiento
> -1.0	El tratamiento falló y las bacterias se han vuelto más agresivas en el agua.
-0.9 a -0.1	El tratamiento falló en reducir la carga microbiana en el agua.
-0.1 a +0.1	Tratamiento no efectivo.
+0.2 a +0.9	Tratamiento marginalmente efectivo.
+1.0 a +2.9	Tratamiento efectivo sin embargo es probable que el bioensuciamiento se inicie otra vez.
> +3.0	Tratamiento muy efectivo con un > 99.9% control.

T_{LD} es la diferencia de tiempo creada por el tratamiento expresado en días

Tabla IV. COMPARACIÓN DE COSTOS ENTRE EL USO DE CLORO Y EL USO DE LAS RELACIONES DE CONCENTRACIÓN ÓPTIMAS DE PLATA/COBRE/CLORO EN AGUA DE ENFRIAMIENTO (TORRE #4) DE LA CTEVM.

Concepto	Costos y Consumos					
	Cloro	1.2 mg L ⁻¹ Plata / 0.6 mg L ⁻¹ Cobre		0.2 mg L ⁻¹ Plata / 1.2 mg L ⁻¹ Cobre / 0.3 mg L ⁻¹ Cloro		
		Plata	Cobre	Plata	Cobre	Cloro
Costo anual por concepto de	\$ 360,806.00	\$1 307,752.00	\$2 761,004.00	\$1 717,958.00	\$ 5 522,008.00	\$ 18,020.15
Costo unitario de	\$ 9.79 / Kg	\$ 1,400.00 / Kg	\$ 750.00 / Kg	\$ 1,400.00 / Kg	\$ 750.00 / Kg	\$ 9.79 / Kg
Consumo anual de	36,854.58 Kg	7,362.68 Kg	3,681.34 Kg	1,227.11 Kg	7,362.68 Kg	1,840.67 Kg
Consumo específico anual de	6x10 ⁻³ Kg/m ³	1.2x10 ⁻³ Kg/m ³	6x10 ⁻⁴ Kg/m ³	2x10 ⁻⁴ Kg/m ³	1.2x10 ⁻³ Kg/m ³	3x10 ⁻⁴ Kg/m ³
Total anual	\$ 1 060,806.00	\$1 307,752.00	\$2 761,004.00	\$1 717,958.00	\$ 5 522,008.00	\$ 18,020.15
Gran Total anual	\$ 1 060,806.00	\$13 068,756.00		\$7 257,986.15		

Consumo anual de agua de enfriamiento: 6 135,564 m³

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

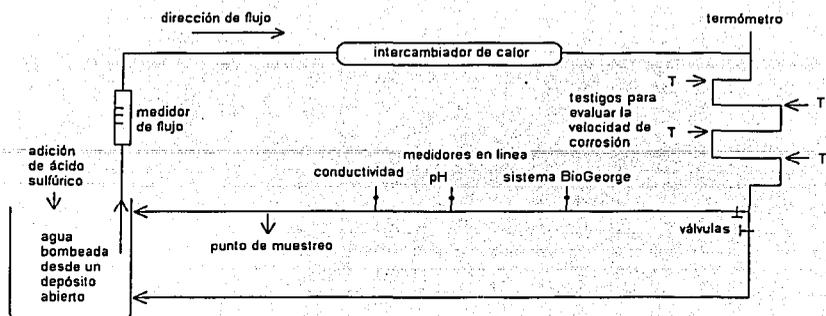


FIG. 1

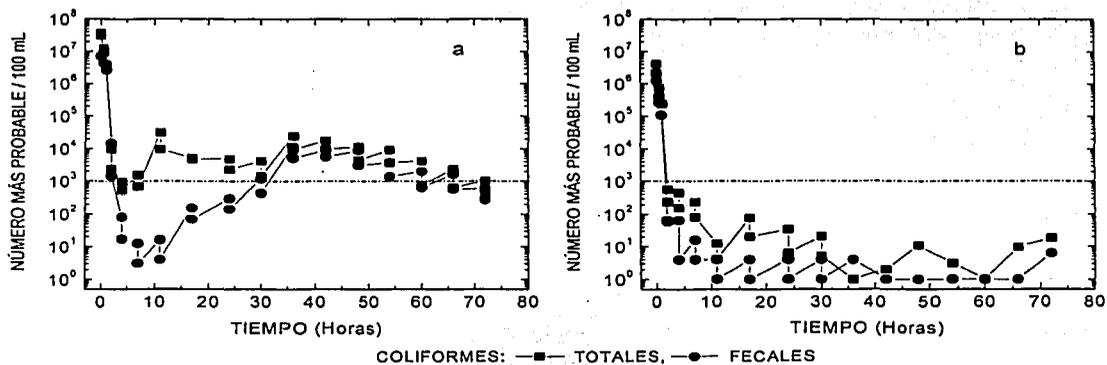


FIG. 2

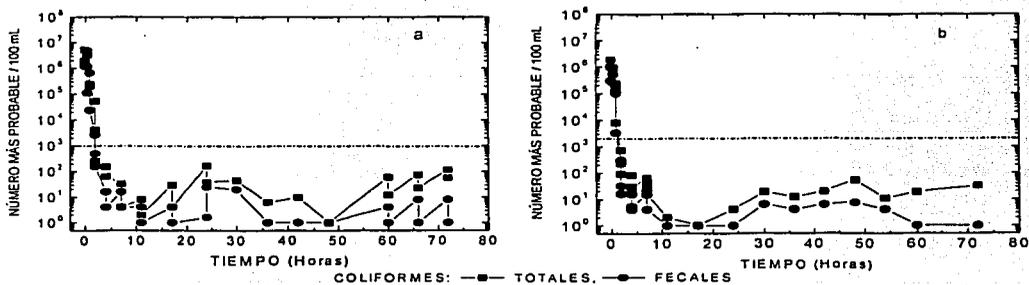
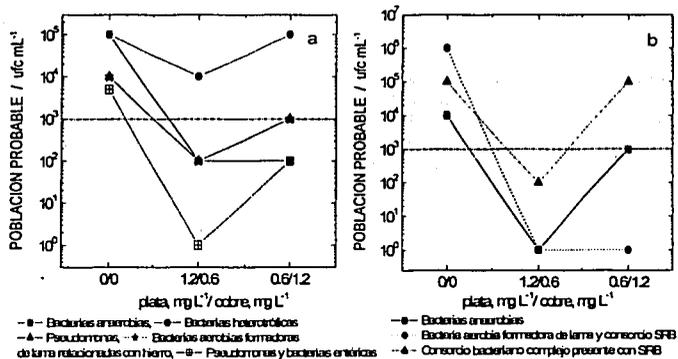
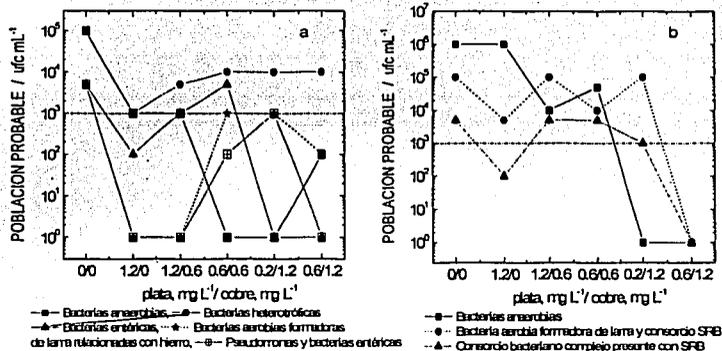
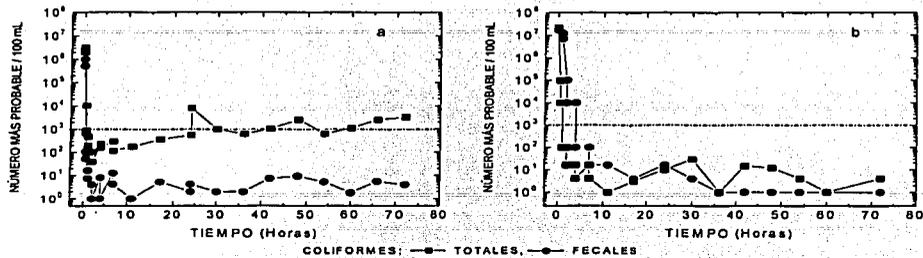


