

Diseño de un reactor fotocatalítico (UV-A) para el estudio de la degradación química de 1,2-dihidroxibenceno e inactivación de *E. coli* en aguas simuladas.

David Arturo López Niño

Universidad Nacional Abierta y a Distancia
Escuela de Ciencias Básicas, Tecnología e Ingeniería
Programa de Química
Bogotá, Colombia

2022

Diseño de un reactor fotocatalítico (UV-A) para el estudio de la degradación química de 1,2-dihidroxibenceno e inactivación de *E. coli* en aguas simuladas.

David Arturo López Niño

Trabajo de grado presentado como requisito para optar al título de:

Químico

Director (a):

Mg. Marcela Andrea Zambrano Bothía

Universidad Nacional Abierta y a Distancia

Escuela de Ciencias Básicas, Tecnología e Ingeniería

Programa de Química

Bogotá, Colombia

2022

No puedes esperar construir un mundo mejor sin mejorar a las personas. Con ese fin cada uno de nosotros debe trabajar para su propio mejoramiento y al mismo tiempo, compartir una responsabilidad general con toda la humanidad, nuestro deber particular es ayudar a aquellos a quienes creemos que podemos ser más útiles.

...Marie Curie.

Agradecimientos

Expreso mis agradecimientos a:

Dios primeramente por la vida por la salud de mis padres hermanos y familiares, por brindarme esta oportunidad de culminar esta etapa de mi vida, este trabajo de grado ha sido una gran bendición a nivel personal y familiar, a la Mg. Marcela Zambrano quien me guio durante el desarrollo de este proyecto, quiero resaltar la labor de mis padres por la enseñanza día a día por exigirme siempre mirar hacia adelante sin importar las circunstancias de la vida, en el trascurso de estos años cada proceso, investigación, esfuerzo, trabajo y esmero tienen una recompensa y esta es dedicada hacia ustedes mi hermosa familia.

Resumen

En las últimas décadas, la creciente demanda para la descontaminación de aguas residuales industriales ha generado un desafío científico, técnico y de gran preocupación en pro de buscar mecanismos para dar solución por medio de procesos que apliquen diferentes tecnologías como los Procesos Avanzados de Oxidación (PAO) los cuales son métodos de remediación hídrica que emplean fotocátalisis y radiación como la proveniente de la energía solar o radiación artificial como lámparas de luz ultravioleta. Las reacciones de oxidación intensa y mineralización de los contaminantes pueden incrementarse en presencia de oxígeno molecular o (peróxido de hidrógeno) H_2O_2 , resultando en un proceso altamente eficiente por la formación de especies reactivas de oxígeno que conduce a una degradación eficiente de contaminantes en medio acuoso para formar compuestos con baja toxicidad, poca persistencia o bioacumulación. La presente propuesta de investigación comprende la construcción de un reactor fotocatalítico a escala de laboratorio para evaluar la degradación del contaminante 1,2-dihidroxibenceno e inactivación microbiana de *E. coli* en aguas simuladas, utilizando dióxido de titanio (TiO_2) como semiconductor, una fuente de irradiación artificial con lámparas UV-A con emisión a 365 nm y un agente oxidante que para este caso será utilizado el peróxido de hidrógeno (H_2O_2); siendo esta alternativa de oxidación avanzada de bastante interés investigativo en la comunidad científica como una solución de remediación ambiental que pueda ser aplicada en fuentes hídricas, minimizando los efectos secundarios generados sobre los organismos acuáticos y aves que conviven en dicho ecosistema.

La remediación fotocatalítica de 1,2-dihidroxibenceno y la inactivación de *E. coli* en aguas simuladas, se realizó tras la construcción de un reactor fotocatalítico con fuente de luz UV de 10W a 365 nm basado en el diodo emisor de luz LED – UV energéticamente eficiente por la incidencia lumínica directa y la disminución de la recombinación electrón-hueco que aumenta la eficiencia

fotónica. Para realizar el proceso de degradación de 1,2-dihidroxibenceno se aplicó una concentración de catalizador (TiO_2) a 2000 ppm un pH neutro de 7 obteniendo un 44% de remoción del contaminante. Para evaluar inactivación de *E. coli*, se estudió la curva de crecimiento bacteriano de la cepa ATCC 25922 en medio de cultivo nutritivo, utilizando la técnica de UV-vis. Se realizó barrido espectral desde 200 hasta 800nm, obteniendo la máxima absorción a 300nm y una fase de crecimiento exponencial de 4 a 5 horas a 37° C y pH 7.0, bajo estas condiciones se obtuvo resultados de inactivación microbiana en un 27% de UFC.

Palabras claves: Fotocatálisis, electrón hueco, procesos de oxidación avanzada, aguas simuladas, radiación, oxígeno molecular, *E.coli*, reactor.

Abstract

The increase in the demand of residual water decontamination in last decades has generated a technical-scientific challenge leveraging to find ways to solve through processes that apply some technologies like the Advance oxidation process (AOP), which are methods of hydric remediation that use photocatalysis and radiation like solar energy as source or artificial radiation like ultraviolet light lamps. Intense oxidation reactions and contaminants mineralization could increase if molecular oxygen H_2O_2 (hydrogen peroxide) is present, resulting in a highly efficient process due the formation of reactive species of oxygen, leading an efficient degradation of contaminants un aqueous media to form low toxicity compounds, low persistence or bioaccumulation. The present research proposal includes the construction of a photocatalytic reactor to evaluate the degradation of contaminant 1,2 dihydroxy benzene and *E. coli* microbial inactivation in some simulated waters, using titanium dioxide (TiO_2) as a semiconductor, an artificial radiation source with UV-A lamps with 365nm emission and a oxidizing agent that in this case will be used hydrogen peroxide (H_2O_2), this advanced oxidation alternative being of considerable research interest in the scientific community as an environmental remediation solution that can be applied in hydric sources, minimizing secondary effects generated on the aquatic organisms and birds that coexist in the ecosystem.

The photocatalytic remediation of 1,2-dihydroxybenzene and the inactivation of *E.coli* in simulated waters was carried out after the construction of a photocatalytic reactor with a UV light source of 10W at 365 nm based on the light emitting diode LED - UV energetically efficient due to the direct incidence of light and the decrease in electron-hole recombination that increases photonic efficiency. To carry out the degradation process of 1,2-dihydroxybenzene, a catalyst concentration (TiO_2) was applied at 2000 ppm at a neutral pH of 7, obtaining a 44% removal of

the contaminant. To evaluate the inactivation of *E. coli*, the curve was studied. of bacterial growth of the ATCC 25922 strain in nutritive culture medium, using the UV-Vis technique. Spectral scanning was performed from 200 to 800nm, obtaining the maximum absorption at 300nm and an exponential growth phase of 4 to 5 hours at 37° C and pH 7.0, under these conditions results of microbial inactivation were obtained in 27% of UFC.

Keywords: Photocatalysis, hollow electron, advanced oxidation processes, simulated waters, radiation, molecular oxygen, *E. coli*, reactor.

TABLA DE CONTENIDO

Lista de Anexos.....	13
Introducción	14
Planteamiento del Problema	15
Objetivo General	17
Objetivos Específicos	17
Justificación	18
Marco Teórico.....	20
Fotocatálisis.....	20
Fotocatálisis de semiconductores	20
Fotocatálisis heterogénea empleando dióxido de titanio (TiO ₂).....	22
Reactor fotocatalítico a escala laboratorio.	23
Catecol (1,2-dihidroxibenceno).....	23
Inactivación microbiana por procesos fotocatalíticos.	25
Diseño Metodológico.....	28
Etapa 1. Diseño y construcción del reactor fotocatalítico	28
Etapa 2. Degradación química del 1,2-dihidroxibenceno	31
Etapa 3. Inactivación y cuantificación microbiana de <i>E. coli</i>	32
Inactivación de <i>e-coli</i>	34

Materiales y equipos	34
Preparación de reactivos	34
Activación de la cepa <i>E-coli</i> ATCC2922	35
Curva de calibración de la cepa <i>E-coli</i> ATCC2922	36
Resultados y Análisis	38
Barridos y curvas de calibración del Catecol.	38
Curva de calibración del catecol a 286nm	43
Degradación fotocatalítica del Catecol.	44
Análisis preliminares con peróxido de hidrógeno	44
Reactor fotocatalítica a escala laboratorio.	44
Resultados análisis preliminares barridos y curvas de crecimiento de <i>E. coli</i>	50
Conclusiones	56
Bibliografía	58

Lista de Figuras

Figura 1 <i>Proceso Fotocatalico del TiO₂</i>	21
Figura 2 <i>Estructura cristalina de anatasa y defectos de superficie</i>	25
Figura 3 <i>Reactor Fotocatálitico</i>	29
Figura 4 <i>Microcontrolador software del reactor</i>	29
Figura 5 <i>Componentes eléctricos sistema control del reactor</i>	30
Figura 6 <i>Reactivos utilizados para la siembra y crecimiento de la E-Coli.</i>	35
Figura 7 <i>Cepa ATCC 29522 E-coli</i>	35
Figura 8 <i>Barrido espectrofotométrico manual a 500 ppm entre 280 nm y 300 nm.</i>	38
Figura 9 <i>Barrido espectrofotométrico manual a 100 ppm entre 279nm y 300 nm.</i>	39
Figura 10 <i>Barrido espectrofotométrico automático a 100 ppm entre 279nm y 300nm.</i>	40
Figura 11 <i>Barrido espectrofotométrico automático a 100 ppm entre 200nm y 300nm.</i>	41
Figura 12 <i>Curva de calibración del Catecol a 286nm</i>	43
Figura 13 <i>Reactor Fotocatálitico escala laboratorio.</i>	44
Figura 14 <i>Muestra de agua simulada en el reactor pH 7, 2000 ppm de TiO₂</i>	46
Figura 15 <i>Degradación fotocatalitica del catecol a 1000 ppm de TiO₂ pH 7</i>	49
Figura 16 <i>Degradación fotocatalitica del catecol a 2000 ppm de TiO₂ pH 7.</i>	50
Figura 17 <i>Barrido espectrofotométrico a 300nm de la E-Coli</i>	51
Figura 18 <i>Curva de crecimiento de la E-Coli.</i>	51
Figura 19 <i>Siembra por superficie de E.Coli.</i>	52
Figura 20 <i>Muestra Echerichia Coli ATCC25922 de agua expuesta luz UV-A reactor Fotocatálitico.</i>	53
Figura 21 <i>Degradación fotocatalitica de la E-Coli</i>	54

Lista de Tablas

Tabla 1 <i>Potenciales de oxidación de diferentes compuestos y especies</i>	27
Tabla 2 <i>Máxima Absorbancia barrido Manual a 500 ppm</i>	38
Tabla 3 <i>Máxima Absorbancia barrido Manual a 100 ppm</i>	39
Tabla 4 <i>Máxima absorbancia barrido automático a 100 ppm</i>	40
Tabla 5 <i>Máxima absorbancia barrido automático a 100 ppm</i>	41
Tabla 6 <i>Resumen de barridos máxima absorbancia del Catecol 286nm</i>	42
Tabla 7 <i>Variables diseño experimental</i>	46
Tabla 8 <i>Resultados de degradación fotocatalitica del catecol.</i>	47
Tabla 9 <i>Unidades formadoras de colonias de E-Coli Vs tiempo</i>	52

Lista de Anexos

Anexo 1 <i>Espectrofotómetro Merck Pharo 300</i>	63
Anexo 2 <i>Incubadora Binder BD 53 UL</i>	64
Anexo 3 <i>Cabina de flujo laminar</i>	64
Anexo 4 <i>Balanza Digital Vibra</i>	65
Anexo 5 <i>Autoclave</i>	66
Anexo 6 <i>Bomba de vacío</i>	67
Anexo 7 <i>Agitador Magnético</i>	68
Anexo 8 <i>pH Metro Metler Toledo</i>	69

Introducción

El agua es el recurso natural más importante y la disponibilidad es un tema de alta prioridad. La desinfección del agua es un desafío, y por ello, los PAO con fotocátalisis para procesos degradativos radica en la formación de intermediarios reactivos, oxidantes e inestables, que, a su vez, conducen a reacciones de oxidación intensa y mineralización de los contaminantes, que requieren el uso de reactores que integran condiciones de operación en pro de la degradación, Por su parte, entre los procesos de inactivación microbiana, para prevenir enfermedades se encuentra la desinfección solar que tiene una efectividad ligeramente mayor. en el sentido que no se desconfía de la distribución química.