FIG. 3

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

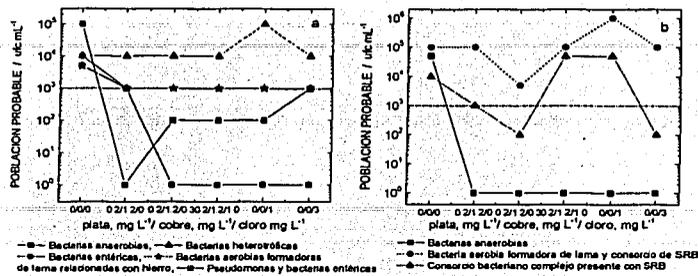


FIG. 7

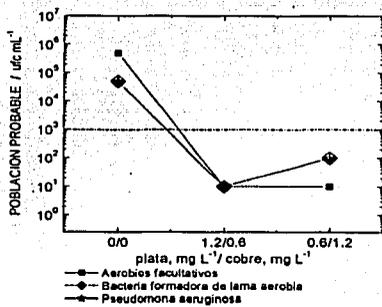


FIG. 8

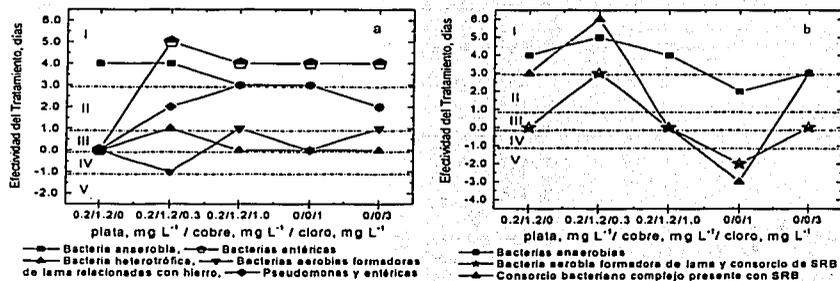


FIG. 9

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

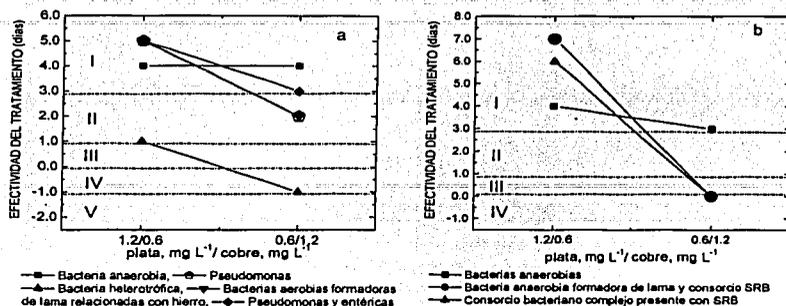


FIG. 10

FIGURA 1. Circuito Hidráulico empleado para la evaluación de los iones plata y cobre como biocidas en los sistemas de enfriamiento. La probeta BioGeorge sirve para monitorar la actividad bacteriana.

FIGURA 2. Número más probable de bacterias coliformes en los sistemas a. 0.6 mg L⁻¹ plata/0.6 mg L⁻¹ cobre, b. 0.6 mg L⁻¹ plata/1.2 mg L⁻¹ cobre en agua residual de la planta de tratamiento del IIE a 27 °C ± 5 °C.

FIGURA 3. Número más probable de bacterias coliformes en los sistemas a. 0.6 mg L⁻¹ plata/1.2 mg L⁻¹ cobre, b. 1.2 mg L⁻¹ plata/0.6 mg L⁻¹ cobre en agua de repuesto del sistema de enfriamiento de la CTEVM a 27 °C ± 5 °C.

FIGURA 4. Número más probable de bacterias coliformes en los sistemas a. 1.0 mg L⁻¹ Cloro, b. 0.2 mg L⁻¹ plata/1.2 mg L⁻¹ cobre/1.0 mg L⁻¹ Cloro en agua de residual de la planta de tratamiento del IIE a 27 °C ± 5 °C.

FIGURA 5. Población probable de IRB (a) y SRB (b) en función de las relaciones de concentración de plata/cobre para el agua residual de la planta de tratamiento del IIE. Las muestras permanecieron 48 horas en contacto con las respectivas relaciones a 27 °C ± 5 °C.

FIGURA 6. Población probable de IRB (a) y SRB (b) en función de las relaciones de concentración de plata/cobre para el agua de repuesto del sistema de enfriamiento de la CTEVM. Las muestras permanecieron 48 horas en contacto con las respectivas relaciones a 27 °C ± 5 °C.

FIGURA 7. Población probable de IRB (a) y SRB (b) en función de las relaciones de concentración de plata/cobre/cloro para el agua residual de la planta de tratamiento del IIE. Las muestras permanecieron 48 horas en contacto con las respectivas relaciones a 27 °C ± 5 °C.

FIGURA 8. Población probable de SLYM en función de las relaciones de concentración de plata/cobre para el agua de repuesto del sistema de enfriamiento de la CTEVM. Las muestras permanecieron 48 horas en contacto con las respectivas relaciones a 27 °C ± 5 °C.

FIGURA 9. Efectividad del tratamiento del agua de repuesto del sistema de enfriamiento de la CTEVM con los sistemas plata/cobre para IRB (a) y SRB (b). Las muestras permanecieron 48 horas en contacto con las respectivas relaciones a 27 °C ± 5 °C. I. Tratamiento muy efectivo con un > 99.9% control, II. Tratamiento efectivo con la probabilidad de que el bioensuciamiento se inicie otra vez, III. Tratamiento marginalmente efectivo, IV. Tratamiento no efectivo, V. El tratamiento falló en reducir la carga microbiana en el agua.

FIGURA 10. Efectividad del tratamiento del agua residual de la planta de tratamiento del IIE con los sistemas plata/cobre/cloro para IRB (a) y SRB (b). Las muestras permanecieron 48 horas en contacto con las respectivas relaciones a 27 °C ± 5 °C. I. Tratamiento muy efectivo con un > 99.9% control, II. Tratamiento efectivo con la probabilidad de que el bioensuciamiento se inicie otra vez, III. Tratamiento marginalmente efectivo, IV. Tratamiento no efectivo, V. El tratamiento falló en reducir la carga microbiana en el agua

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

111

ANEXO A-3

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

International Journal of Hydrogen Energy

..... Abundant Clean Energy for Mankind

February 7, 2002

Dr. Susana SILVA MARTÍNEZ

Instituto de Investigaciones Eléctricas
Av. Reforma No. 113, Col. Palmira, Temixco, Mor.,

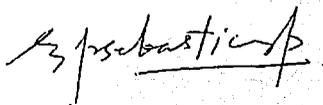
Dr. P.J. Sebastian
Editor IJHE
Energy Research Center-UNAM
62580 Temixco, Morelos, Mexico
<http://www.cie.unam.mx>
e-mail: sjp@cie.unam.mx
☎ (55) 56229706, Fax (55) 56229742

Dear Author

I am pleased to inform you that your article: **"ELECTROLYTICALLY GENERATED SILVER AND COPPER IONS TO TREAT COOLING WATER: AN ENVIRONMENTALLY FRIENDLY NOVEL ALTERNATIVE"** by S. Silva Martínez et al has been accepted for publication for a special issue of International Journal of Hydrogen Energy.

Let me personally congratulate you on your work in Clean Energy for Mankind and I would like to take this opportunity to encourage you to pursue it further. We at International Journal of Hydrogen Energy appreciate your submission and hope that you will consider our journal for your future publications. For your future submissions, one copy and one original of your manuscript should be submitted to me or to the Editor-in-Chief. Please see our web page <http://www.elsevier.com/locate/ijhydene> for updated addresses and information. Again, thank you for your consideration.

Sincerely,



Dr. P.J. Sebastian

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

113

ELECTROLYTICALLY GENERATED SILVER AND COPPER IONS TO TREAT COOLING WATER: AN ENVIRONMENTALLY FRIENDLY NOVEL ALTERNATIVE.

Susana SILVA MARTÍNEZ, Alberto ALVAREZ GALLEGOS and Esteban MARTÍNEZ MEZA.
Instituto de Investigaciones Eléctricas, Av. Reforma No. 113, Col. Palmira, Temixco, Mor., México. C.P. 62490.
ssilva@iie.org.mx.

Key words: Coliform bacteria, iron related bacteria, sulfate reducing bacteria, slime forming bacteria, microbiologically influenced corrosion, chlorine, biofilm.

ABSTRACT

The effect of electrolytically generated silver and copper ions on the abatement of iron related bacteria, sulfate reducing bacteria, slime forming and coliform bacteria in the cooling systems was investigated in this work. These bacteria, commonly found in cooling tower systems, are usually controlled with chlorine. The effect of chlorine and its combination with these ions was also studied on the microbiology of the water. Silver/copper/chlorine concentration relationships (1.2 mg l^{-1} silver/ 0.6 mg l^{-1} copper/ 0.0 mg l^{-1} chlorine and 0.2 mg l^{-1} silver/ 1.2 mg l^{-1} copper/ 0.3 mg l^{-1} chlorine) proved to be good alternatives to replace or decrease appreciably the chlorine consumption in the cooling systems using relatively low concentrations of silver and copper with a minimum environmental impact. These relationships established a very effective treatment with 99% of control for the iron related bacteria, sulfate reducing bacteria and slime forming bacteria abating more than 99% of such bacteria. Chlorine concentrations of 1.0 mg l^{-1} and 3.0 mg l^{-1} decreased more than 90% of some of the iron related bacteria population. These systems have shown to lower the aggressivity of bacteria population that promote microbiologically influenced corrosion and biofilm formation to levels that compete with the traditional water treatment of cooling water. Coliform bacteria were also reduced below the levels accepted by the Mexican Official Norm.

INTRODUCTION

Cooling water systems provide ideal environment and suitable nutrient balance for the microorganism multiplication. The recirculation of water and different pH and temperature zones, beside nutrients supply, are necessary for their survival and multiple activities in detriment to the cooling water system and its functioning. Air, water and soil are good vectors for the microbes to gain entry into the cooling systems. Bacterial population in cooling tower systems can exceed a million of cfu/ml. High levels of bacteria increase the risk of microbiologically

influenced corrosion (MIC) development favoring biofilm formation on wet surfaces^{1,2}. MIC occurs when a unique combination of biological factors interact with the chemistry of the water, temperature, flow velocity, component metallurgy and the presence of organic and inorganic fouling materials. Biofilms are reservoirs of pathogenic organisms giving protection against disinfectant action. Under these circumstances, the oxygen level of the inner layers is deficient promoting the growth of anaerobic bacteria including the sulfate reducing bacteria and the bacteria that metabolize iron. Sulfate reducing bacteria produce acid when reducing sulfates while iron related bacteria can literally consume the iron of the system to cover the demand of their metabolism necessities. These microorganisms are associated with corrosion mechanisms that influence, but do not initiate, the corrosion process³. These two types of bacteria can cause great corrosion damage to the system. Biofouling and MIC in cooling water systems are the most common problems that reduce heat transfer efficiency, waste energy, cause loss of production, increase in maintenance cost and, in some cases, sources of infection. The power generation industry has devoted increasing attention to corrosion monitoring and monitoring of biofilm activity in cooling water systems.⁴⁻⁸

Biofilm and bacterial population in cooling systems are usually controlled by the addition of chlorine (or some form of chlorine) into the cooling water⁹. Chlorine is cheap and its dosage is easy but it has an important number of limitations¹⁰⁻¹² and some of them will be very severe in the near future: 1) originates inherent problems of security that are related to chlorine handling and storage; 2) high copper and chlorine contents in industrial effluents; 3) highly toxic, not just to the targeted microorganism but toward others that were not into the treatment program; 4) its efficiency strongly depends on temperature and pH values; 5) its short-lasting residual action; 6) high environmental impact due to its tendency to react with ammonia or nitrogen, when present in the water, to form chloramines and the formation of organic chlorine compounds, which reduces its available concentration for disinfection; and 6) oxidize copper alloys, widely used in heat exchangers.

Therefore, the ideal biocide would have just disinfection functions while minimizing or

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

114

eliminating other functions like oxidation and environmental impact¹³. The quest for such ideal biocide as a better alternative for controlling biofilm and bacterial population in water treatment systems is justified and other approaches were studied, for example the use of non oxidant biocides¹⁴. However, the dosage programs of the non oxidant biocides that control the growth of microorganism effectively are two to ten times more expensive than chlorine. Besides these biocides face the same environmental problem than chlorine¹⁵.

At present, electrochemistry is regarded as a promising tool to treat industrial wastewater without adversely influencing the environment¹⁶. Indeed, organic pollutants can be electrochemically inactivated either directly oxidized on an anode surface¹⁷ or indirectly by means of an electrogeneration of a powerful oxidant¹⁸. As with their organic counterpart microorganisms can be inactivated by both electrochemical routes: directly or via the electrogeneration of killer agents such as (H_2O_2)¹⁹⁻²¹. Electrode materials vary widely, depending on the disinfecting agent desired. For example, potassium permanganate can be used as a bactericidal agent. Its production is based on the chemical oxidation (by O_2) of (MnO_2) to (MnO_4^{2-}) followed by electrochemical oxidation at Ni anode to (MnO_4^-)²².

Metal ions are particularly amenable to electrogeneration. Precisely metered quantities of these ions can be electrochemically dosed into the water stream on demand. Silver ions are poisonous to most microorganisms in trace amounts. A water containing 10^7 microorganisms/ml (mainly *Escherichia coli*) was given a contact time of 4 s in the anodic compartment of a cell containing Ag^+ ions; 99.43% of the microorganisms were inactivated²³. Furthermore, silver ions could be recovered to render this technique economically and environmentally attractive²³. Silver is capable of exterminating an ample range of bacteria and viruses.^{24,25} In a similar way, Cu^{2+} ions from consumable Cu anodes are used to disinfect swimming pools and water for drinking purposes. They are also used to prevent marine biofouling²⁶. The copper has been used as an algacide for many years and is reported to be one of the most toxic metals to heterotrophic bacteria in aquatic environments.²⁷ Some studies^{27,28} reported that one of the main biocide processes of these ions is cell penetration of microorganisms. During this process copper ions, charged positively, form electrostatic binding sites, charged negatively, with the cell wall resulting in a weakening of the cell membrane. Silver ions take advantage of this situation by means of attacking specific sites of the cell. Further, Ag^+ and

Cu^{2+} show a synergistic disinfection effect²⁹. Silver binds the cellular protein (DNA and RNA) and the respiratory enzymes, deactivating in this manner, the structure of the life system of the cell. The biocide properties of silver and copper ions have mainly been focused to one or two types of bacteria using pure cultures with either low microorganism content like drinking water (*Legionella pneumophila*³⁰, *Legionella*³¹, *amoebae and ciliated protozoa*³², *Naegleria fowleri*³³, *Enteric Viruses*³⁴, *Legionella pneumophila*³⁵), swimming pools (*Legionella pneumophila* and *E. Coli*³⁶) and water from hospitals (*E. Coli*, *Streptococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Legionella pneumophila*, *Salmonella Typhi*, *Klebsiella terrigena*, and *Staphylococcus aureus*²⁴).

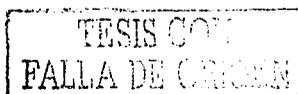
These studies represent partly the real effect of copper and silver ions on the microorganisms because microorganisms do form consortiums in an aqueous medium in order to survive. These bacteria consortiums are sometimes very complex. The electrogeneration *in situ* of silver and copper ions could be an alternative and a novel technique with great potential of use in the cooling water systems, for controlling microbiological fouling for its minimum environmental impact.

In this study, it is demonstrated that it is possible to electrogenerate silver and copper ions at a significant rate from consumable Ag (or Cu) anodes in a small electrochemical reactor containing distilled water and attached to the hydraulic circuit (a simulated cooling water system) for dosing into a water stream on demand and establishing a good microbiological control in a real cooling water. A high content of microorganisms ($\approx 10^7$ cfu/ml) were present in the cooling water, in their natural habitat, and the effect of silver and copper ions were assessed as biocide to abate the bacteria activity. The targeted bacteria (commonly present in most cooling tower systems of the mexican power plants), were iron related bacteria, reducing sulfate bacteria, slime-forming bacteria, *coliform* bacteria. Biofilm control was briefly studied as well. Chlorine was also tested to compare its performance with silver and copper ions. This study will also cast a light on the initial determination of the technical feasibility to replace the use of chlorine by another biocide (ionization of silver and/or copper) no dangerous for use in cooling water systems.

MATERIALS AND METHODS

Experimental methodology.

Two types of water were used in this study:
a) Wastewater coming from the water treatment plant of the Instituto de Investigaciones Eléctricas and
b) Makeup cooling water (water intake used for



cooling) coming from the cooling water system of the Power Plant of Valle de México. These two types of water passed through an activated sludge process before being sampled to perform the tests in this work. Water samples were taken before the chlorination point. Table 1 shows that these type of waters have similar characteristics.