Planteamiento del Problema

Actualmente, la problemática de contaminación hídrica se ha convertido en protagonista de muchos estudios que buscan una posible remediación y manejo de los efectos causados al ambiente por las actividades antrópicas y la mala disposición de residuos industriales, particularmente el 1,2-dihidroxibenceno o Catecol, empleado en adhesivos poliméricos, pesticidas, cosméticos y farmacia que se integra en la industria colombiana.

Como tratamientos previos para la disposición de aguas, se ha impulsado el desarrollo de nuevas tecnologías eficientes para degradar químicamente compuestos orgánicos en medio acuoso como los PAO. Por otra parte, es posible mencionar que además de la contaminación química, se requieren tratamientos para reducir la carga contaminante. Con base a patrones de referencia físicos y biológicos de este último, se destaca la *E. coli* como microorganismo indicador de la calidad microbiológica de agua, por su origen intestinal y su presencia en heces fecales (Oturán et al., 2014).

Por otra parte, es posible mencionar que además de la contaminación química, los recursos hídricos se encuentran bajo un creciente cambio físico químico y microbiológico debido al crecimiento de la población, el uso excesivo y el desperdicio. La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que 884 millones de personas no tienen acceso a buenos suministros de agua, y muchos más se ven obligados a confiar en fuentes microbiológicamente inseguras, lo que resulta en un mayor riesgo de enfermedades transmitidas por el agua, incluida la fiebre tifoidea, la hepatitis y el cólera (Clasen et al., 2010). De acuerdo con esto y teniendo en cuenta que la calidad del agua se puede alterar por vertimiento de aguas residuales que requieren un tratamiento previo para reducir la carga contaminante; con base a patrones de referencia físicos, químicos y biológicos de este último, se destaca la *E. coli* como

microorganismo indicador de la calidad microbiológica de agua, por su origen intestinal y su presencia en heces fecales (Resolución 0631 de 2015).

Sin embargo, el posible tratamiento de la contaminación en aguas generada por compuestos químicos y fuentes microbiológicas es una alternativa de amplio estudio debido a las diferentes metodologías que implican un bajo costo, factibilidad en la aplicación, porcentaje de degradación o inactivación microbiana. Es por ello, que una opción es la utilización de los POAs, que disminuyen la toxicidad de los efluentes y aumentan la biodegradabilidad de la carga contaminante; para ello es importante diseñar reactores ajustados a las condiciones del contaminante, variables de degradación, entorno del contaminante, entre otras consideraciones. De hecho, para esta propuesta se evaluará la degradación del contaminante 1,2-dihidroxibenceno o Catecol, útil en adhesivos poliméricos, pesticidas, cosméticos y farmacia que se integra en la industria colombiana. Por lo anterior, surge el siguiente cuestionamiento:

¿Qué variables de diseño y condiciones de reacción son necesarias en un reactor fotocatalítico (UV-A) para el estudio de degradación del catecol e inactivación microbiana de *Escherichia coli* en un sistema simulado?

Objetivos

Objetivo General

Diseñar un reactor fotocatalítico con radiación ultravioleta para la degradación del contaminante catecol e inactivación microbiana de *E. coli* en aguas simuladas.

Objetivos Específicos

- Establecer las variables de operación para el diseño de un reactor fotocatalítico (UV-A) para la degradación de catecol e inactivación de *E. coli* en aguas simuladas.
- Optimizar las variables del reactor fotocatalítico (UV-A), para el proceso de degradación de 1,2-dihidroxibenceno en aguas simuladas.
- Evaluar la inactivación microbiana de *E. coli* en agua simulada con 1,2-dihidroxibenceno en el reactor fotocatalítico (UV-A).

Justificación

El agua es el recurso natural más importante y su disponibilidad es un tema de alta prioridad para la existencia humana y la calidad de vida. La desinfección del agua es un desafío, y por ello, los PAO con fotocátalisis para procesos degradativos radica en la formación de intermediarios reactivos, oxidantes e inestables, que, a su vez, conducen a reacciones de oxidación intensa y mineralización de los contaminantes, que requieren el uso de reactores que integran condiciones de operación en pro de la degradación, tales como pH, temperatura, intensidad de la radiación o tiempo de residencia, diseño del reactor, naturaleza y concentración del contaminante (Christoforidis *et al.*, 2010).

La concentración de estas especies reactivas puede incrementarse en presencia de H_2O_2 , resultando en un proceso altamente eficiente por la formación de especies reactivas de oxígeno en altas concentraciones, lo que conduce a una degradación eficiente de contaminantes en medio acuoso para formar compuestos y/o residuos con baja toxicidad, poca persistencia o bioacumulación (Christoforidis *et al.*, 2010), (Oturán *et al.*, 2014); que puedan ser no biodegradables o peligrosos en mezclas orgánicas, así como presentar una compleja degradación con tratamientos convencionales (Hansberg, W., 2002). Además de esto, los catalizadores que se emplean (como TiO_2), presentan ventajas al ser disponibles comercialmente, no tóxicos y fotoquímicamente estables (Miklos *et al.*, 2018).

No obstante, la utilización de fotocátalisis en estos procesos dispone el diseño de reactores que integran el volumen, la potencia radiante de la zona y demás condiciones que favorezcan la degradación del contaminante. Por ejemplo, para esta investigación se utilizará el 1,2-dihidroxibenceno como contaminante, que es aplicado en reveladores fotográficos, aceites lubricantes, inhibidores de polimerización y productos farmacéuticos (Lofrano *et al.*, 2009). Este compuesto se caracteriza por tener dos grupos hidroxilo sustituidos en un anillo aromático, y

aunque no está catalogado por la *Environmental Protection Agency* (EPA) como un contaminante prioritario, se encuentra actualmente catalogado por la *Canadian Environmental Protection* (CEPA) y la *International Agency for Research on Cancer* (IARC) como un posible compuesto carcinógeno para el ser humano y con acción tóxica en la fauna de sistemas acuáticos (NIH., s.f.)

En este caso, el interés por estudiar la degradación química del 1,2-dihidroxibenceno y la inactivación microbiana, nace de la necesidad de buscar una solución de remediación ambiental que se pueda aplicar en fuentes hídricas, minimizando los efectos secundarios generados sobre los organismos acuáticos y aves que conviven en dicho ecosistema.

Respecto a los procesos de inactivación microbiana, se ha informado el costo-efectividad de tratamientos para prevenir enfermedades como la diarrea (Clasen y Haller, 2008) usando diversos métodos como: la cloración con hipoclorito de sodio; la filtración por gravedad utilizando filtros comerciales; la desinfección solar; y la desinfección por floculación. De estos métodos, la cloración, aunque es un poco más rentable, y la desinfección solar tienen una efectividad ligeramente mayor. Dado que la cloración doméstica requiere la distribución homogénea de hipoclorito de sodio, y la desinfección solar tiene una gran ventaja en el sentido que no se desconfía de la distribución química (Giannakis *et al.*, 2015).

Por lo anterior, se propuso la aplicación de un reactor fotocatalítico que emplea luz UV-A para la degradación del compuesto químico 1,2-dihidroxibenceno a través de especies reactivas de oxígeno producidas por la activación de un sólido inorgánico, como el Dióxido de Titanio (TiO_2) y que de forma simultánea involucre la inactivación microbiana que podrá ser determinada por la disminución de la carga bacteriana de *E. coli* como microorganismo indicador del proceso.

Marco Teórico

El presente marco referencial muestra el estudio realizado a escala laboratorio de la degradación química del 1,2-dihidroxibenceno e inactivación microbiana de *E-coli* a través de fotocatalisis heterogénea.

Fotocatalisis

En los últimos años, se han implementado diversos métodos de remediación, entre ellos los PAO que son considerados eficientes y prometedores para degradar contaminantes. La fotocatalisis se define como una reacción catalítica que requiere la absorción de energía, donde la reacción se lleva a cabo por una acción fotoquímica de un determinado compuesto, a causa de su interacción con una especie química fotosensible (Bäckvall, J., 2010) (Oturán *et al.*, 2014).

La clasificación de la fotocatalisis está determinada por fotocatalisis homogénea donde todos los elementos presentes en el proceso de degradación, como el catalizador y el sustrato, se encuentran en la misma fase; caso contrario el que se presenta en la fotocatalisis heterogénea, donde dichos elementos deben encontrarse en diferente fase (Klavarioti, M., 2013).

Fotocatalisis de semiconductores

La fotocatalisis heterogénea se ha reportado en la literatura como eficiente en la degradación y mineralización de compuestos orgánicos bajo la acción de semiconductores como ZnO, TiO₂, WO₃, Fe₂O₃, y SnO₂. Este proceso se desarrolla cuando la incidencia de la energía ($h\nu$) de un fotón es igual o mayor a la energía del ancho de banda del semiconductor (E_g), produciendo la excitación de un electrón desde la banda de valencia (BV) hasta la banda de conducción (BC), generando un electrón hueco (ausencia del electrón: e^-/h^+) en la BV del material semiconductor (Maroga, V, *et al.*, 2012).

El catalizador activado por la absorción de luz acelera el proceso interaccionando con el reactivo a través de un estado excitado (C^*) o bien mediante la aparición de pares electrón/hueco si el catalizador es un semiconductor (ey h^+), en este caso los electrones excitados son transferidos hacia la especie reducible, a la vez que el catalizador acepta electrones de la especie oxidable que ocuparán los huecos, de esta forma el flujo neto de electrones será nulo y el catalizador permanecerá inalterado. Este trabajo está fundamentado en el siguiente proceso. La especie que absorbe fotones (C) es activada y acelera el proceso interactuando con las otras especies en su nuevo estado de excitación (C^*). En el caso de los procesos heterogéneos, la interacción de un fotón sobre dicha especie permite la aparición del par electrón-hueco (ey h^+), y el catalizador usado actúa como un semiconductor. En este caso los electrones excitados son transferidos a la especie reductora (Ox_1) al mismo tiempo que el catalizador acepta electrones de la especie oxidable (Red_2) la cual ocupa los espacios huecos. (Cassano, et al., 2012).

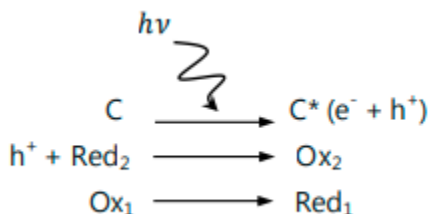
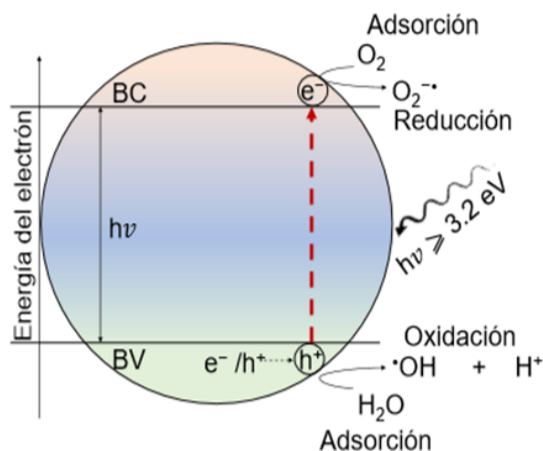


Figura 1

Proceso Fotocatalítico del TiO_2



Fuente: (Fernández, 2013).