A continuous flow system partially open with a capacity of 20 liters was employed to perform the experimental part (Figure 1 shows the hydraulic circuit). This system was constructed with PVC (3/4") material. The major components of the system are a heat exchange (made with a copper-nickel tube), a water recirculation pump, a flow meter, a water reservoir, corrosion probes holder, electrodes holder and points for sampling and adding solutions (sulfuric acid, biocide, etc.). The pH and the temperature were controlled in a similar manner to the cooling system operation. The pH was controlled in a pH range of 7 to 8 by adding a diluted sulfuric acid solution, the temperature at 27 ± 5 °C and a constant water flow of 1.8 gpm. The pH, temperature, water flow and water conductivity were recorded on line. The pHmeter and the conductivity meter were calibrated every 12 hours approximately. The continuous flow system was conditioned during 24 hours previously initiating a microbiological test. The conditioning process consisted of water recirculation for 24 hours with the presence of the biocide at the desired concentration to decrease the biocide adsorption (silver and copper mainly) in the components of the system during the microbiological test. Nitric acid solution recirculation (12%) was performed at the end of each microbiological test during 24 hours to eliminate any interference from previous tests. The nitric acid solution desorbs the metallic ions that could have been adsorbed previously during the tests. The biocide solutions were prepared with distilled water. 11 liters of water sample were used for the tests. The initial volume of 11 liters used in each microbiological test was not constant during the test that lasted 72 hours because of evaporation and sampling. A minimum volume of a diluted sulfuric acid solution was added to maintain the pH range. Water samples were taken at different time intervals to analyze the bacteria in the treated water.

Biocide systems employed.

The biocide systems studied in the microbiological tests were silver, silver/copper, chlorine and silver/copper/chlorine. The biocide concentrations were selected based on the table II and previous studies.³⁷⁻³⁸

Silver and copper ions generation.

Silver or copper ions were produced electrolytically by applying a voltage of 7 to 8 volts between two silver electrodes or two copper electrodes in distilled water employing a potentiostat equipment (PGSTAT 30). The electrodes were constructed from silver plates (99% of purity) and copper plates (100% of purity) 1mm thick. The electrode areas were between 20 and 30 cm² approximately. The electrodes were polished with fine sandpaper, dried with absorbent tissue paper and connected to the cell. The solutions of silver and copper were analyzed immediately after generated and used freshly.

Chemical analyses.

A commercial solution of sodium hypochlorite with 6% free chlorine was employed. Total and free chlorine were analyzed with the DPD method using a spectrophotometer DR 2010, HACH³⁹. Water content of sodium, potassium, calcium, chlorides, nitrates and phosphates was determined using ion specific electrodes (HACH). Hardness and alkalinity were determined by titration.³⁹ Silver and copper were analyzed using a spectrophotometer DR 2010.

Bacteriological analyses.

Coliform Bacteria. *Coliform* bacteria were quantified by employing a Colilert test kit (IDEXX, 2000)⁴⁰. This kit allows the total coliform and *E. Coli* to be detected and confirmed simultaneously in water. Colilert tests consist on the determination of the Most Probable Number of coliform bacteria per hundred ml (MPN/100 ml). This test can detect 1 cfu/100 ml of bacteria over a 24 hours incubation period in the presence of 2 millions of heterotrophic bacteria per 100 ml.

Iron related Bacteria (IRB), sulfate reducing bacteria (SRB) and slime forming bacteria (SLYM). IRB, SRB and SLYM population were determined by using the Biological Activity Reaction Test (BARTTM)⁴¹. These tests can detect 10 cfu/ml of bacteria.

Effectiveness of the Treatment. The effectiveness of the treatment was evaluated using the time lag.⁴¹ Time lag commonly measured in days of delay indicates the aggressivity of the bacterial consortium being tested. Time lags for various different degrees of aggressivity are different for each BART (and bacterial consortium). As a result of this, the difference in the time lag before and after treatment can be used to determine the effectiveness of the treatment. The simplest interpretation can be achieved by using equation (1):

$$TL_D = TL_{AT} - TL_{BT} \quad (1)$$

Where TL_D is the time lag difference created by the treatment. This would reflect the log population shift



116

resulting from the treatment. TL_{AT} is the time lag (days of delay) after treatment and TL_{BT} is the time lag before treatment. A negative TL_D would mean not only that the treatment had been ineffective but also that there had been some additional release of bacteria (from biofilms into the water) to render the bacteria more aggressive. If TL_D was within the range of -0.1 to $+0.1$ then the treatment could be considered to have had no significant impact on the consortium being tested using the BART tester. A significant treatment impact would involve a TL_D great than 0.9 . The effectiveness of the treatment can be registered by the calculated TL_D . Table III gives a summary of the effectiveness of a given treatment.

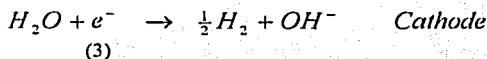
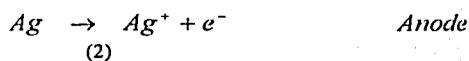
RESULTS

The biocide systems of silver, silver/copper, silver/copper/chlorine and chlorine were employed in the concentration range of 1.2 to 0.2 mg l^{-1} silver, 0.6 to 1.2 mg l^{-1} copper and 0.3 to 3.0 mg l^{-1} chlorine. Wastewater and makeup cooling water recirculation was performed in a continuous flow system for testing the biocide systems in the microbiological tests. The parameters of pH, temperature, water flow and conductivity were recorded on line during 72 hours. The bacteria populations were analyzed at different time intervals.

Electrolytically silver and copper ions generation.

Electrolytic generation of silver (or copper) ions consisted of a positively charged anode made of silver (or copper) and a negatively charge cathode (silver or copper). The electrodes were housed in a cell containing distilled water. The anode and cathode were connected to a potentiostat and a DC voltage was applied between them. This causes the following electrode reactions to occur:

a) Silver ions:



b) Copper ions:

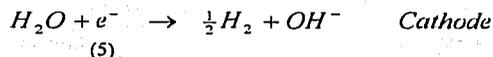
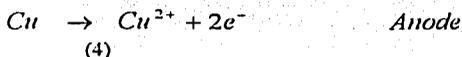


Figure 2 shows a plot of the current and charge behaviour as a function of time of silver generation at 5 V in distilled water at room temperature.

The current efficiency of silver and copper ion electrogeneration depends on the mineral content of the water and the purity degree of the electrodes. Silver ion generation was performed using four different water qualities: tap water, sodium nitrate electrolyte solutions, sodium sulfate electrolyte solutions, and distilled water. Distilled water was the water that better silver quality solution and silver production originated. Tap water and the electrolyte solutions formed precipitates with the silver ion (AgCl , AgSO_4 , etc.) decreasing therefore the amount of free silver ion in the water. Distilled water was also used to generate copper to prevent possible formation of copper-anion precipitates. Silver and copper electrolysis lead to current efficiencies of 50% and 65% respectively in distilled water. The current efficiency, ϕ , was calculated^{42,43} using equation(6):

$$\phi = \frac{\text{charge used in forming pro}}{\text{total charge}} \quad (6)$$

From Faraday's laws of electrolysis:

$$\phi = \frac{mnF}{q} \quad (7)$$

where q is total charge (C), m is mols of electroactive species in electrolysis cell (mol), n is number of electrons involved in overall electrode reaction and F is the Faraday constant (C mol^{-1}).

Silver electrodes and copper electrodes built up dirty surfaces after 3000 s or so during electrolysis. Cleaning the electrode surfaces or electrodes replacement was necessary after this time. The low current efficiency values can indicate that by-products are being formed. These by-products may arise by electrolysis of the solvent (water) as shown by the equation (3 and 5). The low current efficiency values showed that the quantity of silver (and copper) can neither be calculated nor even roughly estimated. Hence, in order to ensure satisfactory disinfection the dose of silver used must be known.

Effect of pH and temperature

The effect of pH, temperature, water flow, salt concentration due to water evaporation and

atmosphere impact on the performance of the biocide systems were studied in the microbiological tests. However, no appreciable effect was observed with respect to previous results³⁸.

Coliform bacteria inactivation

Wastewater: The biocide systems were capable of inactivate *coliform* bacteria present in wastewater killing 99% of total *coliform* and *E. Coli* in the first two hours of contact time. Figures 3 and 4 show four plots of the Most Probable Number of *coliform* bacteria as a function of time. The results obtained in the systems of 0.6 mg l⁻¹ silver/0.6 mg l⁻¹ copper and 0.6 mg l⁻¹ silver/1.2 mg l⁻¹ copper in wastewater are shown in figure 3. The dashed line marks the maximum permissible value of *coliform* bacteria established by the Mexican Norms^{44,45}. The system of 0.6 mg l⁻¹ silver/1.2 mg l⁻¹ copper (figure 3b) showed *coliform* bacteria population re-growth reaching less than 100 MPN/100 ml of total *coliform* and less than 10 MPN/100 ml of *E. Coli*. The system of 0.6 mg l⁻¹ silver/0.6 mg l⁻¹ copper (figure 3a) showed that the total *coliform* and *E. Coli* bacteria population re-grew up to 10¹ MPN/100 ml. The *coliform* bacteria population re-growth was observed between the first 10 to 15 hours of contact time.