Fotocatálisis heterogénea empleando dióxido de titanio (TiO₂)

La fotocatalisis inducida con luz solar es uno de los métodos empleados en el tratamiento de aguas residuales, siendo muy eficiente, y alcanzando en muchos casos la degradación completa de los contaminantes o la mineralización (Maroga, V, *et al.*, 2012).

En los últimos años, se ha reportado el uso de dióxido de titanio (TiO₂) como fotocatalizador para el tratamiento del agua; cuando el TiO₂ es irradiado con una longitud de onda <380 nm produce reactivos altamente activos como radicales hidroxilos generados a través de la oxidación del agua. Se ha demostrado que estas especies mineralizan una amplia gama de compuestos orgánicos, incluidos los aromáticos y alifáticos, tintes, pesticidas y herbicidas.

Las propiedades desinfectantes de la luz UV por sí sola, ha demostrado ser muy efectiva para propósitos de desinfección, sin embargo, deben ser considerados aspectos como las diferentes respuestas de los microorganismos a los efectos letales de la luz UV. La elección de la longitud de onda UV es importante ya que el mecanismo de inactivación inducida por la luz UV difiere con las diferentes longitudes de onda utilizadas (Robertson *et al.*, 2005).

Reactor fotocatalítico a escala laboratorio.

Al momento de diseñar este tipo de reactores, se deben considerar variables como la agitación que se realice a la muestra que se degrade para asegurar una mezcla de los reactivos y catalizadores, el tipo de fuente de energía que por lo general son lámparas de luz de xenón o ultravioleta, cuya longitud de onda es otro factor a considerar, así como su ubicación para lograr una exposición de luz eficiente; también se encuentra la disposición del catalizador y en algunos casos, un sistema de refrigeración para mantener la temperatura constante el proceso de reacción fotocatalítica (Ramírez, Y., 2013). Otro de los aspectos para tener en cuenta, es la dimensión del reactor, ya que de este depende el número de fotones que interacciona con el reactor, así como la suspensión del catalizador en la fase acuosa, con el fin de evitar su sedimentación y se pierda el área superficial de contacto entre el catalizador y los reactivos en la reacción de degradación. Los reactores foto catalíticos más comunes son aquellos que tienen ubicada la lámpara de luz UV-A en el centro o perímetro del reactor, ya que se ha comprobado que alcanzan un buen rendimiento energético, requerido para el proceso de fotocatalisis. (Gómez, S., 2012).

Catecol (1,2-dihidroxibenceno)

El 1,2-dihidroxibenceno es un bencenodiol derivado, que se caracteriza por ser un compuesto altamente tóxico para el ser humano, los mamíferos y la vida acuática, y posee alta carcinogenicidad (Kermani *et al.*, 2018) (NIH., s.f.). Para el ser humano, la exposición aguda o crónica puede generar irritaciones cutáneas hasta efectos en el sistema nervioso central, mientras que, para los animales, se refleja en el aumento de su presión arterial, considerándose un compuesto muy tóxico con una dosis letal a partir de los 50 mg (Bingham *et al.*, 2001).

Anualmente se producen cerca de 20.000 toneladas y es un precursor de pesticidas, fragancias, productos textiles, reveladores fotográficos, inhibidores de polimerización, productos

farmacéuticos y en la industria petroquímica (Lofrano *et al.*, 2009), de los cuales se estima que el mayor uso se destina a la producción de pesticidas y fármacos, por lo que se puede encontrar como contaminante en efluentes industriales. Este compuesto se obtiene mediante la fusión del ácido pícrico con hidróxido de bario, calentando una solución 2-clorofenol con hidróxido de sodio a 200°C o por la separación del grupo metil-éter del 2-metoxifenol con ácido peryódico (Budabary, 2013).

Algunos estudios sobre la degradación de catecol con aplicación de métodos catalíticos han reportado que se alcanza una remoción del 99% a partir de una concentración inicial de 1000 mg/L, con un tiempo de reacción de 60 minutos, bajo la acción de $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4$ como catalizador sintetizado y de ozono como agente oxidante, en donde predominaron los radicales hidroxilos que contribuyeron de manera significativa en la degradación de catecol (Kermani *et al.*, 2018). Por su parte, Gogoi *et al* (2017) quienes trabajaron con un nanocompuesto de $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-CeO}_2$, identificaron que la degradación de catecol en medio acuoso con peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y temperatura ambiente fue de 89,2% a pH neutro, iniciando con una concentración de 252 mg/L y terminando con 27 mg/L. También se han reportado estudios con procesos foto-Fenton, en donde se ha llegado a tener una remoción después de 30 minutos, del 83% en presencia de H_2O_2 y FeSO_4 , para una concentración inicial de 110 mg/L de catecol; con estas condiciones se aplicó un proceso de fotocatalisis, en donde se obtuvo como resultado la eliminación del carácter aromático del catecol, para una concentración inicial de 50 mg/L, mientras que al cambiar el catalizador por TiO_2 y un tiempo de reacción de 4 horas con el mismo precursor de especies del oxígeno, se logró la remoción total de catecol (Lofrano *et al.*, 2009).

Inactivación microbiana por procesos fotocatalíticos.

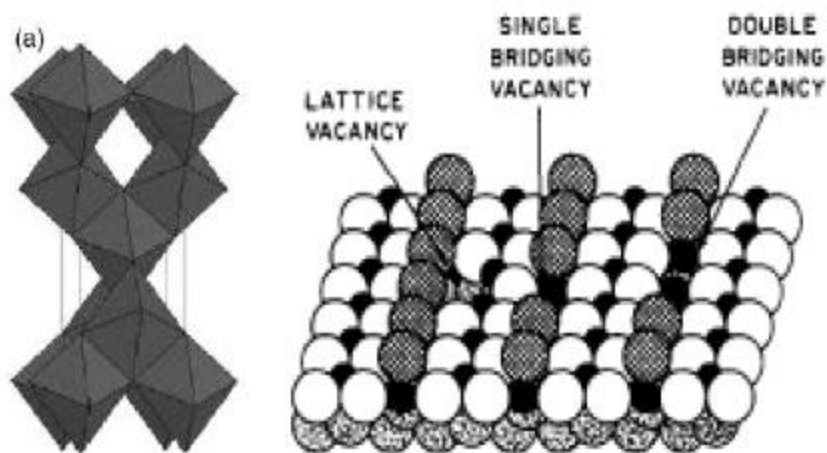
La desinfección del agua con energía solar se ha llevado a cabo desde la época egipcia. La inactivación de diferentes microorganismos como (virus, hongos y bacterias) con titanio, donde *E. coli* y TiO_2 son los microorganismos y catalizadores más estudiados, respectivamente (Byrne *et al.*, 2011), demuestran que al iluminar con radiación UV-A, se logran inactivar las células microbianas en el agua. De aquí el interés en las aplicaciones de desinfección de este proceso, muchas de las cuales incluyen la desinfección del agua potable en ambientes industriales y sanitarios (Helali *et al.*, 2014), (Joyce *et al.*, 1996) (Chen *et al.*, 2017).

Por su parte, Grieken *et al.*, (2010) a través de experimentos de desinfección fotocatalítica usando microorganismos indicadores de contaminación fecal, *E. coli* (gram negativa) y *Enterococcus faecalis* (gram positiva) demostraron que la radiación requerida para alcanzar la inactivación de las bacterias por debajo del límite de detección fue igual para ambos organismos; concluyendo que a pesar de sus diferencias estructurales, parecen seguir el mismo mecanismo de inactivación, y no muestran diferencias significativas en los experimentos llevados a cabo con TiO_2 en suspensión en agua desionizada o en efluentes simulados de aguas residuales. De esta manera, los resultados de los experimentos de desinfección fotocatalítica que utilizan *E. coli* como bacterias modelo podrían extrapolarse razonablemente a otros tipos de bacterias o mezclas de bacterias tanto *gram* negativas como *gram* positivas.

El TiO_2 se utilizó en forma de Anatasa estructura que presenta mayor actividad fotocatalítica están compuestas por octaedros conectados en sus vértices la figura 2 muestra la configuración de la Anatasa a nivel superficial en el proceso de adsorción.

Figura 2

Estructura cristalina de anatasa y defectos de superficie



Fuente: Linsebigler, A., Lu, G., Yates, J. *Photocatalysis on TiO₂ Surfaces: Principles, Mechanisms, and Selected Results*. En: Chemical Reviews. Volumen 95. 1995.

Los procesos fotocatalítico se basan en la irradiación en suspensiones de óxidos semiconductores, generalmente dióxido de titanio (TiO₂), en presencia de las especies contaminantes que se quieren degradar. Si los fotones suministrados al sistema tienen la energía adecuada, se origina en el semiconductor una separación de cargas (pares electrón hueco). Entre otros procesos, los huecos pueden dar lugar a la formación de radicales hidroxilos ($\bullet\text{OH}$), especies de alto poder oxidante capaces de reaccionar con una gran variedad de compuestos orgánicos, conduciendo en último término a su completa mineralización (Sobczynski *et al.*, 2017).

El radical hidroxilo generado en este proceso es un poderoso oxidante debido a la alta reactividad. Esta especie es inestable y puede ser producido de forma continua in situ por medio de reacciones químicas y fotoquímicas.

El potencial de oxidación del radical hidroxilo es de 2.80 V, el cual es el segundo mejor potencial por debajo del flúor y, por otro lado, este radical tiene una gran diferencia con respecto a la velocidad de reacción con distintos compuestos.

Tabla 1*Potenciales de oxidación de diferentes compuestos y especies*

Especies de oxidación	Potencial de oxidación
Flúor	3.03
Radical Hidroxilo	2.80
Oxígeno atómico	2.42
Ozono	2.07
Peróxido de hidrógeno	1.77
Permanganato	1.67
Ácido hipobromoso	1.59
Dióxido de cloro	1.50
Ácido hipocloroso	1.49
Ácido hipoyodoso	1.45
Cloro	1.36
Bromuro	1.09

Fuente: (Rodriguez *et al.*, 2002).

Diseño Metodológico

La propuesta de investigación es de tipo aplicada y su desarrollo metodológico se realizará en 3 etapas, en las cuales traza una ruta para el diseño del reactor y su aplicación en la degradación química de 1,2-dihidroxibenceno e inactivación microbiana *E. coli*, a través de especies reactivas de oxígeno provenientes de la inyección de oxígeno molecular y peróxido de hidrógeno, producidas por la activación de TiO_2 como catalizador, con radiación de luz ultravioleta (UV-A). Las variables por estudiar serán la concentración del sustrato, pH, cantidad de catalizador, tiempo de reacción y cantidad de agente oxidante.

Etapa 1. Diseño y construcción del reactor fotocatalítico

El reactor fotocatalítico a escala a de laboratorio, se construyó con base a lo reportado por Gómez, Gómez, S (2012), en el cual se empleó una lámina de MDF para la construcción de la estructura de 30x40x30 cm dispuesta para el acople de un sistema de agitación magnética con una puerta en la parte frontal y un interruptor que permite el encendido automático de la lámpara cuando el sistema se ponga en funcionamiento.