Chlorine concentration of 1.0 mg l⁻¹ Cl₂ (Fig. 4a) clearly decreased the aggressivity of *coliform* bacteria showing a re-growth of total *coliform* bacteria to a value greater than 10³ MPN/100 ml after the first 25 hours or so of contact time. However, the combination of chlorine (1.0 mg l⁻¹) with 0.2 mg l⁻¹ silver/1.2 mg l⁻¹ copper (Fig. 3b), clearly decreased the *coliform* bacteria aggressivity at levels down to 10 MPN/100 ml and less. The performance of this combination worked better than chlorine alone.

Makeup cooling water: Figure 5 shows two graphs for the systems of 0.6 mg l⁻¹ silver/1.2 mg l⁻¹ copper and 1.2 mg l⁻¹ silver/0.6 mg l⁻¹ copper studied in makeup cooling water. *Coliform* bacteria population re-growth was observed between the first 15 to 20 hours of contact time acquiring a maximum value of 10² MPN/100 ml. The results in both plots were below the maximum value allowed by the Mexican Official Norms.

Iron related bacteria and sulfate reducing bacteria inactivation

Wastewater: Figures 6 and 7 display the variation of the Probable Population of IRB and SRB in wastewater as a function of biocide systems: concentration relations of silver/copper and silver/copper/chlorine. Water samples were taken after 48 hours water recirculation for each relation of concentration. The system 1.2 mg l⁻¹ silver/0 mg l⁻¹ copper (Fig. 6a) resulted to be the most efficient in inactivating the iron related bacteria by killing 99%

and greater of IRB population. However, a 90% of the *heterotrophic* bacteria was killed in the rest of the silver/copper systems investigated. The relation of 0.6 mg l⁻¹ silver/1.2 mg l⁻¹ copper inactivated IRB killing a 99% of IRB population except to the *heterotrophic* bacteria. This same relation turned out to be very effective in the total inactivation (killing a 100%) of sulfate reducing bacteria (Fig. 6b).

The chlorine effect and its combinations with metallic ions on IRB and SRB bacteria are shown in figure 7. These relations (Fig. 7a) maintained the *anaerobic* bacteria, *pseudomonads* and *enterics*, *enteric* bacteria and *aerobic* slime-forming IRB to levels of 10³ cfu/ml or less. The *heterotrophic* bacteria were not affected being at their initial value. Nevertheless, these relations (Fig. 7b) showed no appreciable effect on the complex bacterial consortium with SRB present and the *aerobic* slime bacterial and SRB consortium. However, the aggressivity of the *anaerobic* bacteria population was decreased appreciably.

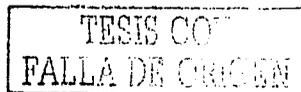
Makeup cooling water: Figure 8 shows that the relation of 1.2 mg l⁻¹ silver/0.6 mg l⁻¹ copper system appreciably diminished the SRB and IRB aggressivity. However, the *heterotrophic* bacteria was decreased a 90% approximately being this relation the one that offers better results particularly for SRB population (Fig. 8b). The *heterotrophic* bacteria (Fig. 8a) and complex bacterial consortium with SRB present (Fig. 8b) were not affected by the relation 0.6 silver/1.2 copper. The aggressivity of the rest of the IRB and SRB population decreased in more than 90%.

Slime forming bacteria inactivation.

The variation of the Probable Population of the slime forming bacteria (SLYM), in makeup cooling water, as a function of relation of concentrations of silver/copper is shown in figure 9. Both relations of concentration were able to appreciably decrease the aggressivity of the *aerobic* slime forming bacteria, dense slime bacteria and fluorescing *pseudomonads* killing more than 99.9%.

Biofilm Control.

Wastewater: Figure 10 shows a detail of biofilm developed on the water pump after 40 days of contact with wastewater recirculating in the hydraulic circuit at room temperature and with no pH control. After this exposure time, silver and copper were dosed into the hydraulic circuit to get a biocide with the following composition: 1.2 mg l⁻¹ silver/0.6 mg l⁻¹ copper. After 48 h of contact, biofilm was eliminated from the hydraulic circuit, included the water pump, see figure 11. The experiment was repeated under the



same conditions but the composition of the biocide was changed to 0.2 mg l⁻¹/1.2 mg l⁻¹/1.0 mg l⁻¹ Cl₂ obtaining similar result than before in the elimination of the biofilm.

Treatment effectiveness

Water treatment effectiveness is reported in tables IV and V for IRB and SRB. Water samples were taken after 48 hours water recirculation for each relation of concentration. The water treatment employing a relation of 1.2 mg l⁻¹ silver/0.6 mg l⁻¹ copper (table IV) resulted to be very effective with 99 % of control for SRB and IRB population and effective for the *heterotrophic* bacteria. The water treatment based on the relation of 0.2 mg l⁻¹ silver/1.2 mg l⁻¹ copper/0.3 mg l⁻¹ chlorine (table V) was very effective for the *anaerobic* bacteria, *enteric* bacteria, *pseudomonads* and *enterics* and effective for the *heterotrophic* bacteria. The relation of concentration 0.2 mg l⁻¹ silver/1.2 mg l⁻¹ copper/1.0 mg l⁻¹ chlorine was very effective for the *anaerobic* bacteria, *enteric* bacteria, and *pseudomonads* and *enterics*. The water treatment based on the chlorine concentration of 3.0 mg l⁻¹ was very effective in annihilating the *enteric* bacteria and effective in annihilating *pseudomonads* and *enterics*, anaerobic bacteria and, *aerobic* slime-forming IRB. Regarding to the sulfate reducing bacteria population (table V), the water treatment based on 0.2 mg l⁻¹ silver/1.2 mg l⁻¹ copper /0.3 mg l⁻¹ chlorine was also very effective resulting in the best relation of concentrations investigated for SRB.

DISCUSSION

Effect of the biocide systems on the bacteria population.

The biocide action of silver and its relations with copper showed an appreciable impact on annihilating the *coliform* bacteria, iron related bacteria, sulfate reducing bacteria and slime forming bacteria. Chlorine concentration of 0.3 mg l⁻¹ combined with 0.2 mg l⁻¹ of silver and 1.2 mg l⁻¹ of copper is a good alternative to appreciably decrease chlorine consumption in the cooling systems using relatively low concentrations of silver and copper. This relation of concentration discouraged IRB and SRB to grow showing a very effective treatment with a 99% of control except for the *anaerobic* bacteria. Chlorine, at concentrations of 1.0 mg l⁻¹ and 3.0 mg l⁻¹, decreased some of IRB and SRB being more effective for IRB. Chlorine also kept the *E. Coli* bacteria below the Mexican Official Norm recommended level. The water treatment based on the relations of 1.2 mg l⁻¹ silver/0.6 mg l⁻¹ copper and 0.2 mg l⁻¹ silver/1.2 mg l⁻¹ copper/0.3 mg l⁻¹ chlorine proved to be very effective. These relations are good alternatives, with a minimum environmental impact, to replace chlorine or decrease its use in the cooling systems. These

biocide systems were capable of decreasing the bacteria that promote microbiologically influenced corrosion and biofouling at levels of 10³ cfu/ml and less competing with the conventional cooling water treatment. The adhesion capacity of the biofilm on the surfaces of the cooling system will also be seriously affected because the silver is adsorbed to the surface and still continuous its bactericidal effect²⁷. *Coliform* bacteria were also reduced below the levels accepted by the Mexican Official Norm.

Effect of the biocide on the biofilm development

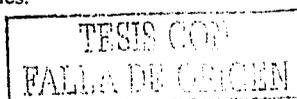
Biofilm development in cooling water systems can be eliminated or minimized by using a right combination of silver/copper or silver/copper/chlorine. Therefore, MIC can be minimized from cooling water systems.

Environmental effect of copper and silver ions.

There are primary and secondary standards that regulate contaminants that may cause cosmetic effects (such as skin or tooth discoloration) or aesthetic effects (such as taste, odor, or color) in drinking water. EPA⁴⁶ recommends that the concentration of copper and silver in drinking water should be below 1.0 mg l⁻¹ and 0.1 mg l⁻¹ respectively. A recent study⁴⁷ suggests that risks are minimal when silver concentration is up to 0.1 mg l⁻¹. However, another study⁴⁸ suggests that consumers exposed to water (swimming pools, etc.) containing silver (silver concentration below 80 µg l⁻¹) should be in contact for no more than 90 days in any period of a year because of uncertainty over long-term health effects of silver. Nevertheless, the uncertainties associated with the long-term toxicity of silver should be balanced against the potential benefits through control of pathogenic bacteria.