Para el sistema de radiación, se empleó una lámpara LED-UV de 10W con emisión a una longitud de onda de 365 nm, controlada a través de algoritmos montados sobre un sistema embebido basado en el microcontrolador Atmega 328p para obtener funcionalidades de temporización y alarma, control de radiación y monitoreo de datos vía display LCD. El sistema LED-UV se ubicó en la parte superior del reactor por la recombinación de electrón-hueco, aumentando la eficiencia fotónica, con luz direccional con la máxima potencia emitida en la dirección perpendicular a la superficie emisora (Kasu *et al.*, 2006), (Chen *et al.*, 2007), El diseño de ingeniería del proyecto se desarrolló con un software del sistema de control que automatiza

algunas funciones del reactor bajo un lenguaje de programación C++ sobre un microcontrolador Atmega 328P.

Figura 3

Reactor Fotocatalítico

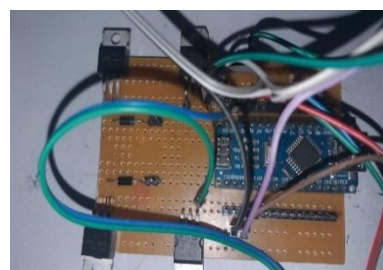
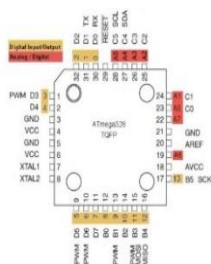


Fuente: autor.

En este apartado se inició el desarrollo del software del sistema de control que automatizaría algunas funciones del reactor se utilizó el lenguaje de programación C++ sobre un microcontrolador Atmega 328P.

Figura 4

Microcontrolador software del reactor

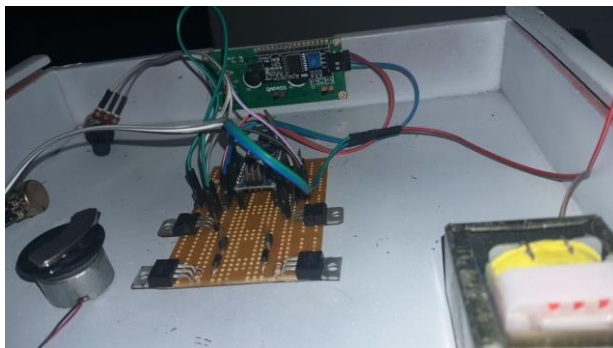


Fuente: autor

El sistema permite ajustar el porcentaje de potencia de consumo y por consiguiente el nivel de intensidad de radiación UV, para lograrlo se programaron los registros de control del timer1 del microcontrolador para de esta manera a través del pin 10 obtener una modulación por ancho de pulso PWM que controla el duty cycle de una señal cuadrada que integrada a una carga se tiene control de la tensión RMS DC de alimentación de la misma, además se requiere ajustar el número de RPM y por consiguiente la velocidad e agitación de muestras, para lograrlo se programaron los registros de control del timer1 del microcontrolador para de esta manera a través del pin 9 obtener una modulación por ancho de pulso PWM que controla el duty cycle de una señal cuadrada que integrada al motor se tiene control del voltaje de alimentación y del número de revoluciones por minutos entre otras variables. Finalmente se hace necesario contar con temporización en cuenta regresiva luego de configurada las funciones mencionadas en este caso se creó un algoritmo que decrementa variables de tipo integer con cantidades registradas en segundos que deben desplegarse en un display líquido. Para lograrlo se hace uso de la librería wire y la de comunicación i2C y con un convertidor I2C conectado al display LCD 16x2 se despliega la información en tiempo real del estado de tiempo restante.

Figura 5

Componentes eléctricos sistema control del reactor



Fuente: autor

Las cargas de UV es de tipo light emitting diode el cual polarizado en directa es capaz de emitir radiación electrométrica con longitud de onda de 395nm, se alimenta con 12 voltios y se cuenta con una etapa de potencia con tecnología MOSFET canal N para el control de carga.

El motor es requerido para realizar el sistema de agitación controlada y para ello se usa un motor DC con un imán de neodimio, eléctricamente conectado a un MOSFET de potencia.

Etapas 2. Degradación química del 1,2-dihidroxibenceno

Se trabajará con base a modificaciones de los métodos reportados por Kermani et al., (2018), Gogoi et al., (2017) y Gómez (2012), en donde se preparará una solución de 50 mg/L de 1,2-dihidroxibenceno, en un volumen de 100 mL, y se tendrán variables experimentales de pH (2 a 10), dosis del catalizador TiO_2 (0,1 a 2,0 g/L), tiempo de reacción con agitación (300 a 700 rpm) hasta 180 min, y como agente oxidante se empleará flujo de aire por la acción de una bomba de pecera, así como la adición de peróxido de hidrógeno (H_2O_2) de 0 a 600 ppm. Para el ajuste de pH se emplearán soluciones 1,0 M de ácido sulfúrico (H_2SO_4) o hidróxido de sodio (NaOH), según corresponda. Los ensayos del proceso de degradación se realizarán por triplicado y se hará reuso del catalizador para determinar su comportamiento en la degradación.

La determinación degradativa del sustrato se analizó en un espectrofotométrico UV-vis para conocer la concentración final, a partir de la preparación de una curva de calibración de 25 a

200 ppm a una longitud de onda de 285 nm; la lectura de cada ensayo se realizó posterior a un proceso de centrifugado y filtración con membrana de 0,45 μm .

Etapas 3. Inactivación y cuantificación microbiana de *E. coli*

Se realizarán experimentos de inactivación microbiana, manteniendo las condiciones de los reactores en ausencia del sustrato. Para los experimentos de inactivación microbiana, se empleará *E. coli* como organismo indicador de prueba para la desinfección fotocatalítica por su amplio uso como indicador fecal y su resistencia a los efectos bactericidas de la radiación solar en relación con otras bacterias (*Pseudomonas*, *Shigella* y *Salmonella*) ya que es seguro, fácil de usar y cultivar (Chen *et al.*, 2011).

De acuerdo con Helali *et al.*, (2014) se tomará una única colonia de *E. coli* del cultivo stock y se su cultivará en medio Luria Bertani (LB) mediante incubación durante 18 horas a 37°C. De esta suspensión se obtendrá un sedimento bacteriano a partir del cual se ajustarán las concentraciones de células para los inóculos con densidades de 10⁷ a 10⁹ UFC/mL según escala de McFarland. El sedimento se dispondrá en una suspensión con solución salina para evitar el estrés osmótico y se dispondrán en 100 mL agua simulada con la concentración de agente oxidante, pH y cantidad de catalizador que fueron establecidas como efectivas en la degradación química del sustrato; además, se realizarán ensayos con ausencia de agente oxidante y catalizador, con el fin de determinar su influencia en la inactivación microbiana y recrecimiento bacteriano después de la irradiación. Posteriormente, se llevará el agua simulada al reactor por el tiempo de 180 minutos con agitación a 700 rpm.

Para las determinaciones de la carga bacteriana se realizarán muestreos con agitación suave cada 30 minutos. En cada punto de tiempo se extraerán 2,0 mL y se colocarán en placa en agar PCA (Plate Count Agar) para la determinación del recuento de bacterias viables. Se

realizarán alícuotas diluidas, cuando fuese necesario, para lograr conteos medibles en las placas de Petri. Se extraerá una muestra y se mantendrá en matraz de plástico estéril en condiciones de oscuridad por una hora a temperatura ambiente (25 °C), para las mediciones de supervivencia / recrecimiento bacteriano post-irradiación, después de 24 y 48 h. El muestreo se realizará por duplicado y las siembras se realizarán por duplicado, de 2 a 3 diluciones consecutivas.

Al finalizar el proceso de experimentación y cuantificación microbiana, los cultivos, cajas de petri, caldos y todo el material utilizado para los experimentos, serán sometidos a esterilización en autoclave.

Se tomó una única colonia de *E. coli* del cultivo stock de cepa ATCC 25922, la bacteria hace parte del cepario de la universidad Nacional Abierta y a Distancia UNAD la cual se realiza un proceso de conservación de este microorganismo en glicerol y a una temperatura de -20°C. Se realiza una activación de la bacteria con caldo nutritivo durante 24 horas a 37°C. Esta suspensión se llevó a obtención de biomasa bacteriana en condiciones controladas de temperatura y pH para luego ser conservada en viales de 10ml como cepa de trabajo, a partir de la anterior suspensión se realizaron activaciones de la cepa en caldo nutritivo a 37°C durante 4 horas, tiempo en el que previamente se identificó mediante el estudio de la curva de crecimiento de la cepa, el tiempo óptimo para su crecimiento en fase exponencial, fase donde se obtiene la tasa de crecimiento óptimo del microorganismo.

Inactivación de *e-coli*.

Materiales y equipos

- Tubos falcón
- Erlenmeyer de 100 y 250 ml
- Micro pipeteador
- Puntas estériles
- Cajas de Petri
- Beaker
- Espectrofotómetro
- Incubadora
- Autoclave
- Bomba de vacío
- Balanza analítica
- Cabina de flujo laminar

Preparación de reactivos

1. Agar Nutritivo

Disolver 20 g en 1000 ml de agua destilada

2. Caldo Nutritivo

Disolver 8 g en 1000 ml de agua destilada

Figura 6

Reactivos utilizados para la siembra y crecimiento de la E-Coli.



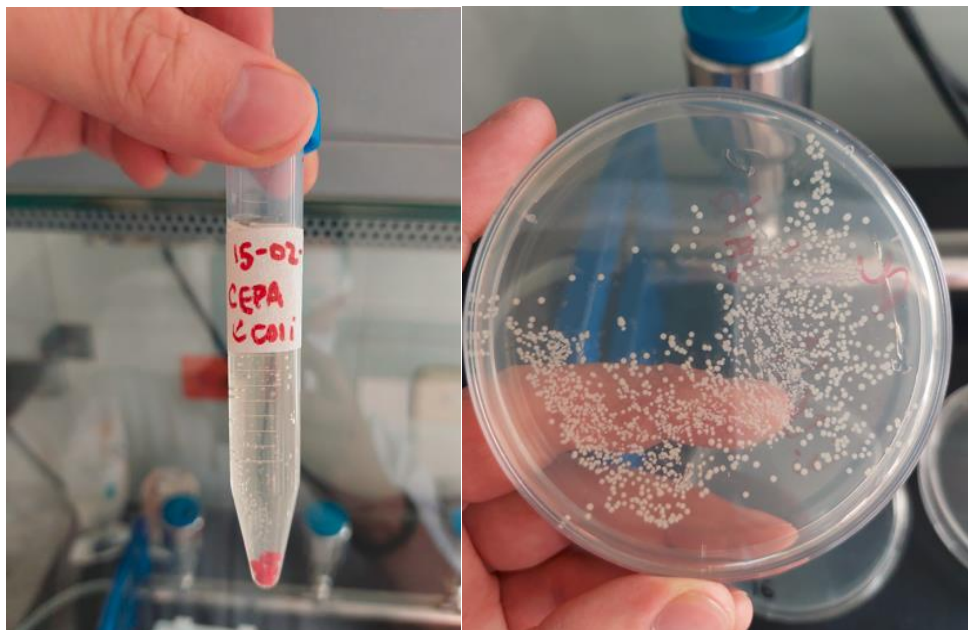
Fuente: autor

Activación de la cepa *E-coli* ATCC2922

1. Alistar 2 tubos falcón agregar 9 ml de caldo nutritivo en cada uno.
2. Disponer 2 perlas de *E-Coli* en el segundo tubo.
3. Incubar a 37°C durante 24 horas.

Figura 7

Cepa ATCC 29522 E-coli



Fuente: autor

Curva de calibración de la cepa *E-coli* ATCC2922

1. En un Erlenmeyer de 250 ml agregar 100 ml de caldo nutritivo.
2. Del tubo falcón activado con la bacteria agregar 1 ml al Erlenmeyer.
3. En un segundo Erlenmeyer de 250 ml agregar 50 ml de caldo nutritivo.

(Control sin bacteria). (B) muestra para el 0

4. Tapar con algodón la tapa de los dos Erlenmeyer.
5. Incubar de 24 horas a 37° C
6. Empezar a realizar la curva de crecimiento tiempo Vs ABS,
7. Se debe retirar el tapón de algodón del Erlenmeyer con mucho cuidado que

no se contamine el cultivo, para prevenir la contaminación se debe retirar el algodón con el mechero encendido e inmediatamente flamear la boca del Erlenmeyer con la llama del mechero.

8. Con una pipeta automática extraer del cultivo (A) 2 ml para la celda del espectrofotómetro y leer ABS desde la hora 0 hasta la hora 8.

9. En la cabina de flujo laminar sembrar las muestras cada hora por el método de superficie extensión en placa previamente solidificado el agar nutritivo, mediante estas técnicas se obtienen colonias aisladas a partir de una muestra que contenga un elevado número de bacterias.

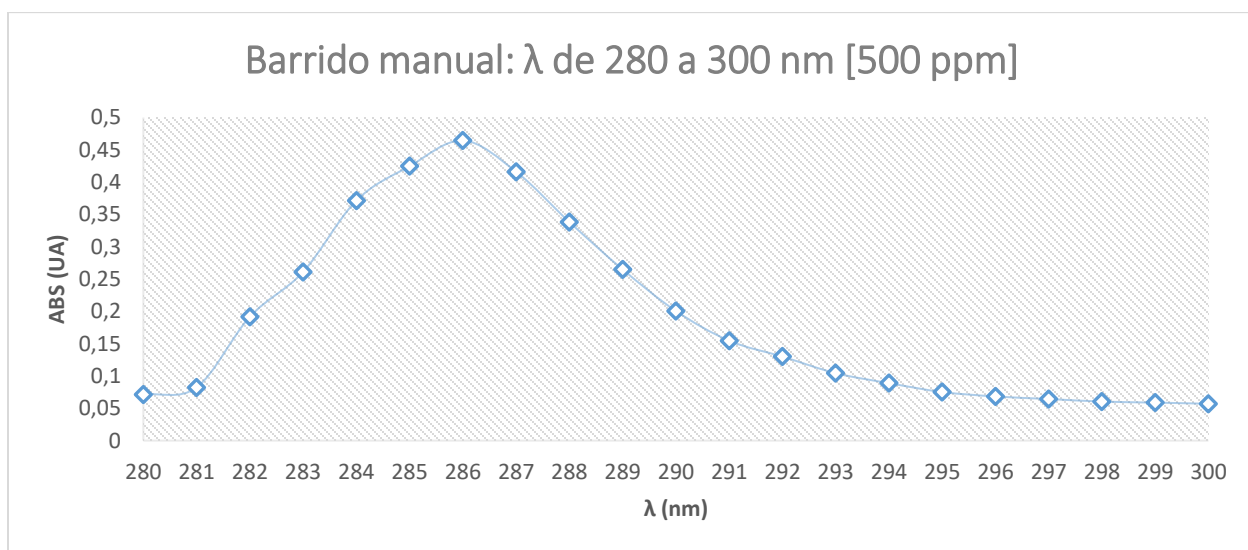
Resultados y Análisis

Barridos y curvas de calibración del Catecol.

En la etapa de degradación química del 1,2-dihidroxibenceno, se realizaron dos barridos manuales y dos barridos automáticos de absorción para determinar la de longitud de onda máxima del Catecol a concentraciones de 100ppm y 500 ppm.

Figura 8

Barrido espectrofotométrico manual a 500 ppm entre 280 nm y 300 nm.



Fuente: autor

Tabla 2

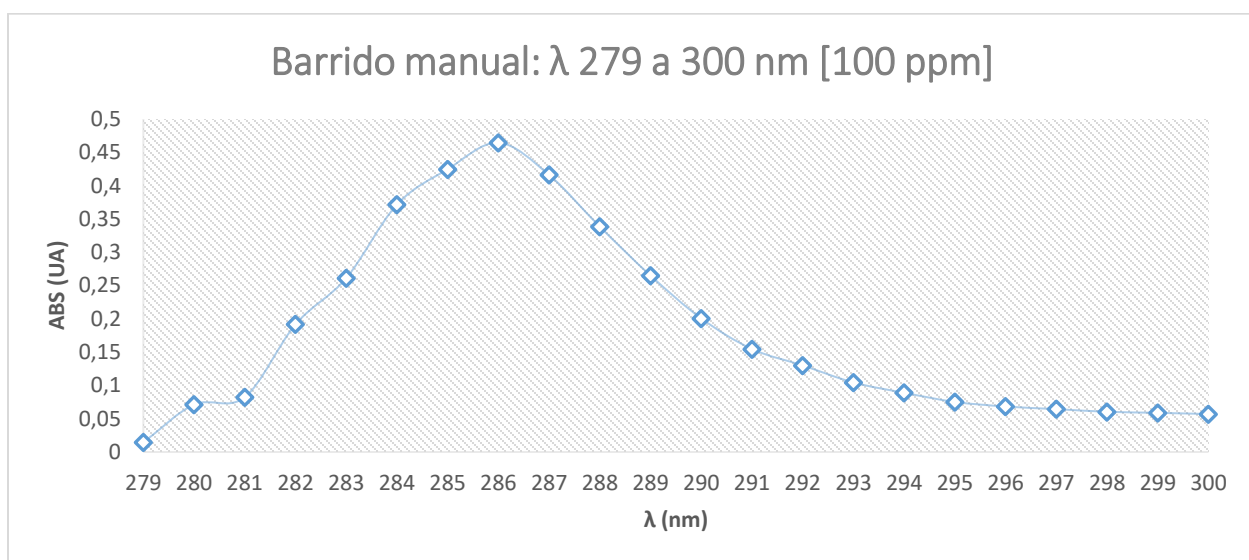
Máxima Absorbancia barrido Manual a 500 ppm

Condición	Manual
Concentración	500
[ppm]	

Rango de absorción (nm)	de 280 - 300
λ_{\max} (nm)	286
Absorbancia (UA)	0,4667

Figura 9

Barrido espectrofotométrico manual a 100 ppm entre 279nm y 300 nm.



Fuente: autor

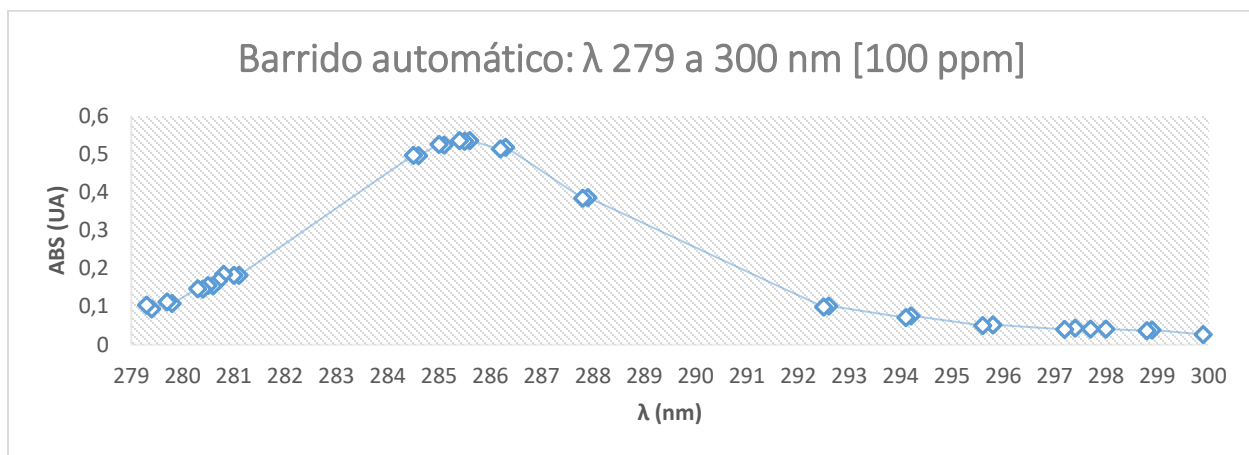
Tabla 3

Máxima Absorbancia barrido Manual a 100 ppm

Condición	Manual
[ppm]	100
Mín	279
Máx	300
λ (nm)	286
ABS (UA)	0,4645

Figura 10

Barrido espectrofotométrico automático a 100 ppm entre 279nm y 300nm.



Fuente: autor

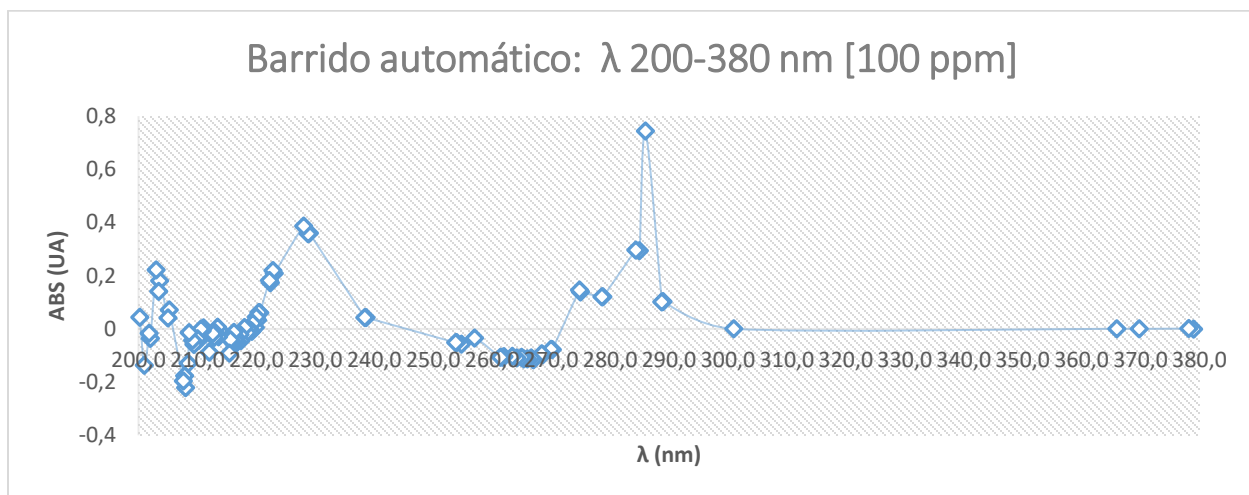
Tabla 4

Máxima absorbancia barrido automático a 100 ppm

Condición	Automático
[ppm]	100
Mín.	279
Máx	300
λ (nm)	285,6
ABS (UA)	0,536

Figura 11

Barrido espectrofotométrico automático a 100 ppm entre 200nm y 300nm.