The maximum value⁴⁹⁻⁵¹ for copper and silver level in wastewater discharge vary from 1.5 mg l⁻¹ to 6.1 mg l⁻¹ of copper (total) and 2.0 mg l⁻¹ to 2.9 mg l⁻¹ of silver (total). The concentration of copper and silver employed in treating the water in this study is between these values. These values are certainly high, however, this study shows another alternative to chlorine usage in establishing a microbiological control in the cooling water; afterwards, the circulating cooling water should be treated before being discharged to the natural reservoirs.

The use of copper and silver ions for water treatment might result in potential for uptake of silver ions by fish and humans and potential health risks. Several factors determine whether contact leads to harmful effects and the type and severity of these effects. These factors include the dose, the duration, the timing, the route of exposure (injection, inhalation, ingestion, contact) and individual characteristics and lifestyles.

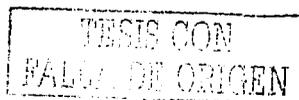


ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank to the Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) for the support granted to accomplish this work of investigation.

REFERENCES

1. G. J. Licina and G. Nekoksa. *Monitoring Biofilm Formation in a Brackish Water Cooled Power Plant Environment*. Corrosion/97, Paper No. 222, NACE International, Houston, TX. (1997).
2. G. J. Licina, L. E. Willertz, B. M. Swoyer, and R. S. Tombaugh, *Monitoring Corrosion and Biofilm Formation in the Emergency Service Water System at Susquehanna*. 9th EPRI Service Water Reliability Improvement Seminar, Daytona Beach, FL, (1996).
3. Lutey R. W. *A review and Comparison of MIC Indices (Models)*. 62nd International Water Conference. Paper 4, October 21-25, Pittsburgh, PA. USA. (2001).
4. R. Jones, J. F. Echols, T. Freeman, M. Long. *Eliminating Oxidizing Biocides From Condenser Cooling Water System*. Proceedings 60th Annual meeting, International Water Conference. IWC-00-10, (2000).
5. E. S. Bearwood and J. K. Therrien, *Detection and Reduction of Biofilms in Industrial Cooling Waters*. International Water Conference. IWC-99-71, (1999).
6. Little B., Wagner P and Mansfeld. *Microbiologically Influenced Corrosion of Metals and Alloys*. *International Materials Reviews*. Vol 36, No 6, 253 (1991).
7. S. W. Boronstein and G. J. Licina. *Inspecting and Monitoring For Biofiling and Corrosion*. International Power Generation Conference, Phoenix, (1994).
8. R. Green, *A Report on MIC Activities at TMI*. International Water Conference. IWC-99-72, (1999).
9. Water Quality Division Disinfection Committee, *Survey of Water Utility Disinfection Practices*. J. Am. Water Works Assoc. 84, 121 (1992).
10. Gorchev Hamilton J. *Water Chlorination Environmental Impact and Health Effects*, Vol. 2. Ann Arbor Science, Publishers INC. 1977.
11. Geo. Clifford White, *Handbook of Chlorination and Alternative Disinfectants*. Third Edition, Van Nostrand Reinhold, New York. (1992).
12. Jolley R. L., Gorchev H., and Hamilton D. H. Jr. *Water Chlorination Environmental Impact and Health Effects*, Vol. 2. Ann Arbor Science, Mich. (1977).
13. S. Miller. *Disinfection Products in Water Treatment*. Environ. Sci. Technol. 27, 2292 (1993).
14. McCall E., Stout J. E., y Yu I. V. *Efficacy of Biocides against Biofilm-Associated Legionella in a Model System*. 60th International Water Conference. Paper 19, October 18-20, Pittsburgh, PA. USA. (1999).
15. Lutey R. W. *Microbiological Control in Process Water Systems: An Overview*. 61st International Water Conference. Paper 1, October 22-26, Pittsburgh, PA. USA. (2000).
16. *Electrochemistry for a Cleaner Environment*. Edited by J. D. Genders and N. L. Weinberg. Electrosynthesis Co. East Amherst, New York. USA. (1992).
17. Cominellis C. *Electrochemical Oxidation of organic pollutants for Wastewater Treatment*. Section One. Water Care and Treatment Processes, in 'Environmental Oriented Electrochemistry.' (Edited by C.A.C. Sequira). Elsevier Science B.V. Amsterdam. (1994).
18. Alvarez A. and Pleicher D. *The removal of low level organics via hydrogen peroxide formed in a reticulated vitreous carbon cathode cell. Part 2: The removal of phenols and related compounds from aqueous effluents*. *Electrochimica Acta*, 44, p 2483 (1999).
19. Dhar H.P., Bockris J.O'M. and Lewis D.H. *Electrochemical Inactivation of Marine Bacteria*. *J. Electrochem. Soc.* 128, 229 (1981).
20. Shimada K and Shimahara K. *Responsibility of Hydrogen Peroxide for the Lethality of Resting Echerichia coli B Cells Exposed to Alternating Current in Phosphate Buffer Solution*. *Agric. Biol. Chem.* 46, 1329 (1982).
21. Ponta A. and Kullhanck A. *Process for the Electrochemical Decontamination of Water Polluted by Pathogenic Germs with Peroxide Formed in Situ*. U. S. Pat. 4,619,745 (1986).
22. Tatapudi P. And Fenton J. M. *Electrochemical Oxidant Generation for Wastewater Treatment*. in 'Environmental Oriented Electrochemistry.' (Edited by C.A.C. Sequira). Elsevier Science B.V. Amsterdam. (1994).
23. Eibl V. *Electrolytic Purification of Aqueous Liquids in the Presence of Silver Ions*. U. S. Pat. 4,048,032. (1977).
24. Kutz S. M. Landeen L. K, Yahya M.T, Gerba Ch.P., *Microbiological evaluation of copper:silver disinfection units*. Proceedings of the Conference on Progress in Clinical Disinfection. State University of New York, Binghamton. New York. (1988).
25. Richards R. M. E., *Antimicrobial action of silver nitrate*. *Microbios* 31, 83-91, (1981).



26. Nakasono S, Nakamura N., Sode K., and Matsunaga T. *Electrochemical Disinfection of Marine Bacteria Attached on a Plastic Electrode*. Bioelectrochem. Bioenerg. 27, 191 (1992).
27. Thurman R.B., and Gerba Ch. P., *The Molecular Mechanisms of Copper and Silver ion Disinfection of Bacteria and Viruses*. Critical Reviews in Environmental Control, Vol. 18 Issue 4, 295-315. (1989).
28. Domck M.J., Robbins J.E., Anderson M.E., and McFeters G.A., *Metabolism of Escherichia Coli Injured by Copper*. Canadian Journal of Microbiology. 33, 57-62, (1987).
29. Yahya M. T. And Gerba C. P., *Water Disinfection System and Method*. Chem. Abstr. 118, 87342 (1992).
30. Lin Y. E., Vidic R. D., Stout J. E. and Yu V. L. *Effect of Copper and Silver Ionization on Legionella pneumophila Eradication*. Proceedings of the National Conference on the Innovative Technologies for Site Remediation and Hazardous Waste Management. ASCE Pittsburgh, PA USA. (1995).
31. States S., Kuchta J., Young W., Conley L., Ge J. and Costello M. *Controlling Legionella using copper-silver ionization*. J. AWWA Vol 90, No 9. (1998).
32. Rohr U., Weber S., Selenka F. and Wilhelm M. *Impact of Silver and Copper on the Survival of Amoebae and Ciliated Protozoa in Vitro*. Int. J. Hygiene and Environmental Health. 203, p 87 (2000).
33. Cassells J.M., Yahya M.T., Gerba C.P., and Rose J.B., *Efficacy of a combined system of copper and silver and free chlorine in inactivation of Naegleria fowleri amoebae in water*. Wat. Sci. Tech. 31, 5-6, p. 119. (1995).
34. Bosch A., Diez J.M., and Abad F.X. *Disinfection of human enteric viruses in water by copper:silver and reduced levels of chlorine*. Wat. Sci. Tech. Vol. 27, No.3-4, 351-356, (1993).
35. Landeen L.K., Yahya M.T., and Gerba C.P., *Efficacy of Copper and Silver ions and Reduced Levels of Free Chlorine in inactivation of Legionella Pneumophila*. Applied and Environmental Microbiology. 55, p 3045, (1989).
36. Landeen L. K. Yahya M. T., Kutz S. M., *Microbiological evaluation of copper:silver disinfection of units for use in swimming pools*. Wat. Sci. Tech. Vol. 21, No.3, pp. 267-270 (1989).
37. J. Just and A. Szniolis, *J. Am. Germicidal Properties of Silver in Water*. Water Works Assoc., 28, 492, (1936).
38. Silva M. S y Alvarez G. A. *Estudio de una Alternativa Novedosa para Sustitución del Uso del Cloro en Sistemas de Enfriamiento*. Informe Anual IIE/44/11727/1001/P, Instituto de Investigaciones Eléctricas, Cuernavaca Mor., México. (2000).
39. HACH Company. *Water Analysis Handbook*, Loveland Colorado. U.S.A. 379p and 1111p. (1997).
40. IDEXX *Quanti-Tray/2000*. INDEXY Laboratories, INC. US Patent Numbers 4,925,789; 5,429,933; 5,518892.
41. BART™ <http://www.dbi.sk.ca/droycon/Bart-info.html>.
42. A. J. Bard and L. R. Faulkner, *Electrochemical Methods. Fundamentals and Applications.*, p. 19, John Wiley & Sons, New York, Chichester, Brisbane and Toronto, (1980).
43. Pletcher D., and Walsh F.C. *Industrial Electrochemistry*. p. 73, Blackie Academic & Professional, (1993).
44. Normas Oficiales Mexicanas, NOM-001-ECOL-1996.
45. Normas Oficiales Mexicanas, NOM-003-ECOL-1997.
46. National Primary Drinking Water Regulation- EPA's Drinking water Standards. [wysiwyg://35/http://www.epa.gov/safewater/mcl.html](http://www.epa.gov/safewater/mcl.html).
47. Batterman S.A., Mancy K.H., Wang S., Zhang L., Warila J., Lev O., Shuval H., and Fattal B. *Final Report: Evaluation of the Efficacy of a New Secondary Disinfectant Formulation Using Hydrogen Peroxide and silver and the formulation of disinfectant by-products resulting from interaction with conventional disinfectants*. National center for environmental research. June 15, 1998 – June 30, (2001).
48. UK Drinking Water inspectorate Information. [wysiwyg://24/http://www.dwi.gov.uk/cpp/silver.htm](http://www.dwi.gov.uk/cpp/silver.htm).
49. NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-001ECOL-1996, y NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-002ECOL-1996.
50. Modificación a la Norma Oficial Mexicana NOM-127-SSA1-1994.
51. Environment safety Health. Wastewater Discharge Policy. http://www.nrel.gov/csh/reference/envirprot/disc_harg.shtml.

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

TABLE I. Water quality employed in the microbiological tests.

Water	Chemical Parameters, mg l ⁻¹								Coliform Bacteria, MPN/100 ml	
	pH	Calcium*	Magnesium*	Sulfate	Chloride	Alkalinity*	Phosphates	Silica	TC	E. Coli
PPVM	8.0	80	120	20	110	390	19	68	10 ^{8.7}	10 ^{8.3}
III E	7.8	70	32	22	75	98	6	60	10 ^{8.4}	10 ^{8.4}

PPVM.- Make-up cooling water coming from the cooling water system of the Power Plant of Valle de México.

III E.- Wastewater coming from the water treatment plant of the Instituto de Investigaciones Eléctricas.

TC.- Total Coliform.

* mg l⁻¹ as CaCO₃.

TABLE II. Silver required to disinfect different water qualities.

Water	Silver Concentration µg l ⁻¹
Drinking water and mineral waters	25 - 100
Water in swimming pools	150 - 200
Water to make artificial ice	400
Water for washing dishes and utensils in factories preparing food articles	25 - 600

TABLE III. Evaluation of water treatment.

TL _D Range	Effectiveness of the Treatment
< -1.0	Treatment has failed, the bacteria has become much more aggressive in the water
-0.9 a -0.1	Treatment has failed to reduce bacterial loading in the water
-0.1 a +0.1	Treatment ineffective
+0.2 a +0.9	Treatment marginally effective
+1.0 a +2.9	Effective treatment applied but biofouling likely to commence again
> +3.0	Very effective treatment with > 99.9% control

TL_D is the time lag difference created by the treatment, in days.

TABLE IV. Effectiveness of the Treatment using silver/copper system in makeup cooling water

Iron Related Bacteria			Sulfate Reducing Bacteria		
TL _D					
Bacteria Type	1.2 mg l ⁻¹ silver 0.6 mg l ⁻¹ copper	0.6 mg l ⁻¹ silver 1.2 mg l ⁻¹ copper	Bacteria Type	1.2 mg l ⁻¹ silver 0.6 mg l ⁻¹ copper	0.6 mg l ⁻¹ silver 1.2 mg l ⁻¹ copper
Anaerobic bacteria	4	4	Anaerobic bacteria	4	3
Pseudomonads	5	2	Aerobic slime bacterial and SRB consortium	7	0
Heterotrophic bacteria	1	-1	Complex bacterial consortium with SRB present	6	0
Aerobic slime- forming IRB	5	2	TL_D range > -1.0 Treatment has failed, the bacteria has become much more aggressive in the water +1.0 a +2.9 Effective treatment applied but biofouling likely to commence again > +3.0 Very effective treatment with > 99.9% control		
Pseudomonads and Enterics	5	3			

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

122

TABLE V. Effectiveness of the Treatment using silver/copper/chlorine system in sewage wastewater					
Iron Related Bacteria					
<i>TL_D</i>					
Silver/copper/chlorine Mg l ⁻¹ /mg l ⁻¹ /mg l ⁻¹	Anaerobic bacteria	Enteric bacteria	Heterotrophic bacteria	Aerobic slime- forming IRB	Pseudomonads and Enterics
0.2/1.2/0.0	4	0	0	0	0
0.2/1.2/0.3	4	5	1	-1	3
0.2/1.2/1.0	3	4	0	1	3
0.0/0.0/1.0	3	4	0	0	3
0.0/0.0/3.0	2	4	0	1	2
Sulfate Reducing Bacteria					
<i>TL_D</i>					
Silver/ copper /chlorine Mg l ⁻¹ /mg l ⁻¹ /mg l ⁻¹	Anaerobic bacteria	Aerobic slime bacterial and SRB consortium	Complex bacterial consortium with SRB present		
0.2/1.2/0.0	4	0	3		
0.2/1.2/0.3	5	3	6		
0.2/1.2/1.0	4	0	0		
0.0/0.0/1.0	2	-2	-3		
0.0/0.0/3.0	3	0	3		
<i>TL_D</i> range	Treatment effectiveness				
< -1.0	Treatment has failed, the bacteria has become much more aggressive in the water				
-0.1 a +0.1	Treatment ineffective				
+1.0 a +2.9	Effective treatment applied but biofouling likely to commence again				
> +3.0	Very effective treatment with > 99.9% control				

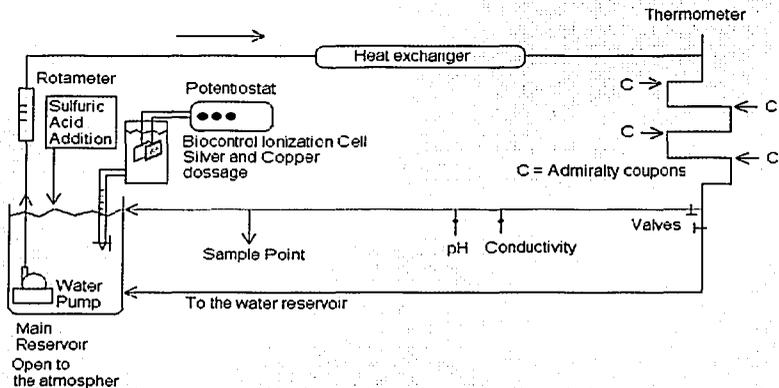


Figure 1. Main parts of the hydraulic circuit.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

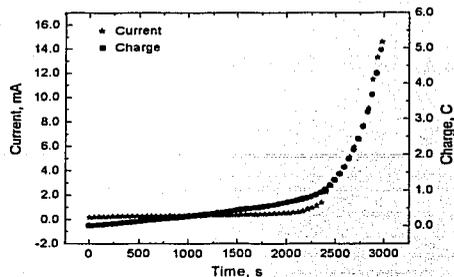


Figure 2. Showing a plot of the current and charge variation as a function of time of silver generation at 5 V in distilled water at room temperature.