Fuente: autor

Tabla 5

Máxima absorbancia barrido automático a 100 ppm

Condición	Automático
[ppm]	100
Mín	200
Máx	379
λ (nm)	286,0
ABS (UA)	0,7433

Tabla 6

Resumen de barridos máxima absorbancia del Catecol 286nm

<i>Resumen Barridos</i>					
	Barrido 1	Barrido 2	Barrido 3	Barrido 4	
Condición	Manual	Manual	Automático	Automático	
n	1	1	0	0	
[ppm]	500	100	100	100	
Mín	280	279	279,3	200	
Máx	300	300	299,9	379	
λ (nm)	286	286	285,6	286	
ABS (UA)	0,4667	0,4645	0,536	0,7433	

Fuente: autor

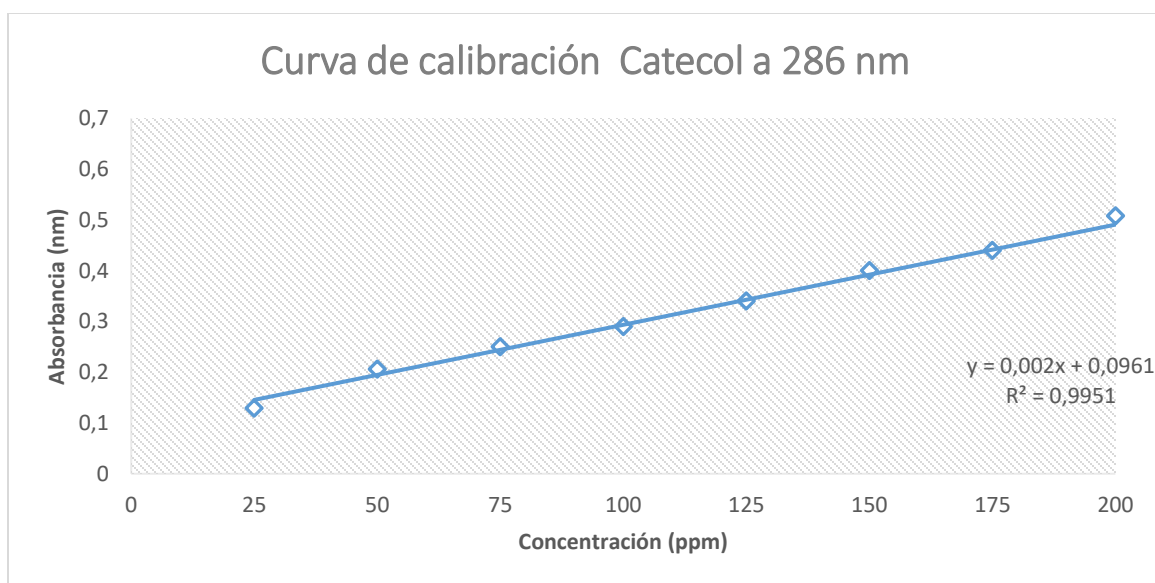
Con el barrido de longitud de onda en el espectro de 280 a 300 nm de 1,2-dihidroxibenceno a una concentración de 100 ppm, se determinó una máxima absorción a 286 nm, valor con el cual se realizó la curva de calibración a una concentración de 25 a 200 nm (Ver Figura 11).

Curva de calibración del catecol a 286nm

Se le realizó una curva de calibración por análisis en un espectrofotómetro UV-Vis, que permita conocer la concentración final tras el proceso de degradación.

Figura 12

Curva de calibración del Catecol a 286nm



Fuente: autor

El coeficiente de correlación R^2 de 0,9951 de la curva de calibración, permitió comprobar una alta relación de los valores de absorbancia en las diferentes concentraciones, en la que, el 99% de la variable de respuesta de los datos responden al modelo de regresión lineal.

Degradación fotocatalítica del Catecol.

Durante este estudio se evaluó la degradación fotocatalítica del Catecol con TiO_2 utilizando un reactor escala laboratorio mediante el cual dispone de una lámpara ultravioleta a una longitud de onda de 365nm, la mayor degradación del catecol se obtuvo utilizando TiO_2 a 2000 ppm con un pH de 7 y un tiempo de incidencia de 120 minutos obteniendo resultados de 44% de degradación fotocatalítica del contaminante.

Análisis preliminares con peróxido de hidrógeno

Se realizaron ensayos con H_2O_2 a concentración de 200 a 600 ppm encontrando que la degradación se daba por acción del oxidante mas no por la acción de la luz UV, siendo este una interferencia para la medición de la concentración final del contaminante, de igual manera el reactor dispone de una manguera para la adición de aire de la cual tampoco se tuvieron resultados de degradación.

Reactor fotocatalítico a escala laboratorio.

Se trabajo el Reactor fotocatalítico ubicado en la Universidad Nacional Abierta y a Distancia UNAD construido bajo las características generales para el diseño de un reactor fotocatalítico bajo la investigación previa realizada. El esquema de la unidad piloto y sus componentes tal como fueron utilizados en la fase de experimentación se muestra en la figura 13.

Figura 13

Reactor Fotocatalítico escala laboratorio.



Fuente: autor

Con el diseño del reactor, se logró ajustar el porcentaje de potencia de consumo y por consiguiente el nivel de intensidad de radiación UV. Con la programación de los registros de control del timer1 del microcontrolador a través del pin 10, se moduló ancho de pulso PWM que controla el *duty cycle* de una señal cuadrada que integrada a una carga de control de la tensión RMS DC de alimentación de esta. También, se ajustó la intensidad de agitación en rpm, por medio de la programación de registros de control del timer1 del microcontrolador para así en el pin 9 se modulara el ancho de pulso PWM que controla el *duty cycle* de una señal cuadrada que, integrada al motor controla el voltaje de alimentación y las rpm. El control del temporizador con la inclusión de un algoritmo logró decrementar variables de tipo *integer* con cantidades registradas en segundos que se despliegan en un display líquido. Con la librería wire y la librería de comunicación I²C con un convertidor I²C conectado al display LCD de 16x2 cm, se logró obtener en tiempo real del estado de tiempo restante de reacción al poner en funcionamiento el reactor. (Ramírez, Y. 2013)

Las cargas de UV de la lámpara es de tipo Light Emmiting Diode el cual se polarizó en directo para emitir radiación electrométrica con longitud de onda de 365nm, para alimentarla con

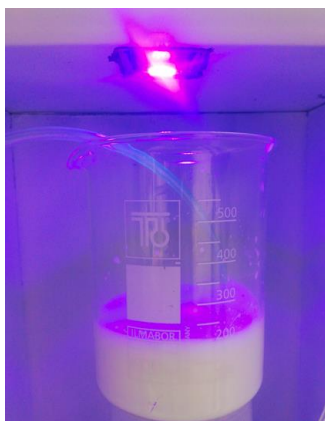
12V al contar con una etapa de potencia con tecnología MOSFET canal N para el control de carga.

Al incorporar un motor DC para realizar el sistema de agitación magnética controlada con un imán de neodimio, se logró conectar eléctricamente a un MOSFET de potencia.

El tamaño de la muestra de agua simulada fue de 200 ml con 50 mg/L de Catecol, pH de 6,9, concentración de catalizador de 2000 mg/L, 0 ppm de H_2O_2 .

Figura 14

Muestra de agua simulada en el reactor pH 7, 2000 ppm de TiO_2



Fuente: autor

Se toman muestras cada 15 minutos, para retirar el catalizador se realiza filtración por membrana de 0,2 micras con la bomba de vacío y se toma una alícuota de 10ml para la medición de Absorbancia a través del espectrofotómetro UV Vis.

Tabla 7

Variables diseño experimental

Concentración de TiO ₂	(a)	200	1000	2000
Concentración de H ₂ O ₂	(b)	200	400	600
pH del medio	(c)	3	7	10

Fuente: autor.

Los niveles estudiados para cada factor fueron: (a) concentración de TiO₂ (200, 1000 y 2000 ppm), (b) H₂O₂ (200, 400 y 600 ppm) y (c) pH (3, 7 y 10) y. Los resultados obtenidos sin las réplicas se registran en la Tabla 7, con valores porcentuales de degradación de 1,2-dihidroxibenceno.

Tabla 8

Resultados de degradación fotocatalítica del catecol.

Concentración TiO ₂ (mg/L)	Tiempo (min)	pH	Conc. Inicial Catecol (mg/L)	Conc. Final Catecol (mg/L)	Eficiencia (%)
1000	15	6,	50	50	0%
		9			
	30	6,	50	48	2%
		9			

	45	6,	50	44	12
	9			%	
	60	6,	50	40	20
	9			%	
	75	6,	50	40	20
	9			%	
2000	15	6,	50	50	0%
	9				
	30	6,	50	40	20
	9			%	
	45	6,	50	33	34
	9			%	
	60	6,	50	22	44
	9			%	
	75	6,	50	22	44
	9			%	
	90	6,	50	22	44
	9			%	

Fuente: autor

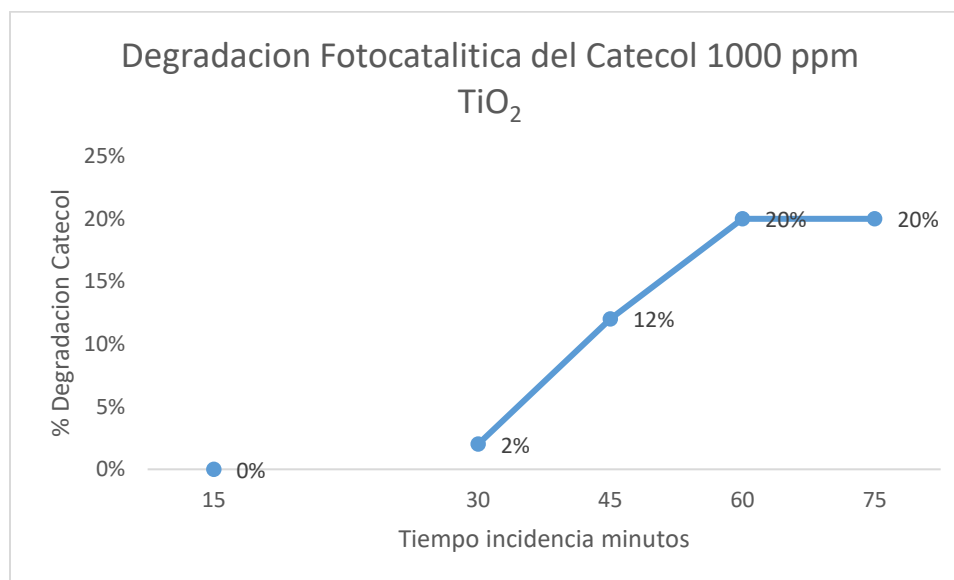
Se tomaron alícuotas cada 15 minutos y se realiza medición de absorbancia encontrando que para pH ácidos de 3 y básicos de 10 no se observa degradación fotocatalítica del

contaminante, los resultados fueron satisfactorios a pH 6,9 neutro con una concentración de catalizador TiO_2 de 2000 ppm y un tiempo de reacción de 60 minutos, donde se logró una eficiencia del 44%.

Para el caso de la degradación fotocatalítica empleando oxígeno molecular como agente oxidante, cuyos niveles estudiados para cada factor fueron: (a) concentración de TiO_2 (200, 1000 y 2000 ppm), (b) pH (3, 7 y 10), para un total de 8 ensayos sin réplicas, cuyos resultados no fueron favorables, al obtener 0% de degradación de 1,2-dihidroxibenceno, confirmando así la nula acción de oxígeno molecular como agente oxidante proveniente del burbujeo contante del sustento en un tiempo de 180 min.

Figura 15

Degradación fotocatalítica del catecol a 1000 ppm de TiO_2 pH 7

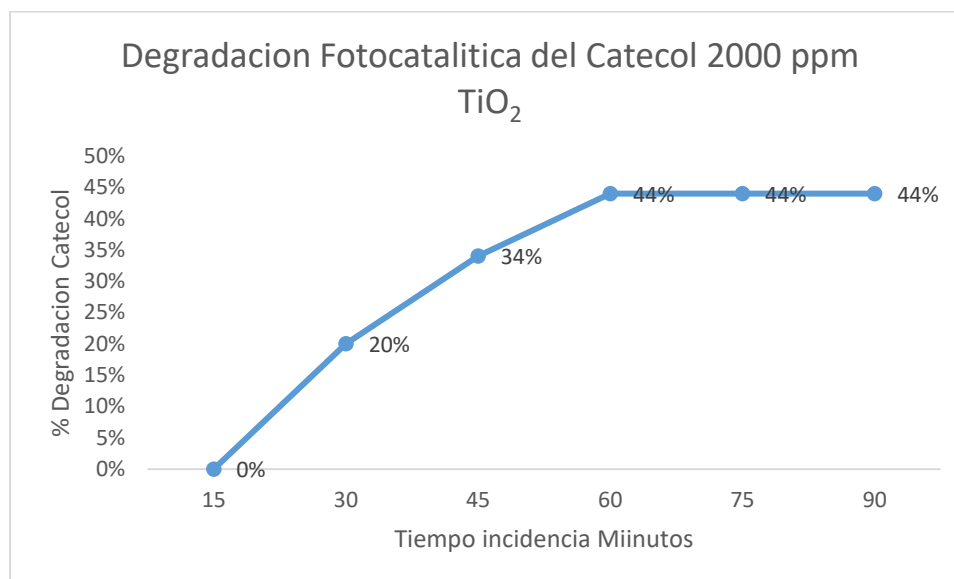


Fuente: autor

Se obtuvo 20% de degradación fotocatalítica del contaminante a los 60 minutos de incidencia y con una concentración del catalizador de 1000 ppm y un pH de 6,9.

Figura 16

Degradación fotocatalítica del catecol a 2000 ppm de TiO₂ pH 7.



Fuente: autor

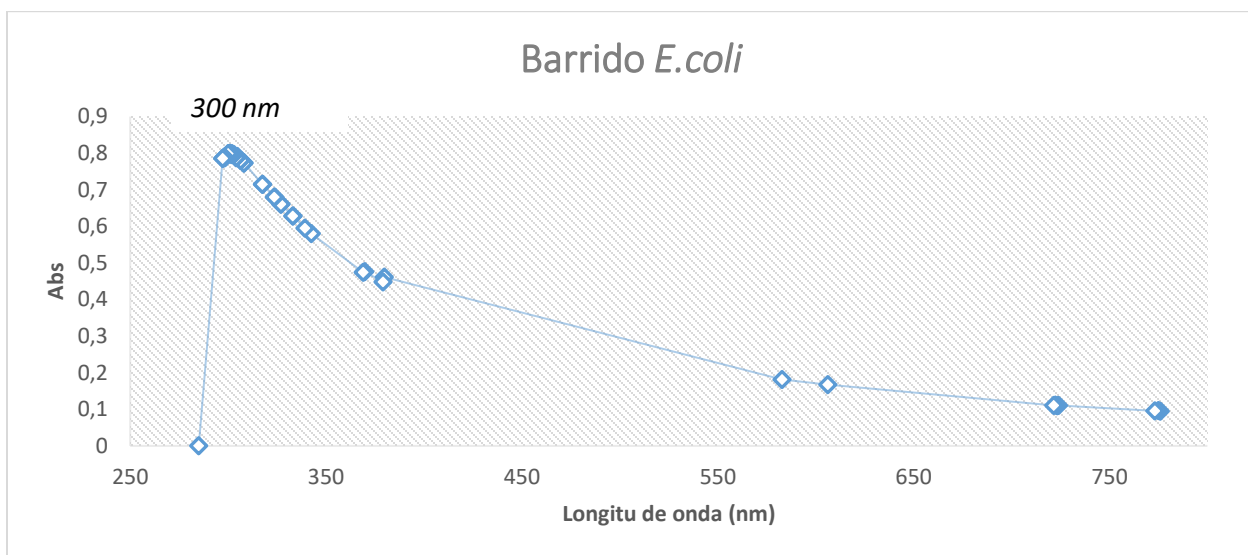
Se obtuvo 44% de degradación fotocatalítica del contaminante a los 60 minutos de incidencia con una concentración del catalizador de 2000 ppm y un pH de 6,9.

Resultados análisis preliminares barridos y curvas de crecimiento de *E. coli*.

En la activación de la cepa en el caldo nutritivo a 37°C durante 6 horas, el tiempo óptimo de la curva de crecimiento de la cepa para su crecimiento en fase exponencial, fase donde se obtiene la tasa de crecimiento óptimo del microorganismo, mostró una absorbancia máxima en 300 nm (Ver Figura 17).

Figura 17

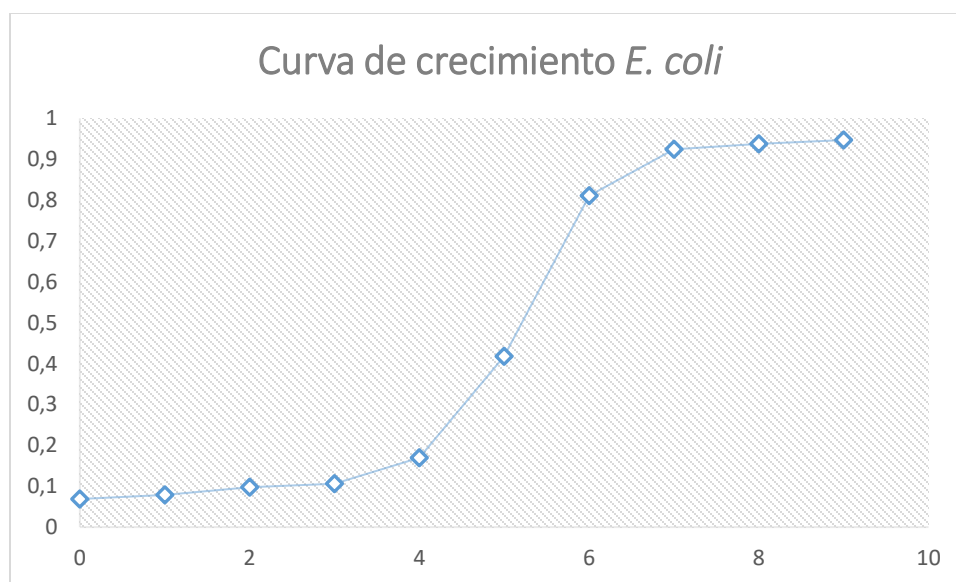
Barrido espectrofotométrico a 300nm de la E-Coli



Fuente: autor.

Figura 18

Curva de crecimiento de la E-Coli.



Fuente: autor.

La tasa de crecimiento bacteriana para determinar y cuantificar los inóculos a ciertas densidades se realizó con la curva de crecimiento de la cepa ATCC 25922 de *E. coli*, la cual permitió realizar la determinación de las fases de crecimiento y la estandarización de las condiciones óptimas para obtención de biomasa y crecimiento bacteriano reproducibles. En la Figura 18, se evidencia un incremento en la tasa bacteriana de *E. coli* hasta las 7 horas de activación, donde su crecimiento exponencial se evidencia sobre las 5 hora.

Figura 19

Siembra por superficie de E.Coli.



Fuente: autor

Después de 24 horas de incubación de las cajas de Petri se realiza conteo de las UFC.

Tabla 9

Unidades formadoras de colonias de E-Coli Vs tiempo.

HORA	1	2	3	4	5	6	7
UFC	2	6	15	60	0	0	0

Se procede a exponer la muestra de la *E-coli* en su máximo crecimiento en la hora 4 a fotocátalisis a través del reactor.

Figura 20

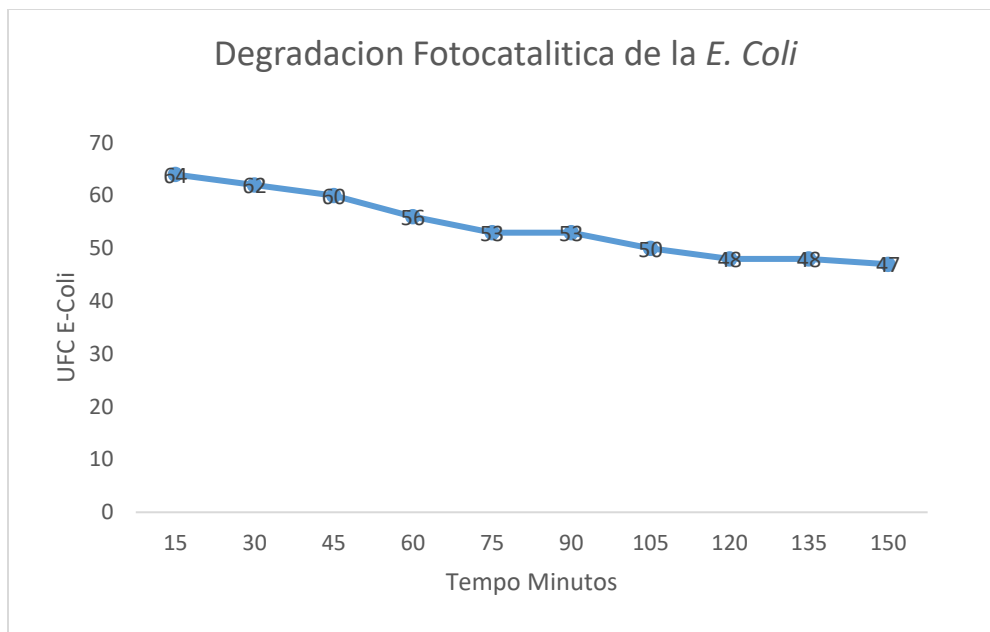
Muestra Echerichia Coli ATCC25922 de agua expuesta luz UV-A reactor Fotocatálitico.



Fuente: autor

Figura 21

Degradación fotocatalítica de la E-Coli



Fuente: autor

Se toman alícuotas cada media hora para su siembra en superficie obteniendo inactivación en un 27% a los 150 minutos.

Conclusiones

Con base a los resultados obtenidos a escala laboratorio se concluye lo siguiente:

Se logró construir un reactor fotocatalítico a escala de laboratorio con medidas de 36cm alto x 26cm de ancho, se optimizó al programar registros de temperatura, tiempo, revoluciones y la sistematización de la estructura interna y externa en su base se instaló un sistema de agitación magnética, control de luz UV-A con lámpara ultravioleta a una longitud de onda de 395nm, control automático de la puerta frontal, control de tiempo de incidencia UV-A con un temporizador.

Se realizó un barrido para validar la máxima absorción de longitud de onda a 286nm del contaminante 1,2-dihidroxibenceno que permitió realizar una curva de calibración con un coeficiente de correlación óptimo de 0,995 para la cuantificación de concentración final del contaminante de 22 ppm partiendo de una concentración inicial de 50 ppm.

Se obtuvo resultados de degradación fotocatalítica del 1,2-dihidroxibenceno o catecol del 44% de remoción de este contaminante con 2000 ppm de catalizador TiO_2 , pH 6,9 y un tiempo de radiación máxima de UV-A de 60 minutos.

El estudio de la curva de crecimiento bacteriano de la cepa ATCC 25922 de *E. coli* permitió realizar determinación de las fases de crecimiento de la cepa de para obtener una tasa de crecimiento bacteriano reproducibles en condiciones a utilizar en el reactor; Se logró inactivar la bacteria *E. Coli* por medio de fotocátalisis obteniendo resultados de 27% de inactivación de las UFC iniciales bajo las condiciones de trabajo óptimas a 37°C a 300 nm durante 7 horas.

Se realizó pruebas con H_2O_2 para la adición de oxígeno molecular pero no se obtuvo resultados favorables debido a que el H_2O_2 por su alto poder oxidante interfería en la degradación del contaminante.

Recomendaciones

En la etapa de diseño y construcción de reactor fotocatalítico se encontró que la distancia inicial de 40cm de alto desde la base del agitador donde va la muestra de agua simulada y la lampara UV en la parte superior del reactor debe ser más corta debido a que la incidencia de la luz internamente dentro del reactor se disipa lo cual no permitía que la eficiencia de la fotocatalisis fuera eficiente, para el desarrollo de este proyecto se colocó una base a unos 5 cm de la lampara UV aumentando el rendimiento de radiación fotocatalitica como se observa en la Figura 13, una sugerencia es colocar papel metalizado o pintura metalizada al interior del reactor esto para realizar pruebas si aumenta o distribuye más uniformemente los fotones de la lampara UV.

En la etapa de degradación fotocatalitica del 1,2-dihidroxibenceno la variable del catalizador TiO_2 fue de 2000 ppm como concentración máxima no se realizó pruebas a concentraciones mayores debido a la alta turbidez de la muestra que provoca este catalizador, para separar el catalizador del sustrato se realizó filtración por membrana de 0,2 micras y realizar lecturas confiables sin interferencias en el espectrofotómetro UV-Vis.

En la etapa de inactivación de la bacteria *E. Coli* se utiliza una Cepa ATCC 29522 del cepario de la Universidad Nacional Abierta y a distancia UNAD para la cual no se pudo realizar diluciones porque la densidad bacteriana inicial era muy baja, se recomienda utilizar más de 2 perlas de la cepa al momento de activarla para poder tener mayor densidad de la bacteria y poder tener más datos y mediciones de UFC.

Bibliografía

Bäckvall, J. (2010) *Modern Oxidation Methods*. Weinheim, Alemania: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, p.p. 26, 30, 32.

Bingham, E., Carsen, B., y Powell, C. (2001) *Patty's Toxicology Volumes 1-9*. Quinta edición. John Wiley & Sons. New York, N.Y.

Budabari, S. (2013) *The Merck Index - An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals*. Cambridge. UK: Royal Society of Chemistry.

Byrne, J. A., Fernandez-Ibañez, P. A., Dunlop, P. S., Alrousan, M. A., y Hamilton, M. (2011) Photocatalytic Enhancement for Solar Disinfection of Water: A Review. *International Journal of Photoenergy*. doi: <http://dx.doi.org/10.1155/2011/798051>.

Chen, B., Deng, Y., Tong, H. y Ma, J. (2017) Preparation, characterization, and enhanced visible-light photocatalytic activity of AgI/Bi₂WO₆ composite. *Superlattices and Microstructures*, (69), 194-203. doi: <https://doi.org/10.1016/j.spmi.2014.01.019>.

Chen, Y., Lu, A., Li, Y., Yin, H., An, T., Li, G., Jin, P y Wong, P. (2011) Photocatalytic inactivation of *Escherichia coli* by natural sphalerite suspension: Effect of spectrum, wavelength and intensity of visible light. *Chemosphere* 84(9), 1276-1281. doi: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.05.055>.

Christoforidis, K., Louloudi, M., y Deligiannakis, Y. (2010) Complete degradation of pentachlorophenol by a heterogeneous SiO₂-Fe porphyrin catalyst. *Appl Catal B-Environ*, (95), 297-302.

Clasen, T. F., y Haller, L. (2008) *Water Quality Interventions to Prevent Diarrhea: Cost and Cost-Effectiveness*, WHO, 2008. Recuperado de http://www.who.int/water_sanitation_health/economic/prevent_diarrhoea.pdf.

Fernández, P. (2013) Propiedades coloidales de partículas de TiO₂: aplicación al tratamiento fotocatalítico solar de aguas. Proyecto trabajo de grado (Tesis Doctoral). Universidad de Granada. Departamento de física aplicada. p.p. 237-277.

Giannakis, S., Darakas, E., Escalas-Cañellas y Pulgarín C. (2015) Temperature-dependent change of light dose effects on E. coli inactivation during simulated solar treatment of secondary effluent. *Chemical Engineering Science*, 126, 483–487. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ces.2014.12.045>.

Gogoi, A., Navire, M., Sarma, K y Gogoi, P. (2017) Fe₃O₄-CeO₂ metal oxide nanocomposite as a Fenton-like heterogeneous catalyst for degradation of catechol. *Chemical Engineering Journal* (311), 153-162. doi <https://doi.org/10.1016/j.cej.2016.11.086>.

Gómez, S. (2012) Degradación de la orto y meta nitroanilina por procesos de fotocátalisis heterogénea. Proyecto trabajo de grado para optar el título de Químico. Universidad del Quindío. Facultad de Ciencias Básicas y Tecnologías. Armenia, Quindío.

Grieken, V. T., Marugán. J., Pablos. C., Furones. L. y López. A. (2010) Comparison between the photocatalytic inactivation of Gram-positive E. faecalis and Gram-negative E. coli faecal contamination indicator microorganisms. *Applied Catalysis B: Environmental*, 100 (2010) 212–220. doi: <https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2010.07.034>.

Hansberg, W. (2002) Biología de las especies de oxígeno reactivas. En: Mensaje bioquímico. Universidad Nacional Autónoma de México. vol. XXVI, p.p. 22. ISSN-0188-137X.

Helali. S., Polo-López. M. I., Fernández-Ibáñez. P., Ohtani. B., Amano. F., Malato. S y Guillard. C. (2014) Solar photocatalysis: A green technology for E. coli contaminated water disinfection. Effect of concentration and different types of suspended catalyst. *Journal of*

Photochemistry and Photobiology A: Chemistry, 276, 31-40. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jphotochem.2013.11.011>.

Joyce. T. T., Mcguigan. K. G., Elmore-Meegan. M. y Conroy. R.M. (1996). Inactivation of fecal bacteria in drinking water by solar heating. *Applied and Environmental Microbiology*, 62, 399–402. Recuperado de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC167810/>.

Kermani, M., Kakavandi, B., Farzadkia, M., Esrafil, A., Jokandan, S., y Shahsavani, A. (2018) Catalytic ozonation of high concentrations of catechol over TiO₂@Fe₃O₄ magnetic core-shell nanocatalyst: Optimization, toxicity and degradation pathway studies. *Journal of Cleaner Production* (92), 597-607. doi <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.04.274>.

Klavarioti, M., Mantzavinos, D., y Kassinos. (2009) D. Removal of residual pharmaceuticals from aqueous systems by advanced oxidation processes. *Environment International*, 35(2), 402-417.

Lofrano, G., Rizzo, L., Grassi, M. y Belgiorno, V. (2009) Advanced oxidation of catechol: A comparison among photocatalysis, Fenton and photo-Fenton processes. *Desalination*. 249(2) 878-883. doi: <https://doi.org/10.1016/j.desal.2009.02.068>.

Maroga, V, y col. (2012) Assessment of the efficiency of photocatalysis on tetracycline biodegradation. *Journal of Hazardous Materials*. 209-210, p. 355-364.

Miklos, D., Remy, C., Jekel, M., Linden, K., Drewes, J., y Hübner, U. (2018) Evaluation of advanced oxidation processes for water and wastewater treatment. A critical review. *Water Research* (138), 118-131. ISSN 0043-1354. doi: <https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.03.042>.

NIH. (s.f.) National Center for Biotechnology Information. U.S. National Library of Medicine. Montgomery, Estados Unidos. Recuperado de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pccompound>.

Oturan, M., y Aaron, J. (2014) Advanced Oxidation Processes in Water/Wastewater Treatment: Principles and Applications. A Review, *Crit Rev Env Sci Tec*, 44(23), 2577-2641. doi <https://doi.org/10.1080/10643389.2013.829765>.

Ramírez, Y. (2013). Diseño, construcción y puesta en marcha de un reactor tubular fotocatalítico (UV-A) para la degradación de desechos químicos orgánicos. Proyecto trabajo de grado para optar el título de Químico Industrial. Universidad Tecnológica de Pereira. Facultad de Tecnologías. Pereira, Risaralda.

Resolución 0631. Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible. Bogotá, Colombia, 7 de marzo de 2015.

Richards, R. (s.f.). *Surface and nanomolecular catalysis*. Boca Ratón-Florida-Estados Unidos: Taylor & Francis Group. pp. 7, 430.

Robertson. J., Robertson. P.K y Lawton. L (2005) A comparison of the effectiveness of TiO₂ photocatalysis and UV-A photolysis for the destruction of three pathogenic microorganisms. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 175(1) 51-56. doi: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1010603005001772>

Y. Taniyasu, M. Kasu, y T.Makimoto “An aluminium nitride light-emitting diode with a wavelength of 210 nanometres” *Nature*, vol. 441, 2006, pp.325–328. Disponible <https://doi.org/10.1038/nature04760>

HW Chen, Y. Ku, y CYJ Wu “Effect of LED optical characteristics on temporal behavior of o-cresol decomposition by UV/TiO₂ process” *Chem. Technol, Biotechnol.* vol 82, 2007, pp. 626–635 Disponible <https://doi.org/10.1002/jctb.1718>.

Sobczynski, A., Duczmal, L. and Zmudzinski, W. Phenol destruction by photocatalysis on TiO₂: An attempt to solve the reaction mechanism. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, 213(2), (2004), p. 225-230.

Blanco Gálvez Julián, Malato Rodríguez Sixto, Estrada Gasca Claudio A., Bandala Erick R., Gelover Silvia y Leal Teresa; “purificación de aguas por fotocatalisis heterogénea: Estado del arte”. En: *Eliminación de contaminantes por fotocatalisis heterogénea*. M. B., editor. CYTED, 2002. p. 51-75.

O. M. Alfano, D. Bahnemann, A. E. Cassano, R. Dillert, R. Goslich, Photocatalysis in water environments using artificial and solar light, *Catalysis Today* 58, p. 199-230, 2000.

ANEXOS

EQUIPOS

Anexo 1

Espectrofotómetro Merck Pharo 300



Fuente: autor

 INFORMACION GENERAL

TIPO	NOMBRE	CODIGO
Equipo	Espectrofotómetro	12280175
MERCK PHARO 300		

Anexo 2

Incubadora Binder BD 53 UL

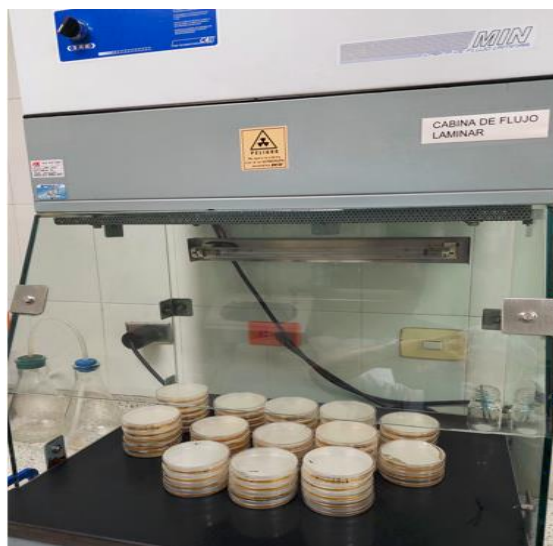


INFORMACION GENERAL		
TIPO	NOMBRE	CODIGO
Equipo	INCUBADORA	SERIE 14 -06436
	BINDER BD 53 UL	

Fuente: autor

Anexo 3

Cabina de flujo laminar



Fuente: autor

INFORMACION GENERAL

TIPO	NOMBRE	CODIGO
Equipo	CABINA DE FLUJO LAMINAR	CF-LMB-009

Anexo 4

Balanza Digital Vibra



Fuente: autor

INFORMACION GENERAL

TIPO	NOMBRE	CODIGO
		FABRICACION
Equipo	BALANZA	AJ6200E
	DIGITAL VIBRA	

Anexo 5

Autoclave



Fuente: autor

INFORMACION GENERAL

TIPO	NOMBRE	CODIGO
		FABRICACION
Equipo	AUTOCLAVE	26740

Anexo 6

Bomba de vacío



Fuente: autor

INFORMACION GENERAL

TIPO	NOMBRE	CODIGO
Equipo	BOMBA DE	40900001979
	VACIO	

Anexo 7

Agitador Magnético



Fuente: autor

INFORMACION GENERAL

TIPO	NOMBRE	CODIGO
		FABRICACION
Equipo	AGITADOR	S131125
	MAGNETICO	

Anexo 8

pH Metro Metler Toledo



Fuente: autor

INFORMACION GENERAL

TIPO	NOMBRE	CODIGO
		FABRICACION
Equipo	PHMETRO	SERIE 12150409
	METTLER TOLEDO	