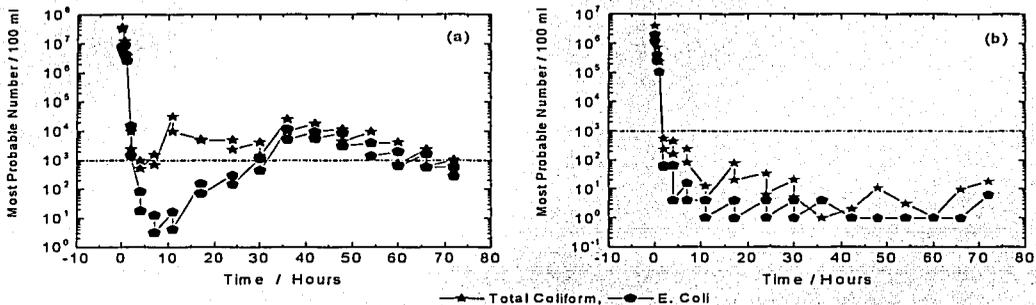


FIGURE 3. Showing two plots of the Most Probable Number of Coliform Bacteria as a function of time. (a) 0.6 mg l^{-1} silver / 0.6 mg l^{-1} copper, (b) 0.6 mg l^{-1} silver / 1.2 mg l^{-1} copper using wastewater.

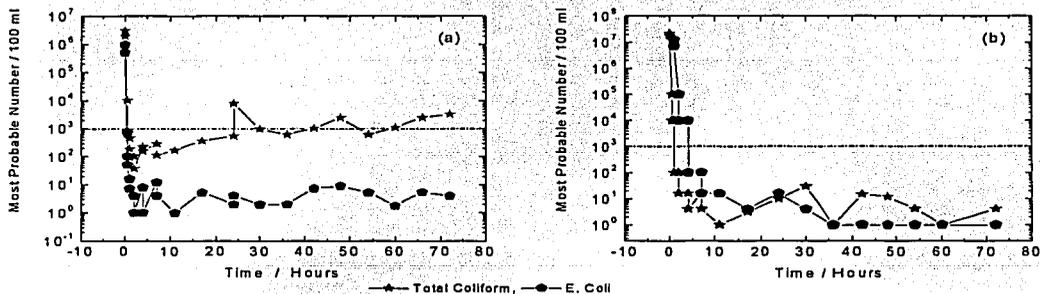


FIGURE 4. Showing two plots of the Most Probable Number of Coliform Bacteria as a function of time. (a) 1.0 mg l^{-1} chlorine, (b) 0.2 mg l^{-1} silver / 1.2 mg l^{-1} copper / 1.0 mg l^{-1} chlorine using wastewater.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

124

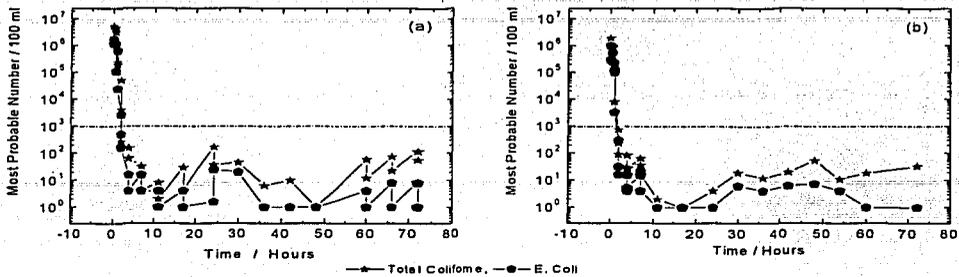


FIGURE 5. Showing two plots of the Most Probable Number of Coliform Bacteria as a function of time. (a) 0.6 mg l⁻¹ silver / 1.2 mg l⁻¹ copper, (b) 1.2 mg l⁻¹ silver / 0.6 mg l⁻¹ copper using make-up cooling water .

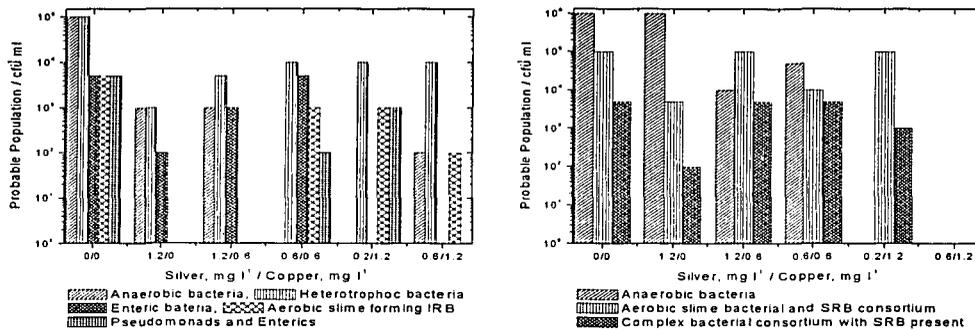


FIGURE 6. Showing Probable Population of IRB and SRB as a function of relation of concentrations of silver/copper biocide systems. (a) IRB, (b) SRB using wastewater. Water sampling 48 hours.

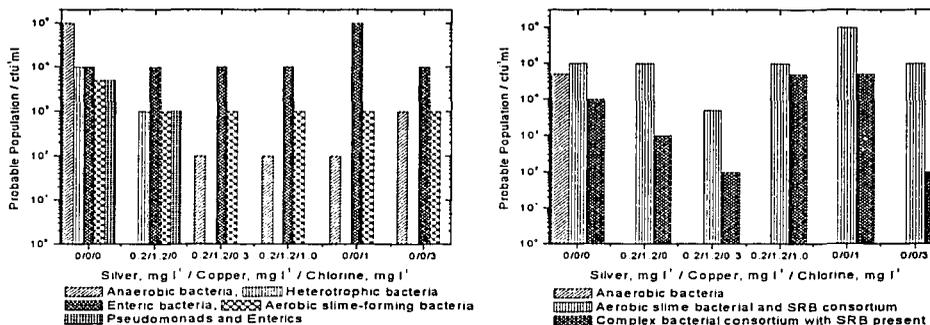


FIGURE 7. Showing Probable Population of IRB and SRB as a function of relation of concentrations of silver/copper/chlorine biocide systems. (a) IRB and (b) SRB, using wastewater. Water sampling 48 hours.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

125

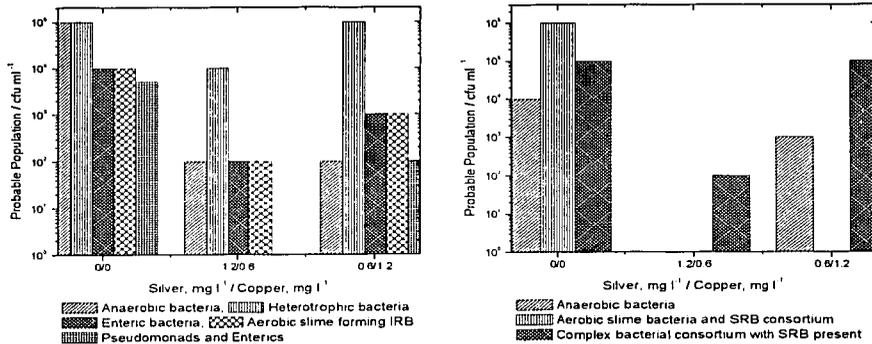


FIGURE 8. Showing Probable Population of IRB and SRB as a function of relation of concentrations of silver/copper biocide systems. (a) IRB and (b) SRB, using make-up cooling water. Water sampling 48 hours.

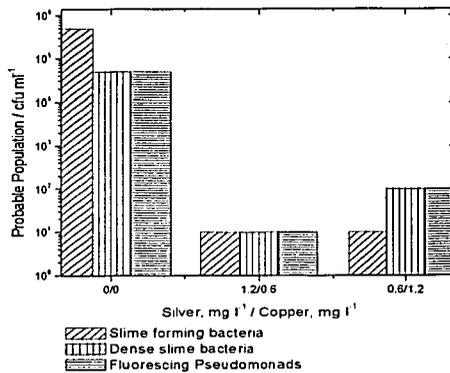


FIGURE 9. Showing Probable Population of Slime Forming Bacteria as a function of relation of concentrations of silver/copper biocide systems, using make-up cooling water. Water sampling 48 hours.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



FIGURE 10. Showing biofouling and biofilm formation in wastewater. Picture taken after water recirculation during 40 days with no pH control and temperature of 27 ± 5 °C.



FIGURE 11. Showing biofouling and biofilm removal by silver (1.2 mg l^{-1}) and copper (0.6 mg l^{-1}) solution after being in contact with for 48 hours.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN