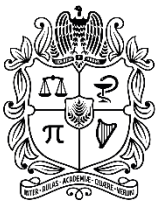


UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

BIOTRATAMIENTO DE ACEITES DIELÉCTRICOS USADOS

Carlos Ernesto Camargo Moreno

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Ciencias, Departamento de Química
Bogotá, Colombia
2016

BIOTRATAMIENTO DE ACEITES DIELÉCTRICOS USADOS

Carlos Ernesto Camargo Moreno

Tesis como requisito parcial para optar al título de:

Magister en Ciencias - Química

Directora:
Doctora Carmen María Romero Isaza
Codirector:
Doctor Andrés Felipe Suarez Escobar

Línea de Investigación:
Termodinámica
Grupo de Investigación:
Grupo de Termodinámica Clásica

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Ciencias, Departamento de Química
Bogotá, Colombia
2016

Romanos 16:24
“Que toda la gloria sea para Dios”

Dedicado a mis amados padres: Ana Gloria Moreno Cruz y Luis Ernesto Camargo Ariza por su dedicación absoluta, su invaluable entrega, su amor incondicional y su fe.

Agradecimientos

A Dios y mi familia: Ada, Gloria, Celsa, Ernesto, Cheo, mi amor Patricia y su madre la Sra. Flor por su tolerancia, comprensión, amor y por ser mi luz en cada senda oscura del camino.

A la profesora Carmen María Romero Isaza vicerrectora de investigación de la Universidad Nacional de Colombia y al profesor Andrés Felipe Suarez Escobar profesor titular de la Universidad Jorge Tadeo Lozano por su guía, orientación, tiempo, dedicación, instrucción, colaboración y gran paciencia que fueron trascendentales para el desarrollo de la presente investigación.

Al profesor Luis H. Blanco, al profesor Miguel Montero, a mis compañeros del Laboratorio de Investigaciones Básicas, y a mis amigos: Fernando Lancheros, Glorita Parra, Yeniffer Pardo, Jennifer González, Liliana Fandiño, Gregory Puentes, Maleja Mosquera, Viviana Trujillo, Andrea Escamilla, Edna Ariza y Diego Salas, por su contribución al desarrollo del presente trabajo y por su colaboración incondicional al avance de mi carrera como profesional.

A la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional de Colombia, a los laboratorios amigos y empresas colaboradoras, por el apoyo, gestión y contribución brindada a la presente investigación, trabajo que pretendió aportar un grano de arena al objetivo de alcanzar la resignificación de nuestro proyecto de nación enriqueciendo el patrimonio cultural, natural y ambiental del país.

Resumen

El aceite dieléctrico contaminado con bifenilos policlorados (PCBs) es un contaminante de importancia para el medio ambiente. Esta investigación se centró en establecer las condiciones óptimas bajo las cuales se puede emplear la oxidación fotocatalítica conjuntamente con biotratamiento empleando microorganismos *Nostoc sp* para degradar los PCBs presentes en aceite dieléctrico usado.

Entre las condiciones óptimas estudiadas se encuentran la concentración de PCBs, el pH inicial y la concentración de dióxido de titanio (TiO_2) para la etapa fotocatalítica y la concentración de PCBs y el fotoperiodo para la etapa de biotratamiento.

Los resultados indican que las condiciones óptimas necesarias para la degradación fotocatalítica fueron: pH de 6,10, 113mg/L de TiO_2 y 765mg/L de PCBs, logrando remociones cercanas al 98%. Para el paso de biotratamiento los resultados mostraron que los PCBs inhiben progresivamente el crecimiento microbiológico siendo observado el menor crecimiento celular en el medio con mayor concentración de PCBs, adicionalmente, bajo las condiciones de 5.0 mg/L de PCBs en un fotoperiodo de 12h luz/12h oscuridad fue posible obtener una bioremoción de 54,0%, alcanzando una remoción conjunta entre los dos tratamientos de 99,6%

Palabras clave: bifenilos policlorados (PCBs), oxidación fotocatalítica, dióxido de titanio, aceite dieléctrico, biotratamiento, microorganismos *Nostoc sp*.

Abstract

The insulating oil contaminated with polychlorinated biphenyls (PCBs) is an environmentally important pollutant. This research focused on the establishment of the optimum conditions under which photocatalytic oxidation can be used together with biotreatment using the *Nostoc sp* microorganism to degrade PCBs present in used dielectric oil.

Among the optimal conditions studied were PCBs concentration, initial pH and titanium dioxide (TiO_2) concentration for the photocatalytic step, and PCBs concentration and photoperiod for the bio-treatment step.

The results indicate that the optimal conditions necessary for the photocatalytic degradation were: pH of 6,10, 113mg/L of TiO_2 and 765mg/L of PCBs, achieving removals close to 98%. For the bio-treatment step the results showed that PCBs inhibited progressively the microbiological growth being the lowest cellular growth observed in the medium with the highest PCBs concentration, Additionally, under the conditions of 5.0 mg/L PCBs in a photoperiod of 12h light / 12h darkness it was possible to obtain a bioremption of 54.0%, reaching a joint removal between the two treatments of 99.6%

Keywords: polychlorinated biphenyls (PCBs), photocatalytic oxidation, titanium dioxide, insulating oil, bio-treatment, *Nostoc sp* microorganisms.

Contenido

Pág.

Resumen IX

Abstract X

Lista de figuras XIII

Lista de tablas XIV

Lista de abreviaturas XVI

Introducción 1

Justificación de la investigación 3

1. Objetivos de la investigación 5
1.1 Objetivo general 5
1.1.1 Objetivos específicos 5

2. Marco teórico y conceptual 7
2.1 Aceites usados 7
2.2 Bifenilos policlorados (PCBs). 9
2.3 Tratamiento de PCBs 14
2.3.1 Procesos de eliminación de cloro 14
2.3.2 Sistema de arco plasmático 15
2.3.3 Oxidación con agua supercrítica 15
2.4 Biotratamiento de PCBs 15
2.5 Fotocatálisis heterogénea. 16
2.6 Microalgas. 19
2.7 Clasificación de las microalgas 20
2.8 Composición química de las microalgas 22
2.9 Aplicaciones de las microalgas 23
2.10 Parámetros de cultivo de las microalgas 23
2.10.1 Luz 24
2.10.2 Carbono 24
2.10.3 Nutrientes 25
2.10.4 Temperatura y agitación 25
2.11 Diseño de experimentos 26
2.11.1 Modelo de primer orden sin factores de interacción 26
2.11.2 Modelos de superficie de respuesta de orden superior 27
2.12 Diseños experimentales para acondicionamiento de superficie de respuesta 28

3. Antecedentes de la investigación 31
3.1 Problemática y normatividad 31
3.2 Fotocatálisis de PCBs 32
3.3 Biotratamiento de PCBs 34

4. Materiales 39
4.1 Muestras 39
4.2 Equipos 39
4.3 Reactivos 40
4.4 Material de laboratorio 41

5. Métodos y desarrollo experimental 43
5.1 Cromatografía de gases/Espectrometría de Masas (GC/MS) 43
5.2 Determinación de densidad 43
5.3 Análisis de elementos pesados cromo, cadmio y plomo 43
5.4 Análisis elemental de carbono, nitrógeno y azufre totales y análisis de carbono orgánico total 44
5.5 Fotocatálisis heterogénea 44
5.6 Determinación de cloruros, conductividad y pH 46
5.7 Cuantificación de PCBs 47
5.8 Biotratamiento con microalgas 47
5.8.1 Cultivo *Nostoc sp* 47
5.8.2 Exposición del cultivo *Nostoc sp* al efluente fotocatalítico contaminado con PCBs 48

6. Resultados y discusión 51
6.1 Caracterización del aceite dieléctrico 51
6.1.1 Cromatografía de gases/Espectrometría de Masas (GC/MS) 51
6.1.2 Determinación de densidad 53
6.1.3 Análisis de elementos pesados cromo, cadmio y plomo 54
6.1.4 Análisis elemental carbono, nitrógeno y azufre 55
6.2 Tratamiento fotocatalítico 56
6.2.1 Remoción del carbono orgánico total 56
6.2.2 Determinación de cloruros, conductividad y pH 60
6.2.3 Cuantificación y remoción de PCBs 63
6.3 Biotratamiento 68

7. Conclusiones y recomendaciones 72
7.1 Conclusiones 72
7.2 Recomendaciones 74

8. Bibliografía y referencias 76

9. Anexo A: Curvas de calibración correspondientes a los análisis realizados. ... 83

10. Anexo B: Información estadística. 89

Lista de figuras

Pág.

Figura 2-1 Estructura general de los PCBs.....10
Figura 2-2 Producción de PCBs por cloración directa de bifenilo.....12
Figura 2-3 Ejemplos de a rotación libre e impedida alrededor del enlace entre anillos. ...12
Figura 2-4 Efectos de las sustituciones del átomo de cloro en las posiciones orto. 13
Figura 2-5 Diagrama de la banda de energía de una partícula esférica de TiO_2.....17
Figura 2-6 Algunos ejemplos de microalgas. 21
Figura 2-7 Ejemplo de superficie de respuesta.....27
Figura 5-1 Montaje experimental (reactor de vidrio equipado con chaqueta refrigerante)45
Figura 6-1 Cromatograma obtenido para la muestra de aceite dieléctrico empleando como solvente hexano R.A en una dilución 1 a 1000. 51
Figura 6-2 Espectro de masas correspondiente al pico número 12 en el cromatograma.53
Figura 6-3 Superficie de respuesta obtenida por medio de un ajuste de tipo cuadrático para la remoción del porcentaje de carbono orgánico total (%Remoción COT). 58
Figura 6-4 Comportamiento de la remoción de carbono orgánico total en función del tiempo a condiciones óptimas. 59
Figura 6-5 Superficie de respuesta obtenida para un ajuste de tipo cuadrático para la concentración de cloruros ([Cl-]).....63
Figura 6-6 Superficie de respuesta obtenida por medio de un ajuste de tipo cuadrático para la remoción PCBs (%Remoción PCBs). 65
Figura 6-7 Comportamiento de la remoción de PCBs en función del tiempo a condiciones óptimas. 67
Figura 6-9 Medios de cultivo para la especie *Nostoc sp* expuestos al efluente fotocatalítico contaminado con PCBs. 69
Figura 6-10 Espectro de absorción visible del medio de cultivo control (experimento1)....69
Figura 9-1 Curva experimental obtenida para la determinación de cadmio.....84
Figura 9-2 Variación del potencial en función del volumen de nitrato de plata adicionado para una alícuota de 5,0mL de solución patrón de cloruro de sodio de concentración 0,01mol/L. 85
Figura 9-3 Relación existente entre la densidad celular del cultivo *Nostoc sp* en un medio BG11 modificado y la absorbancia del mismo a 665nm. 87

Lista de tablas

Pág.

Tabla 2-1: Niveles de contaminantes permisibles en aceites usados.....8
Tabla 2-2: Métodos para determinación de contaminantes en aceites usados. 9
Tabla 2-3 Algunos nombres generales asignados a PCB's. 11
Tabla 5-1 Descripción del programa de temperatura empleado en la técnica AA horno de grafito. 44
Tabla 5-2 Descripción de los niveles y diseño experimental de la fotocatálisis. 45
Tabla 5-3 Descripción de los niveles y diseño experimental de la fotocatálisis. 46
Tabla 5-4 Descripción del medio de cultivo BG11 modificado.....48
Tabla 5-5 Descripción de los niveles y diseño experimental del Biotratamiento.....48
Tabla 5-6 Descripción de los niveles y diseño experimental del Biotratamiento.....49
Tabla 6-1 información correspondiente al cromatograma obtenido para la muestra de aceite dieléctrico empleando como solvente hexano R.A en una dilución 1 a 1000. 52
Tabla 6-2 Determinación de la densidad del aceite dieléctrico.....54
Tabla 6-3 Contenido de metales pesados en la muestra de aceite dieléctrico. 55
Tabla 6-4 Resultados experimentales para la determinación de CNS en la muestra de aceite dieléctrico. 55
Tabla 6-5 Resultados experimentales de remoción de COT obtenidos para el tratamiento fotocatalítico. 56
Tabla 6-6 Descripción de los coeficientes de regresión obtenidos por medio de un ajuste de tipo cuadrático para la remoción del porcentaje de carbono orgánico total (%Remoción COT).....57
Tabla 6-7 Resultados experimentales de cloruros, conductividad y pH obtenidos para el tratamiento fotocatalítico. 60
Tabla 6-8 Descripción de los coeficientes de regresión para un ajuste de tipo cuadrático para la concentración de cloruros. 62
Tabla 6-9 Resultados experimentales de remoción de PCBs (Aroclor 1016) obtenidos para el tratamiento fotocatalítico para la remoción de PCBs (%Remoción PCBs).....64
Tabla 6-10 Descripción de los coeficientes de regresión obtenidos por medio de un ajuste de tipo cuadrático para la remoción de PCBs (%Remoción PCBs).....65
Tabla 6-11 Resultados experimentales de densidad celular obtenidos para los cultivos sometidos al biotratamiento. 68
Tabla 6-12 Resultados experimentales del contenido carbono orgánico total y de clorofila a obtenidos para el biotratamiento. 70

Tabla 6-13 Porcentajes de inhibición de crecimiento para los cultivos de *Nostoc sp* expuestos al efluente fotocatalítico. 71
Tabla 6-14 Resultados experimentales de remoción de PCBs (Aroclor 1016) obtenidos para la etapa de biotratamiento (%Remoción PCBs). 71
Tabla 9-1 Descripción de las curvas de calibración empleadas para la determinación de cromo, cadmio y plomo 83
Tabla 9-2 Material de referencia empleado para la determinación de carbono, nitrógeno y azufre. 84
Tabla 9-3 Descripción de las curvas de calibración empleadas para la determinación de carbono, nitrógeno y azufre. 84
Tabla 9-4 Descripción de las curvas de calibración empleadas para la determinación de carbono orgánico total. 85
Tabla 9-5 Resultados experimentales obtenidos para la determinación de la concentración del nitrato de plata. 86
Tabla 9-6 Descripción de las curvas de calibración empleadas para la determinación de PCBs totales. 86

Lista de abreviaturas

Abreviaturas

Abreviatura	Término
PCB’s	Bifenilos policlorados
COP	Contaminantes Orgánicos Persistentes
RESPEL	Residuos Peligrosos
TAO	Tecnologías avanzadas de oxidación
COT	Carbono Orgánico Total
A	Absorbancia
UV	Ultravioleta: radiación electromagnética λ entre 400 nm y 15 nm
AV-A	Ultravioleta A: radiación electromagnética λ entre 400 nm y 320 nm

Introducción

Los aceites usados son considerados un desecho peligroso de acuerdo con los postulados de la Convención de Basilea, a la cual se adscribió Colombia en 1996 [1], por tal motivo, en el territorio nacional se ha promovido el desarrollo de: “un conjunto articulado e interrelacionado de acciones políticas, normativas, operativas, financieras, de planeación, administrativas, sociales, educativas, de evaluación, de seguimiento y monitoreo, desde la prevención de la generación hasta la disposición final de los aceites usados” [2], esto no solo con el objetivo de conservar la riqueza de sus recursos naturales sino también para garantizar la salud integral de su población, sin embargo, se presume que por desconocimiento de procedimientos técnicos, por ausencia de normatividad, por carencia de estándares de consumo y por el mercado negro existente con estos productos, los manejos dados a gran cantidad de los aceites usados son inadecuados[3], lo que inevitablemente se traduce en efectos adversos para la salud de los seres humanos e impactos desfavorables sobre el medio ambiente.

Adicionalmente los aceites dieléctricos usados pueden contar con la presencia de sustancias sintéticas de alto riesgo para el hombre y el medio ambiente como los bifenilos policlorados (PCBs), considerados de acuerdo al Convenio de Estocolmo como Contaminantes Orgánicos Persistentes (COP), los cuales: “tienen propiedades tóxicas, son persistentes a la degradación, se bioacumulan y son transportados por el aire, el agua y las especies migratorias, a través de las fronteras internacionales y depositados lejos del lugar de su liberación, acumulándose en ecosistemas terrestres y acuáticos” [15]. Estas sustancias han sido encontradas en diversos lugares del mundo, incluso en zonas apartadas y alejadas de aquellas en donde se emplearon, además de asentamientos humanos e, incluso, en leche materna [16-18]. Por su naturaleza los COP son difíciles de degradar, y la biodegradación, que para muchos contaminantes es el principal mecanismo de eliminación es limitada, esto debido a su estructura química estable, su naturaleza xenobiótica, su baja solubilidad en agua y su fuerte sorción en el suelo [19, 20].

Por otra parte la contaminación generada por esta clase de compuestos trasciende la mayoría de recursos naturales [4-6], por ejemplo, en el agua los aceites usados crean una película que produce separación entre las fases aire- agua, impidiendo que el oxígeno contenido en el aire se disuelva en el agua; en el suelo los aceites usados producen alteración del humus y la posible pos contaminación de aguas superficiales y subterráneas; y en el aire la combustión de los aceites dieléctricos contaminados al ser empleados como combustibles o como mezclas Fuel-Oil genera que compuestos perjudiciales para la salud sean emitidos a la atmosfera, incluso, las cenizas producto de estos procesos pueden estar contaminadas con metales pesados como plomo, cromo y cadmio.

Asimismo se desconoce la viabilidad de la implementación de nuevos procesos de tratamiento de aceites usados y los beneficios que estos procesos pueden representar para la salud humana y el medio ambiente, por tal razón la investigación tendiente a realizar un mejor aprovechamiento de estos aceites, se traducirá en grandes beneficios ambientales, económicos y sociales, al brindar nuevas alternativas para lograr la remoción de contaminantes, y por la generación de un mercado que remplace su etiqueta de residuo peligroso por una de amigable ambientalmente.

Justificación de la investigación

La necesidad de reducir los impactos ambientales generados en los recursos naturales ha impulsado la continua innovación de técnicas encaminadas a generar un mejor uso y aprovechamiento de Residuos Peligrosos (RESPEL) y Contaminantes Orgánicos Persistentes (COP), de este modo, durante los últimos años se han producido grandes avances en el desarrollo tecnológico encaminados al tratamiento de aceites dieléctricos usados, esta investigación pretende incorporar avances en el tratamiento de aceites de tal forma que se presenten alternativas de tratamiento en el campo ambiental y biológico.

En Colombia los aceites usados están catalogados por la Ley 253 de 1996 como un Residuo Peligroso, por lo tanto su disposición y manejo debe realizarse bajo medidas que garanticen la no afectación del ambiente o la salud humana, además de la mencionada ley que instituyó el principio del manejo ambiental racional de los desechos peligrosos, la Ley 430 de 1998 estableció la responsabilidad que tienen en el manejo del aceite usado tanto los generadores como los acopiadores, transportadores o procesadores de aceites usados, sin embargo, la responsabilidad social y ambiental, la crisis energética y los costos de los combustibles fósiles motivan la búsqueda de formas apropiadas de reutilización de aceites usados ya que por sus propiedades y su alto contenido energético constituyen un valioso recurso que se utiliza en todo el mundo como combustible o como insumo para la industria.

De esta forma, los avances investigativos tendientes a lograr un apropiado manejo, recolección, transporte y aprovechamiento de los aceites dieléctricos usados generados, se traducirán en grandes beneficios económicos, energéticos, ambientales y sociales para el país.

1. Objetivos de la investigación

1.1 Objetivo general

Estudiar la remoción de PCBs provenientes de aceites dieléctricos usados mediante el empleo de tratamiento fotocatalítico acoplado a biotratamiento por medio del cultivo de *Nostoc sp* con el fin de plantear una alternativa para la degradación de estos compuestos orgánicos persistentes.

1.1.1 Objetivos específicos

- Determinar el contenido de PCBs y de metales pesados presentes en el aceite dieléctrico usado contaminado.
- Establecer las condiciones óptimas experimentales de concentración de catalizador, pH, concentración inicial de PCBs para llevar a cabo la fotocatálisis heterogénea de PCBs presentes es aceites dieléctricos usados
- Establecer el comportamiento de la remoción de PCBs presentes en aceites dieléctricos usados en función del tiempo.
- Determinar las condiciones óptimas de pH, concentración de carbono orgánico y fotoperiodo óptimas para llevar a cabo la etapa de Biodegradación mediante el empleo del cultivo de *Nostoc sp*

2. Marco teórico y conceptual

2.1 Aceites usados

A pesar de las múltiples definiciones y amplias caracterizaciones que se encuentran en la literatura [7-9], de manera general se considera que el aceite usado o contaminado, es todo aquel aceite con base mineral o sintética, de desecho, que es generado a partir del momento en que deja de cumplir la función inicial para la cual fue destinado [7]. Como resultado de los diferentes usos asignados a los aceites, estos a menudo se contaminan con otros materiales provenientes del desgaste de los equipos en los cuales se utilizaron, lo que ocasiona por lo general que los aceites usados contengan impurezas de tipo físico y químico como sólidos, metales y sustancias orgánicas, sin embargo, estas impurezas también pueden estar presentes como resultado de procesos de combustión, o por la mezcla indebida con otros fluidos o residuos durante las etapas de recolección, almacenamiento y transporte para su aprovechamiento o disposición final, por ende las características de los aceites usados dependen de las propiedades de los aditivos utilizados en la formulación del aceite, de los equipos en los cuales fueron utilizados y de las condiciones de manejo durante su acopio y transporte [8].

En los grandes centros urbanos anualmente se generan grandes volúmenes de aceites usados provenientes del sector automotor, de aceites de proceso y aceites de transformadores, entre otros, siendo utilizados en su mayoría como combustibles en forma indiscriminada y sin tratamiento por la pequeña y mediana industria [3]. Debido a que no es posible garantizar que la totalidad del aceite usado generado sea dispuesto en una forma ambientalmente segura, y a que la principal preocupación se centra sobre los contaminantes que este residuo pueda contener, en Colombia fueron adoptados como concentraciones máximas permisibles de algunos compuestos y elementos contenidos en los aceites usados los valores máximos establecidos por la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA), con base en ello, se establece que las concentraciones máximas permisibles de contaminantes en aceites usados se regirán de acuerdo con los parámetros presentados a continuación en la Tabla 2-1 [10].

Tabla 2-1: Niveles de contaminantes permisibles en aceites usados.

SUSTANCIA	**CONCENTRACIÓN MÁXIMA PERMISIBLE (mg/kg. - ppm)**
Bifenilos policlorados (PCBs)	50
Halógenos orgánicos totales	1000
Arsénico	5
Cadmio	2
Cromo	10
Plomo	100
Azufre	1,7% en peso

Como preocupación adicional, los aceites usados provenientes del sector eléctrico o que hayan sido mezclados con aceites dieléctricos de desecho pueden estar contaminados con bifenilos policlorados (PCBs), estos compuestos fueron utilizados en cientos de aplicaciones industriales y comerciales incluyendo la fabricación de fluidos dieléctricos, bases para la producción de tintas de impresión, pinturas, plásticos, cauchos, aceites para maquinas, sellantes, bombas de vacío, sistemas hidráulicos, compresores e intercambiadores de calor[9]. Cuando los aceites que contienen compuestos clorados se usan como combustible, se generan dioxinas y furanos presentando efectos negativos sobre el organismo debido a que estos compuestos tóxicos son estables hasta temperaturas cercanas a los 600°C, además, los PCBs son liposolubles y persistentes al medio. Las principales afectaciones a la salud humana generadas por la exposición a estas sustancias se manifiestan a nivel de la piel presentando acné, hiperpigmentación, hipoqueratosis y a nivel del sistema nervioso presentando neuropatías, disfunciones sexuales y neuritis [9].

Teniendo en cuenta lo anterior y dada la necesidad de establecer las normas y los procedimientos básicos que deberán implementar las personas naturales o jurídicas debidamente certificadas por la autoridad ambiental que realizan actividades de disposición, eliminación de aceites usados mediante procesos de tratamiento, aprovechamiento, recuperación o disposición final se ha venido acogiendo el Manual de

Normas y Procedimientos para la Gestión de aceites usados en el cual se han establecido los procedimientos para la toma de muestras, preparación y análisis de laboratorio, así como el reporte y registro de cifras significativas, con el objeto de establecer el cumplimiento de los parámetros indicados, estos se regirán por las normas y métodos ASTM presentados en la Tabla 2-2 [7].

Tabla 2-2: Métodos para determinación de contaminantes en aceites usados.

ASTM	**IP**	**TÍTULO**
---------	120	Lead, Copper and Zinc in Lubricating Oils
D 129	61	Sulphur in petroleum products (general bomb method)
D 808	---------	Chlorine in new and used petroleum products (bomb method)
D 811	---------	Chemical analysis for metals in new and used lubricating oils
D 1317	118	Chlorine in new and used lubricants
EPA	SW846	PCBs (SCREENING)
EPA	8280	PCBs

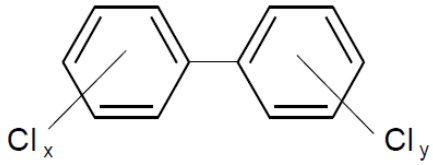
De esta forma en primera instancia por lo general el contenido de PCBs presentes en aceites usados se analiza por medio del método Screening-SW846 de la U.S EPA, sin embargo, los análisis cuantitativos de PCBs se realizan conforme al método 8280 de la U.S EPA [40], el método ASTM D6160: “Standard Test Method for Determination of Polychlorinated Biphenyls (PCB’s) in Waste Materials by Gas Chromatography” [53], o el método ASTM D4059: “Standard Test Method for Analysis of Polychlorinated Biphenyls in Insulating Liquids by Gas Chromatography” [54].

2.2 Bifenilos policlorados (PCBs).

La sigla PCBs o PCD se deriva del término inglés: PolyChlorinated Biphenyls, y ha sido utilizada para hacer referencia a un conjunto de compuestos aromáticos halogenados de

alta estabilidad térmica compuestos de dos anillos de benceno sustituidos con átomos de cloro, unidos por un enlace entre carbono y carbono, (Figura 2-1), resultan poco corrosivos y de muy baja inflamabilidad, por tal razón, fueron utilizados desde principios del siglo XX como aditivos en aceites, selladores, tintas, papel, pinturas y refrigerantes. Los PCB`s generalmente son de aspecto liquido aceitoso incoloro o amarillo claro, no tienen olor ni sabor y su síntesis química es llevada a cabo por el hombre [12], debido a que poseen un punto de ebullición elevado y una constante dieléctrica baja resultan ideales para emplearse como fluidos dieléctricos en transformadores y condensadores eléctricos, además poseen baja volatilidad, alta solubilidad en solventes orgánicos y no se deterioran fácilmente.

Figura 2-1 Estructura general de los PCBs.



Este conjunto de compuestos está conformado por cerca de 209 compuestos clorados conocidos como congéneres, en los cuales el o los átomos de cloro pueden adoptar diferentes posiciones relativas "orto", "para" y "meta" al enlace entre los dos anillos de la molécula constituida por anillos bencénicos, el número y la posición de los átomos de cloro determinan la clasificación y propiedades de las distintas moléculas, en general, los congéneres con bajo contenido de cloro son líquidos que fluyen libremente y se hacen más viscosos y menos volátiles al aumentar el contenido de cloro. Las preparaciones comerciales generalmente contienen una mezcla de alrededor de 130 congéneres y se clasifican según su contenido de cloro [13].

Los nombres de los PCB’s están clasificados según la IUPAC en tres tipos: homólogos congéneres y mezclas. Los homólogos se refieren al nombre general de los PCB’s dependiendo el número de átomos de cloro que este posea, los nombres de los

congéneres indican la posición de cada cloruro dentro de la molécula, mientras las mezclas se refieren a nombres comerciales. (Tabla 2-3) [22].

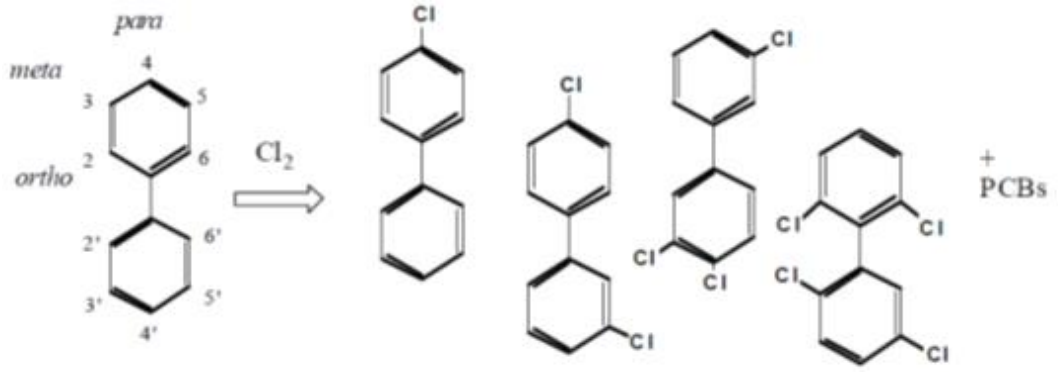
Tabla 2-3 Algunos nombres generales asignados a PCB's.

NOMBRE	TIPO
Monoclorobifenilo	Homólogo
Diclorobifenilo	Homólogo
Triclorobifenilo	Homólogo
Tetraclorobifenilo	Homólogo
Pentaclorobifenilo	Homólogo
Hexaclorobifenilo	Homólogo
Heptaclorobifenilo	Homólogo
Nonaclorabifenilo	Homólogo
Decaclorobifenilo	Homólogo
2-clorobifenilo	Congénere
2,2',3,3',4,4',5,6'-octaclorobifenil	Congénere
Aroclor 1254	Mezcla

Compañías como Monsanto Chemical en los Estados Unidos clasificaban sus PCB's comerciales conocidos como aroclor, de acuerdo con su contenido de cloro, por ejemplo, se colocan cuatro dígitos después de la palabra aroclor, los dos primeros dígitos del número corresponden al 10 o al 12. El número 12 indica un aroclor normal, mientras que el número 10 indica un producto de destilación de un aroclor. Los otros dos dígitos del código de cuatro indican el porcentaje de cloro existente en la mezcla por peso. De ahí que el aroclor 1254 contenga aproximadamente 54% de cloro por peso. Los aroclor más utilizados en maquilar los fluidos dieléctricos (Askarels) eran los aroclor 1242, 1254 y 1260 [24-25].

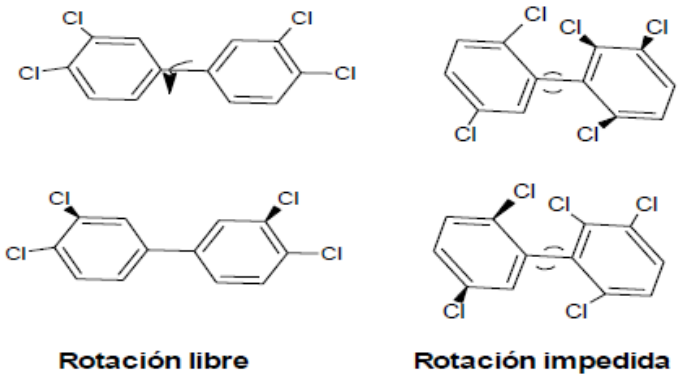
Los PCB' s se pueden obtener por diferentes rutas sintéticas, generalmente por cloración directa de sustratos aromáticos formando clorobifenilos no simétricos, (Figura 2-2), por reacciones de condensación arilo para producir clorobifenilos simétricos y por sustitución directa sobre un sistema de bifenilo desarrollado previamente [23].

Figura 2-2 Producción de PCBs por cloración directa de bifenilo.



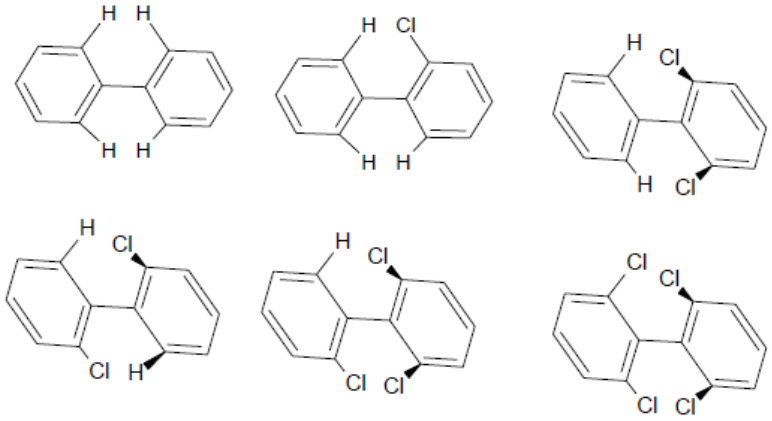
Los PCBs pueden lentamente sufrir eliminación natural de los átomos de Cloro más expuestos a fotólisis y a degradación microbiana, dando lugar a eliminación de los mismos, o simplemente a su reordenamiento en una molécula diferente [12], si las posiciones 2,2',6 y 6' no tienen ningún cloro, los bifenilos mantendrán una estructura coplanar, si se tiene al menos una posición 2,2',6 y 6' sustituida en cada lado los bifenilos mantendrán una estructura mono-orto sustituida, mientras si tienen más de una posición mantendrán una estructura no coplanar favorecida en la mayoría de moléculas de los PCB's. Cuando no existen átomos de cloro en posiciones orto, (Figura 2-3), el impedimento estérico de rotación alrededor del enlace fenilo-fenilo es mínimo y pueden adoptar la configuración coplanar con un requerimiento mínimo de energía. La introducción de un átomo de cloro en una de las posiciones orto a este enlace incrementa considerablemente el requerimiento energético para la libre rotación alrededor de este enlace, requerimiento que incrementa al aumentar las sustituciones adicionales en las restantes posiciones orto [21].

Figura 2-3 Ejemplos de a rotación libre e impedida alrededor del enlace entre anillos.



La posición de los átomos de cloro tiene mayor influencia que el número de sustituyentes, en especial cuando el número de átomos se encuentra entre tres y siete. El efecto de las sustituciones de átomos de cloro en posiciones orto puede clasificarse en seis categorías como se muestra en la Figura 2.4.

Figura 2-4 Efectos de las sustituciones del átomo de cloro en las posiciones orto.



La rotación alrededor del enlace entre anillo y anillo disminuye en los congéneres di-orto sustituidos debido a los impedimentos estéricos. Es imposible que se alcance la coplanaridad debido a la fuerte repulsión que se produce entre los dos átomos de cloro o entre el átomo de cloro y de hidrógeno cuando el bifenilo tiende a adoptar dicha conformación, asimismo, el número de conformaciones se limita aún más en los congéneres tri- y tetra-orto sustituidos. Los anillos en los congéneres tetra-orto sustituidos sólo pueden rotar como máximo 90º en cada dirección [22].

Se estima que desde 1930 se ha producido más de un millón de toneladas de PCBs en todo el mundo [13], sin embargo, la persistencia en el ambiente de este tipo de compuestos empezó a ser materia de preocupación hasta las últimas décadas del siglo pasado, cuando se comprobó que en los procesos de fabricación, uso y disposición de los mismos se generaba contaminación en aire, agua y suelo por causa de derrames accidentales, pérdidas durante su transporte y por fugas de equipos o productos que los contenían. Los efectos a largo plazo de estos compuestos son motivo de preocupación, debido a que aún hoy en día, pueden ser emitidos al ambiente desde sitios de disposición de residuos peligrosos, por disposición impropia o ilegal de residuos industriales y urbanos, por

pérdidas de transformadores eléctricos viejos conteniendo PCBs y durante la combustión de algunos residuos en incineradores.

En el agua los PCBs son ingeridos por pequeños organismos y peces, que a la vez constituyen alimento para otros animales, de esta forma, se acumulan en los tejidos grasos de peces y animales marinos, alcanzando niveles miles de veces mayores de los existentes en el agua, pudiendo llegar a través de la cadena alimenticia al hombre. La exposición del hombre a esta clase de compuestos desencadena efectos adversos a la salud incluyendo formas severas de acné (cloracné), hiperpigmentación de uñas y piel, debilidad, espasmos musculares, bronquitis crónica y una variedad de efectos neurológicos subjetivos, adicionalmente la Agencia Internacional de Investigación de Cáncer (IARC, International Agency for Research on Cancer), ha llegado a la conclusión de que existe una probable relación entre exposiciones prolongadas a altos niveles de PCBs en ambientes laborales y un aumento de la incidencia de cáncer, particularmente de hígado y riñón, por lo cual considera a los PCBs como probables carcinógenos en humanos (ASTDR 1997; IARC 1987) [12].

2.3 Tratamiento de PCBs.

El principal tratamiento para sustancias contaminadas con PCBs se basa en la incineración a altas temperaturas con altos tiempos de residencia, esta incineración por lo general se realiza en instalaciones especiales diseñadas específicamente para tratar sustancias contaminadas con este tipo de compuestos, la efectividad de la incineración es función del tiempo de residencia, la temperatura, la turbulencia y la concentración de oxígeno, dado que temperaturas inferiores a los 1200-1300 °C en el horno pueden dar lugar a la formación de compuestos tóxicos.

Sin embargo, en el caso de los aceites usados, aguas y suelos contaminados con PCBs existen otras tecnologías de tratamiento entre las que se destacan las siguientes:

2.3.1 Procesos de eliminación de cloro

En este método de tratamiento el contenido de cloro se convierte en sales inorgánicas que pueden extraerse de la fracción orgánica por filtración o centrifugación. Las reacciones se

realizan en atmosfera inerte, en ausencia de agua, y por lo general se usa sodio metálico, el cual es un metal reactivo que se oxida con facilidad y es capaz de reducir el cloro presente en los PCBs, este método tiene la ventaja de ser económico frente a la incineración y además permite recuperar y reutilizar el aceite [14].

2.3.2 Sistema de arco plasmático

En este sistema de tratamiento se crea un campo de plasma térmico dirigiendo una corriente eléctrica a través de una corriente de gas a baja presión, el desecho se piroliza en iones y átomos a una temperatura superior a 3000ºC. Entre los productos finales figuran gases como argón, dióxido de carbono y una solución acuosa de sales [14].

2.3.3 Oxidación con agua supercrítica

El agua en condiciones supercríticas es efectiva en la oxidación de los PCBs, sin embargo, para lograr una oxidación completa por lo general se utilizan catalizadores en el sistema. Como principales desventajas de este sistema se encuentran los requerimientos de altas temperaturas (450-500 °C), altas presiones (240-300 atm) y consumo de oxígeno lo que ocasiona que esta tecnología resulte relativamente costosa [14].

2.4 Biotratamiento de PCBs.

El biotratamiento o biotransformación es un proceso en varias etapas que involucra la descomposición de materia orgánica por organismos vivos, produciendo compuestos con características diferentes, de esta forma sustancias contaminantes pueden llegar a subproductos biológicos como dióxido de carbono, metano y agua. En estos procesos a través de los cuales un ser vivo modifica uno o más compuestos presentes en el aceite usado, el producto resultante puede ser aún más toxico que el inicial o puede presentar propiedades más adecuadas para su reutilización y aprovechamiento. Por lo general los microorganismos que pueden estar presentes en un aceite usado son muy similares a los que se encuentran en los aceites, tal como Acinetobacter, Pseudomonas, Ralstonia, Gordono, Rhodococcus, Agrobacterium y Debaryomyces. Estos microorganismos que pueden ser aerobios o anaerobios generan sedimentación de partículas, que pueden ser removidas como fango del aceite; el factor principal a tener en cuenta en esta clase de

procesos es la tasa de degradación de los compuestos considerados como contaminantes, sin embargo, en un proceso de biotratamiento la forma más fácil de degradar completamente los contaminantes presentes en los aceites usados es usar una degradación secuencial con diferentes microorganismos. Esta consiste en usar microorganismos distintos, usando primero uno de ellos y luego el producto de cada etapa se utiliza como sustrato para el siguiente. Debido a las dificultades que presenta el realizar un proceso de tratamiento continuo con una gran diversidad de microorganismos, los métodos de biotratamiento de aceites usados son poco utilizados de forma industrial, siendo preferidos los métodos de tratamiento que combinan métodos fisicoquímicos y biológicos, de esta forma es posible trabajar con una sola clase de microorganismos evitando los inconvenientes de trabajar con una gran cantidad de estos [11].

Adicionalmente las moléculas de PCBs pueden ser eliminadas por procesos anaeróbicos seguidos por la oxidación de bacterias aeróbicas, resultando en la degradación de la mayoría de las estructuras, sin embargo, la tendencia a biodegradarse de los PCBs varía en función del grado y posición de los átomos de cloro en las moléculas; en este sentido, los PCBs con mayor cantidad de cloros son más resistentes y tienen mayor tendencia a bioacumularse, por ejemplo, la solubilidad de los PCBs cambia de 6 mg/L en el monoclorobifenilo a 0,007 mg/L en el octaclorobifenilo [26], así mismo, los congéneres más tóxicos son lo que presentan una conformación coplanar, dado que dichos congéneres no tienen cloros en posición orto, por el contrario, tienen cloros en las dos posiciones para y, en las dos posiciones meta.

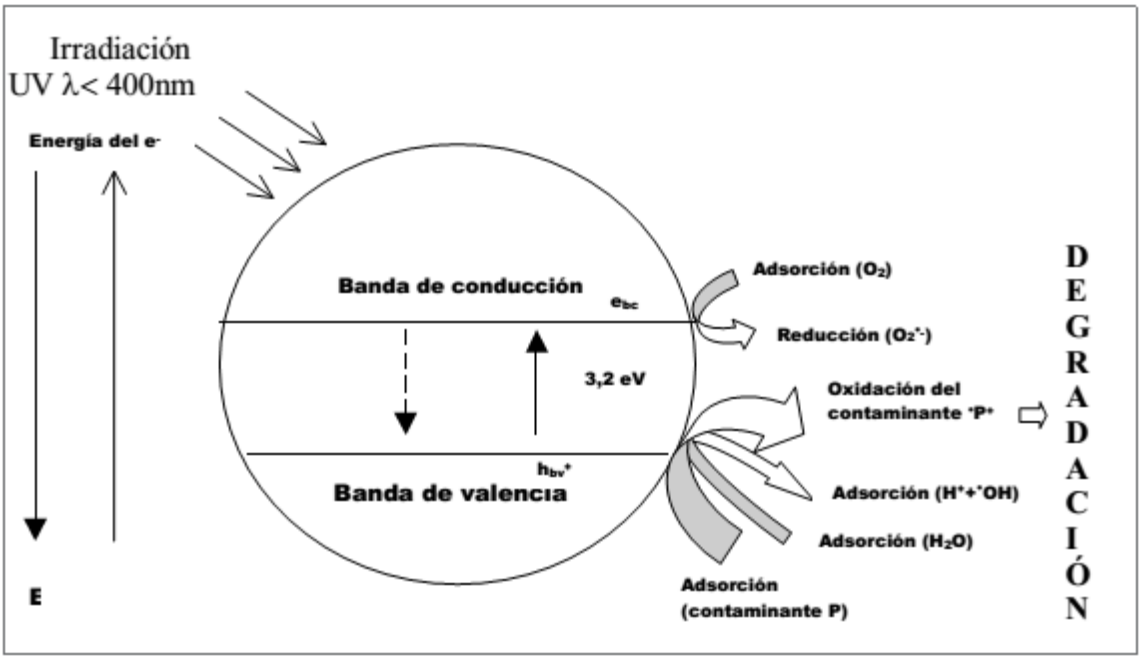
2.5 Fotocatálisis heterogénea.

La fotocatálisis heterogénea es una disciplina que incluye una gran variedad de reacciones químicas y se la puede considerar como una de las nuevas tecnologías avanzadas de oxidación (TAO), esta puede realizarse en diferentes medios (fase gaseosa, fases líquidas orgánicas puras o disoluciones acuosas) y en cuanto a la catálisis heterogénea clásica, el proceso general puede descomponerse en cinco pasos independientes: transferencia de los reactivos de la fase del fluido a la superficie, adsorción de al menos uno de los reactivos,

reacción en la fase adsorbida, desorción de los productos y remoción de los productos de la región interfacial.

Cuando un catalizador semiconductor de tipo calcogenuro (óxidos o sulfuros) es irradiado con fotones cuya energía es igual o superior a la de la energía del bandgap ocurre una absorción de estos fotones y una creación dentro del conjunto de pares electrón-hueco, que se disocian en fotoelectrones libres en la banda de conducción y en fotohuecos en la banda de valencia (Figura 2-5) [42].

Figura 2-5 Diagrama de la banda de energía de una partícula esférica de TiO_2.



Simultáneamente, en presencia de una fase fluida gas o líquido, ocurre una adsorción espontánea y, dependiendo del potencial redox o nivel de energía de cada adsorbato, se realiza una transferencia de electrones hacia las moléculas aceptoras, mientras que un fotohueco positivo es transferido a una molécula donora (en realidad la transferencia del hueco corresponde a la cesión de un electrón por parte del donor al sólido). Cada ion formado subsiguientemente reacciona para formar los intermediarios y los productos finales. Como consecuencia de las reacciones, la excitación fotónica del catalizador aparece como el primer paso de la activación de todo el sistema de catálisis. De allí que el fotón eficiente debe considerarse como un reactivo y el flujo de fotones como una fase

fluida especial, la fase electromagnética. La energía del fotón debe adecuarse a las propiedades de absorción del catalizador, no de los reactivos. En este proceso la única diferencia con la catálisis convencional es el modo de activación del catalizador, ya que la activación térmica es reemplazada por una activación fotónica.

Principalmente como catalizadores se han utilizado varios calcogenuros óxidos y sulfuros: TiO_2, ZnO, CeO_2, ZrO_2, SnO_2, Sb_2O_4, CdS, ZnS, etc. Se observa en general que los mejores desempeños fotocatalíticos, con máximos rendimientos, se obtienen siempre con dióxido de titanio, además, la anatasa es la forma alotrópica más activa entre las diferentes formas disponibles, ya sea natural o artificial en comparación con las fases rutilo y brookita.

Dependiendo de la reacción considerada, es posible elegir diferentes fotorreactores, por lo general para experimentos de laboratorio, se utilizan fotorreactores en batch, ya sea con agitación mecánica o magnética, iluminados con lámparas UV.

Las variaciones de la velocidad de reacción como función de la longitud de onda siguen el espectro de absorción del catalizador, con un umbral correspondiente a la energía del bandgap, para el TiO_2 con E = 3,02 eV, es necesaria una radiación de 400 nm, es decir, longitudes de onda del UV cercano (UV-A).

A causa de la activación fotónica, no es necesario calentar los sistemas foto catalíticos, ya que pueden funcionar a temperatura ambiente, la verdadera energía de activación, relativa a la verdadera constante de velocidad, es nula, mientras que la energía de activación aparente a menudo es muy pequeña, del orden de unos pocos kJ/mol en el rango de temperaturas medias ($20°C \leq T \leq 80°C$). Esto significa que la temperatura es un parámetro secundario.

Se ha demostrado, para todo tipo de reacciones fotocatalíticas, que la velocidad de reacción es proporcional al flujo radiante, esto confirma la naturaleza fotoinducida de la activación del proceso catalítico, con la participación de cargas eléctricas fotoinducidas (electrones y huecos) en el mecanismo de la reacción [42].

2.6 Microalgas.

Ficología es el estudio científico de las algas, deriva del griego phykos que significa "alga marina", en la literatura se pueden encontrar distintas definiciones de alga debido, principalmente, a la gran variedad de especies existentes y a las distintas formas de aprovechamiento y utilización que se han desarrollado; si bien no se contradicen, no definen de forma completa y especifica al grupo. Una definición sencilla y bastante aceptable es la que denomina alga a los diversos organismos autótrofos de organización sencilla que contienen clorofila a, realizan la fotosíntesis oxigénica (productora de oxígeno) y que viven en el agua o en ambientes muy húmedos. Bajo este contexto, las cianobacterias o algas verde-azules, procariotas se han considerado tradicionalmente dentro del grupo; así mismo, según esta definición, quedan excluidas las bacterias fotosintéticas, ya que no contienen clorofila a sino bacterioclorofila y realizan fotosíntesis anoxigénica [37].

Como se mencionó es una definición aceptable, sin embargo, la ficología agrega conceptos y características importantes que definen de una mejor manera al grupo de algas; así pues los ficologistas consideran alga a cualquier organismo con clorofila a y un cuerpo no diferenciado en raíces, tallo y hojas. Las cianobacterias también se incluyen en esta definición, a pesar de que son organismos procariotas. Además se debe mencionar que las algas son thallophytes (plantas que carecen de raíces, tallos y hojas) que tienen clorofila a como pigmento fotosintético primario y carecen de una cubierta de células estériles alrededor de las células reproductoras. Esta definición abarca una serie de formas vegetales que no necesariamente están estrechamente relacionadas; por ejemplo, las cianobacterias que están más cerca en evolución de las bacterias que al resto de las algas. Por otro lado, las algas y las plantas producen los mismos compuestos de almacenamiento, usan mecanismos similares de defensa contra depredadores y parásitos, y existe una fuerte similitud morfológica entre algunas algas y plantas, sin embargo, esto lleva a una mayor confusión dado que, si bien hay muchas similitudes entre ambas, son muchas más sus diferencias; así las algas no tienen ninguna de estas características propias de las plantas: raíces, tallos, hojas, ni tejidos vasculares bien definidos [37].

A pesar que muchas algas tiene el aspecto de las plantas y algunos de ellas muestran la especialización y diferenciación de las células vegetativas, ellas no forman embriones, sus estructuras reproductivas están formadas por células que son potencialmente fértiles y

carecen de células estériles de recubrimiento o protección. El desarrollo parenquimatoso está presente sólo en algunos grupos y tienen ciclos de vida monogenéticos y digenéticos. Por otra parte, las algas se presentan en formas diferentes, tales como células microscópicas individuales, macroscópicos multicelulares conglomerados sueltos o vaporosos, colonias mates o ramificadas, o formas de hoja o cuchilla más complejas, que contrastan fuertemente con la uniformidad de las plantas vasculares.

En conclusión tenemos que las algas son un grupo independiente sin superposición con los vegetales ni con ningún otro conjunto [37].

2.7 Clasificación de las microalgas

Tradicionalmente, las algas han sido clasificadas según sea el pigmento fotosintético que posean en los cromoplastos, de esta forma, pueden ser verdes, si tienen abundante clorofila (Chlorophyta), pardas o rojas, si predominan otros pigmentos como la ficoxantina de color pardo-amarillenta o la ficoeritrina de color rojo (Rhodophyta), o verdeazuladas (Cyanophyta) y esta característica sigue siendo de cierta importancia (Figura 2-6) [43].

Sin embargo, no existe un sistema de clasificación, fácilmente definible y ampliamente aceptado, debido a que la taxonomía es objeto de rápida y constante revisión a todos los niveles siguiendo cada día nuevas evidencias genéticas y ultra estructurales. Se debe tener en cuenta, además, que el carácter polifilético del grupo de algas es de algún modo incompatible con los tradicionales agrupamientos taxonómicos, a pesar que siguen siendo útiles para definir el carácter general y el nivel de organización, y el hecho de que la opinión taxonómica puede cambiar a medida que la información se acumula. No obstante, y dada la necesidad e importancia de clasificar este grupo, la investigación con microscopios electrónicos ha demostrado diferencias en las características, dando lugar a la determinación de los actuales sistemas de clasificación de las algas, los que se basan en los siguientes criterios principales: tipo de pigmentos, la naturaleza química de los productos de almacenamiento y componentes de la pared celular; así mismo se toma en cuenta, como criterios adicionales, los siguientes caracteres citológicos y morfológicos: la presencia de células flageladas, la estructura de los flagelos, el esquema y la trayectoria de la división nuclear y el proceso de división citoplasmática, la presencia de una envoltura

de retículo endoplasmático alrededor del cloroplasto, y la posible conexión entre el retículo endoplasmático y la membrana nuclear [37].

Figura 2-6 Algunos ejemplos de microalgas.

a) Pediastrum sp (Chlorophyceae)

b) Porphyra umbilicalis (Rhodophyta)

c) Anabaena flosaquae (Cyanophyta)

d) Ceratium sp umitunoobimusi (Dinophyta)

Uno de los primeros científicos en destacar la importancia filogenética de las membranas adicionales alrededor de la envoltura del cloroplasto fue Lee (1989), de esta manera se pueden encontrar cuatro grupos distintos dentro de las microalgas: el primer grupo incluye las algas procariotas, siendo las únicas las cianobacterias; los otros grupos se clasifican con respecto a la evolución del cloroplasto, y son algas eucariotas, siendo el segundo grupo, algas eucariotas con cloroplastos rodeados por las dos membranas de la envoltura del cloroplasto; el tercer grupo, algas eucariotas con el cloroplasto rodeado por una membrana del retículo endoplasmático cloroplasto; y el cuarto grupo, algas eucariotas con los cloroplastos rodeados por dos membranas de retículo endoplasmático cloroplasto [37].

En la sistemática de las algas se utiliza el sistema estándar de clasificación botánica: Filo – phyta, Clase – phyceae, Orden – ales, Familia – aceae, Género, Especie. La posición sistemática del grupo de las algas ha cambiado varias veces en los últimos años [37].

2.8 Composición química de las microalgas

Las algas están compuestas, principalmente, por proteínas, carbohidratos y lípidos; así como también por una gran variedad de vitaminas y elementos (yodo, potasio, hierro, magnesio, calcio, etc.) en diferentes proporciones dependiendo de la cepa que se esté analizando. Las microalgas de diferentes orígenes, salvo algunas excepciones, se parecen entre sí en términos de composición celular, particularmente en lo relativo a las cantidades de proteína cruda, lípidos y carbohidratos que contienen cuando se cultivan en condiciones de crecimiento cercanas a las óptimas [37].

Para una sola especie, por otra parte, la variación en la composición de la célula puede diferir muchas veces, de acuerdo con las condiciones de cultivo. Por ejemplo, Chlorella sp., braunii Botryococcus, y Dunaliella salina, que están todas clasificadas en Chlorophyceae, muestran la composición bioquímica típica: 30-50% de proteínas, 20-40% de hidratos de carbono y 8-15% de lípidos en buenas condiciones ambientales; estas especies, sin embargo, en condiciones ambientales desfavorables pueden acumular por encima de 80% de ácidos grasos, 80% de hidrocarburos y 40% de glicerol, respectivamente, sobre la base del peso seco. Evidentemente, los factores ambientales, especialmente la luz, temperatura, nivel de nutrientes y la salinidad, no sólo afectan la fotosíntesis y la productividad de biomasa celular, sino que también influyen en el modelo, la vía y la actividad del metabolismo celular y por lo tanto en la composición celular dinámica. Los efectos de estas últimas tienen implicaciones biotecnológicas de gran alcance y consecuencias.

La composición de aminoácidos y proteína de microalgas es muy similar entre las especies y relativamente poco afectada por la fase de crecimiento y las condiciones de luz. Además, la composición de aminoácidos esenciales en las microalgas es muy similar al de proteína a partir de larvas de ostras (Crassostrea gigas), esto indica que es poco probable que la calidad de las proteínas sea un factor que contribuya a las diferencias en el valor nutricional

de especies de microalgas. Esteroles, minerales y pigmentos, pueden contribuir a las diferencias nutricionales.

El contenido de vitaminas puede variar entre cepas. El ácido ascórbico muestra la mayor variación, hasta 16 veces. Las concentraciones de otras vitaminas muestran típicamente una diferencia de dos a cuatro veces, entre las especies, es decir, β-caroteno 0,5-1,1 mg, niacina 0,11-0,47 mg, a-tocoferol desde 0,07 hasta 0,29 mg, tiamina 29-109 mg, riboflavina 25-50 mg, ácido pantoténico 14-38 mg, folatos 17-24 mg, piridoxina 3,6 a 17 mg, cobalamina 1,8-7,4 mg, biotina 1,1-1,9 mg, retinol 2,2 mg y vitamina D, 0,45 mg [37].

2.9 Aplicaciones de las microalgas

El hombre ha utilizado microalgas y macroalgas durante cientos de años como alimento humano, forraje, remedios y fertilizantes, por otra parte, gracias a recientes investigaciones se sabe que las microalgas podrían ser la base de combustibles ecológicos, de alimentos que ayudarían a cuidar la dieta y luchar contra el cáncer, o de sistemas que absorberían el dióxido de carbono y óxidos de nitrógeno, contribuyendo a mitigar el cambio climático.

Las microalgas también podrían ser utilizadas en el tratamiento de aguas residuales, las depuradoras convencionales necesitan productos químicos y energía para realizar su trabajo; estos organismos podrían, al menos en la última fase del proceso de tratamiento, limpiar el agua al aprovechar los desechos orgánicos como nutrientes [37]. Llevando a cabo una eficiente bioconversión de la energía solar, en la utilización y eliminación de materia orgánica, lo cual se traduce naturalmente en generación de biomasa, mejorando la calidad del efluente y aumentado la concentración de oxígeno. Esta biomasa de microalgas puede ser aplicada en sistemas de producción [38].

2.10 Parámetros de cultivo de las microalgas

Los parámetros más importantes que regulan el crecimiento de las microalgas son la calidad y cantidad de nutrientes, la luz, el pH, la agitación y mezcla, la salinidad y la temperatura. Los parámetros óptimos, así como los rangos de tolerancia son específicos para cada especie [37].

2.10.1 Luz

Al igual que en las plantas, la luz es la fuente de energía que impulsa las reacciones de fotosíntesis en las algas, y por tanto su crecimiento, en este sentido se debe considerar la intensidad, la calidad espectral, y la necesidad de fotoperiodo. La intensidad de la luz juega un papel importante, pero los requerimientos varían ampliamente de acuerdo a la profundidad y la densidad del cultivo algal, a mayor profundidad y concentración celular se debe aumentar la intensidad de la luz para atravesar el cultivo; pero una intensidad de luz demasiado alta puede dar lugar a la foto-inhibición. Por lo tanto, todos los sistemas de cultivo de algas son poco profundos y optimizados para capturar la cantidad suficiente de luz. No obstante muchas especies no crecen bien bajo iluminación constante, a pesar de que el cultivo de microalgas normalmente se desarrolla de esta forma, por lo tanto se utiliza un ciclo luz/oscuridad (LD), (16:08 máxima LD, generalmente 14:10 o 12:12). Por otra parte, se debe evitar el sobrecalentamiento debido a la iluminación tanto natural como artificial [37].

2.10.2 Carbono

Como todos los organismos fotosintéticos, las algas utilizan Dióxido de Carbono como fuente de carbono y su suministro insuficiente es a menudo un factor limitante de la productividad. Sobre la base de la composición química promedio de la biomasa de algas, se necesita aproximadamente 1,8 toneladas de Dióxido de Carbono para producir una tonelada de biomasa. La disolución natural de Dióxido de Carbono del aire en el agua no es suficiente, esto se podría mejorar con el burbujeo de aire a través del agua, pero, ya que el aire contiene aproximadamente 0,03 por ciento de Dióxido de Carbono, todo el dióxido de carbono en alrededor de 37,000 m3 de aire sería necesario para producir una tonelada de biomasa seca. Frente a esto surgen otras opciones como el uso de dióxido de carbono puro, lo que es bastante caro, o una fuente de dióxido de carbono de desecho como gas de combustión de una caldera [37].

En los sistemas abiertos de cultivo no todo el dióxido de carbono suministrado será absorbido, por lo que se añade gas de combustión en exceso; en principio, todos los gases de salida disponibles se pueden añadir al estanque de algas, parte del CO_2, NO_X y SO_X se disolverá, y el resto entrará en la atmósfera como ocurre normalmente, por otra parte, las

altas concentraciones de dióxido de carbono y dióxido de azufre disuelto afectan el pH del medio, por lo que deben ser controlados o atenuados. El rango de pH para cultivos de la mayoría de especies de algas es entre 7 y 9, aunque hay especies que habitan en entornos más ácidos y básicos [37].

2.10.3 Nutrientes

Además del dióxido de carbono y la luz, las algas necesitan nutrientes para crecer, siendo los más importantes nitrógeno y fósforo. Estos pueden ser suministrados en forma de abono como en agricultura lo que es simple y de fácil acceso, pero puede ser un factor de coste significativo. Hay varias opciones para abaratar las fuentes de estos nutrientes, como el empleo de fuentes de agua residual, o el reciclaje de nutrientes dentro del proceso, dependiendo de la tecnología de producción elegida [37].

2.10.4 Temperatura y agitación

La temperatura es el factor limitante más importante, después de la luz, para los cultivos de algas en sistemas abiertos y cerrados al aire libre. Los efectos de la temperatura para muchas especies de microalgas en laboratorio están bien documentados. La temperatura ideal a mantener en los cultivos debe ser lo más cercana posible a la temperatura del hábitat natural de los organismos; organismos polares (<10 °C), templados (10-25 °C); tropicales (>20 °C). La mayoría de especies de microalgas comúnmente cultivadas toleran temperaturas entre 16 y 27 °C, aunque esto puede variar con la composición del medio de cultivo, la especie y cepa cultivada; generalmente se emplea un valor intermedio de 18-20°C [37].

La agitación es necesaria para evitar la sedimentación de las algas, garantizar que todas las células estén expuestas a la luz y a los nutrientes, evitar la estratificación térmica y para mejorar el intercambio de gases entre el medio de cultivo y el aire; esto último es de vital importancia, ya que, el aire contiene dióxido de carbono, fuente de carbono para la fotosíntesis. Por otro lado la alta velocidad del medio y los grados de turbulencia puede dañar las microalgas debido al esfuerzo cortante; el nivel óptimo de la turbulencia (por encima del cual se produce la muerte celular) depende de la cepa y debe ser investigado a fin de evitar la disminución de la productividad. Dependiendo de la escala del sistema de cultivo, la mezcla se logra por agitación diaria (tubos de ensayo, Erlenmeyers), aireación

(bolsas, tanques, foto-biorreactores), o usando agitadores de paletas y bombas de inyección (estanques, raceways). A la mayoría de cultivos les va bien con una baja agitación, sobre todo cuando no están muy concentrados, pero siempre que sea posible, se recomienda suave agitación diaria [37].

2.11 Diseño de experimentos

Los diseños estadísticos experimentales conocidos como “Diseño de Superficie de Respuesta” por sus siglas en inglés: RSM “Response Surface Methodology”, son métodos estadísticos empleados después de una selección de los factores importantes, generalmente realizados a través de un diseño factorial, que hacen uso del primer, segundo o superior orden polinomiales para modelar la relación entre las variables independientes o factores (x_1, x_2, x_3… x_n) y la variable de respuesta (y) [44].

2.11.1 Modelo de primer orden sin factores de interacción

Este modelo de Superficie de Respuesta, puede expresarse mediante la siguiente forma general (2-1):

$$y = \beta_o + \sum_{i=1}^{k} \beta_i x_i + \varepsilon \qquad (2\text{-}1)$$

Donde ε es el termino de error y β_i son los efectos lineales, para cualquier modelo, el mínimo número de experimentos necesarios para ajustar el modelo es igual al número de parámetros desconocidos p = (k+2) (k+1)/2. El modelo lineal produce respuestas de superficie que son hiperplanos y la adición de términos de interacción permite solamente deformaciones de hiperplano [56].

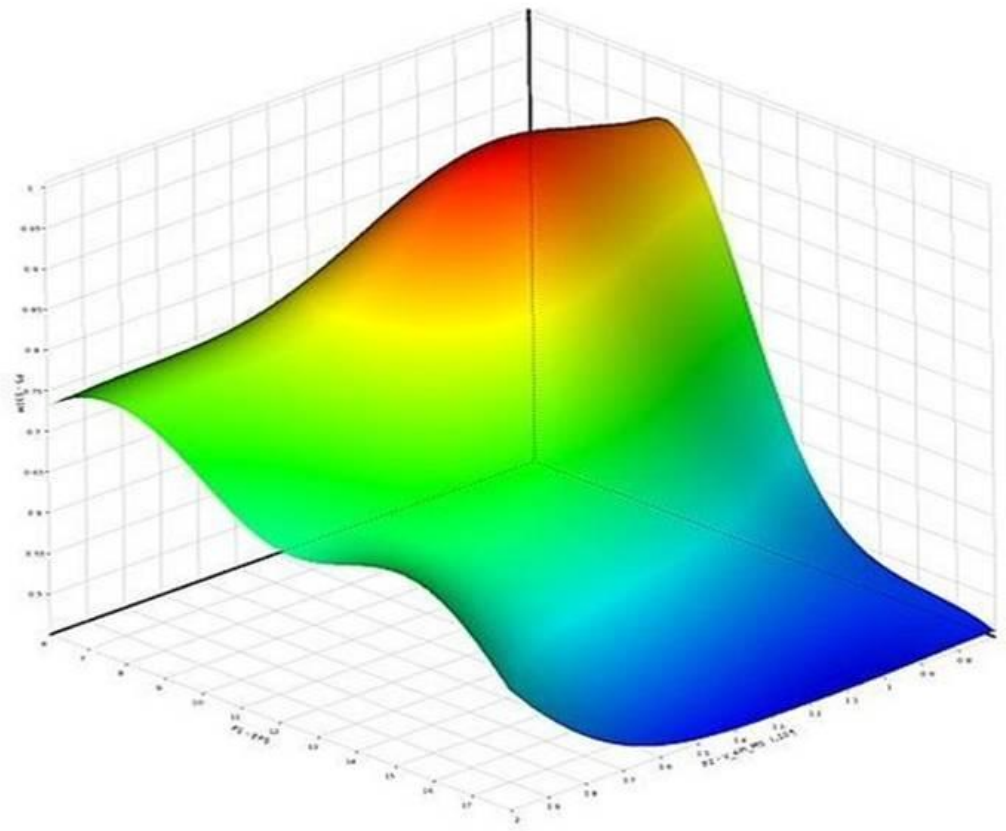
2.11.2 Modelos de superficie de respuesta de orden superior

En los modelos de superficies de respuesta los términos cuadráticos del modelo de segundo orden capturan la curvatura potencial en relación entre factores y variables de respuesta, mostrando superficies de respuesta con un máximo, mínimo, aumento de cresta, lomo, etc., y consecuentemente localizando una respuesta óptima (Figura 2-7) [44]. En estos modelos el reto consiste en seleccionar el que sea apropiado para encajar un modelo de superficie de respuesta asegurando que el diseño contiene suficiente flexibilidad para modelar adecuadamente la superficie al polinomio real.

Para el caso particular del modelo de segundo orden, los diseños de superficie de respuesta usan factores de 3 a 5 diferentes valores, llamados niveles, donde, diferentemente a los diseños factoriales, no todas las combinaciones de esos niveles aparecen en el diseño [56].

Figura 2-7 Ejemplo de superficie de respuesta.

(Aplicaciones del diseño de experimentos en la Industria Farmacéutica)



Como una característica deseable, estos diseños tienen que ser giratorios, esta capacidad giratoria es una propiedad importante debido a que el objetivo es optimizar y como la localización del óptima es desconocido es necesario usar un diseño que de estimaciones exactas en todas las direcciones, es decir, que la varianza de la respuesta predicha a cualquier punto depende solamente de la distancia del punto central del diseño y no es una función de la dirección [56].

2.12 Diseños experimentales para acondicionamiento de superficie de respuesta

Cuando es necesario modelar la superficie de respuesta de un producto, proceso o sistema a través de un polinomio de segundo orden, un diseño experimental tiene que ser seleccionado para dar una distribución razonable de puntos de datos en toda la región de interés y permitir investigar la conveniencia de la ecuación de regresión, así como permitir la construcción secuencial de mayores diseños de orden, asegurando la simplicidad en la estimación de los parámetros del modelo.

De la definición de los Diseños de Superficie de Respuesta tiene que haber por lo menos tres niveles para cada variable independiente (nivel inferior, intermedio y superior), generando un Diseño Factorial Completo 3^k. Sin embargo, este diseño no es realmente satisfactorio en la mayoría de los casos, ya que posee más ensayos que los necesarios para encajar en el modelo. Por ejemplo, para k=3, el diseño requiere 27 ensayos experimentales [56].

Con el objetivo de reducir la cantidad de ensayos experimentales, es posible emplear los siguientes diseños de superficie:

Diseño Compuesto Central (Central Composite Design / CCD)

Un diseño Compuesto Central Box-Wilson, comúnmente llamado “Diseño Compuesto Central”, está constituido por un conjunto de puntos del diseño factorial completo 2^k o el diseño factorial fraccional 2^{k-p}; un grupo de ”Puntos Axiales” a lo largo del axis, donde cada

factor es seleccionado en sus niveles mayores o menores (hacia una distancia +/- α del centro del diseño) y un número de puntos centrales.

El número total de puntos de diseño necesitados (N) es determinado por la expresión: $N=2^k + 2k + C_O$, donde k es el número de factores y C_O es el número de puntos centrales o estrellas.

Existen tres variaciones del Diseño Compuesto Central. El tipo de CCD usado (posición de los puntos factoriales) es determinado por el número de factores y por las propiedades deseadas del diseño (ortogonalidad y capacidad giratoria).

Este diseño requiere cinco niveles de cada factor. El diseño consiste de puntos factoriales, que es el producto de los intervalos [-1, +1], puntos estrellas a lo largo del axis y fuera del espacio factorial y puntos centrales en el origen. El valor preciso de α dependerá del número de factores, de acuerdo a la relación $\alpha=+/- 2^{k/4}$.

Para aquellas situaciones en las que los niveles especificados para el factor tienen restricciones, los puntos centrales podrían usar los parámetros de factores +/- 1 y crear una factorial o un diseño factorial fraccional dentro de esos límites. Este nuevo acuerdo es llamado CCD – Inscrito. Este diseño también requiere cinco niveles de cada factor.

Por último se tienen 3 niveles para cada factor, diferente a los anteriores que tienen 5 niveles por cada factor. Así, este diseño posee el punto central en el espacio de las caras de la región del diseño, de modo que $\alpha=+/-1$[56].

Diseño Box – Behnken

El diseño Box – Behnken es un diseño cuadrático independiente que no posee un diseño factorial o un factorial fraccional. Estos diseños son giratorios, pero poseen capacidad limitada de bloqueo ortogonal comparado con el Diseño Compuesto Central.

En comparación con los CCD, los diseños Box – Behnken usan solo 3 niveles para cada factor. Las combinaciones de los niveles de los factores están en los puntos centrales del axis del espacio de diseño y en el centro. Por ejemplo, el Diseño Box – Behnken para tres factores envuelve tres bloques, en cada uno de ellos 2 factores son variados a través de las 4 posibles altas y bajas combinaciones. Es además necesario incluir puntos centrales, donde todos los factores están en sus valores centrales. En consecuencia, estos diseños no contienen puntos en el vértice de la región experimental.

El número de experimentos requeridos (N) es definido por la expresión $N=2k\ (k-1) + C_O$, donde k es el número de factores y C_O es el número de puntos centrales [56].

Diseño Doehlert

El Diseño Doehlert describe un dominio experimental esférico y destaca la uniformidad en el llenado de espacio. Si bien esta matriz no es ortogonal ni giratoria, no difieren significativamente de la calidad requerida para uso efectivo.

El Diseño Doehlert para dos factores consiste de un punto central y seis puntos formando un hexágono regular. Para tres factores puede ser visto de diferentes maneras, dependiendo de la estructura geométrica seleccionada.

En los Diseños Doehlert el número de niveles no es el mismo para todos los factores. En un Diseño Doehlert de dos factores, por ejemplo, un factor es estudiado a cinco niveles mientras la otra es estudiada solamente a tres niveles.

El número de experimentos requeridos (N) es dado por $N= k^2 + k + C_O$, donde k es el número de factores y C_O es el número de puntos centrales [56].

3. Antecedentes de la investigación

3.1 Problemática y normatividad

En Colombia a través de la Ley 253 de 1996, con el apoyo de la Organización de las Naciones Unidas, se adoptaron los lineamientos presentes en la Convención de Basilea sobre el control de los movimientos transfronterizos de los desechos peligrosos y su eliminación, en este tratado multilateral el aceite usado es clasificado como un Residuo Peligroso, pues sus principales contaminantes son altamente tóxicos (plomo, cloro, bario, magnesio, zinc, fósforo, cromo, níquel, aluminio, cobre, estaño y azufre, entre otros) y su uso inadecuado afecta no sólo a los seres vivos sino también al ambiente [7]. Desde entonces el tema de los aceites usados ha influido en las políticas ambientales nacionales, generando acciones por parte de la autoridad ambiental entre las que se destacan: la Ley 430 de 1998 por la cual se dictaron normas prohibitivas en materia ambiental, referentes a los desechos peligrosos permitiendo impulsar la utilización de aceites lubricantes de desecho para la generación de energía eléctrica, las Resoluciones 189 de 1994 y 415 de 1998 por medio de las cuales se adoptaron regulaciones para impedir la introducción al territorio de residuos peligrosos entre los que se cuentan los residuos tóxicos como los contenidos en lo aceites usados, y se establecieron los casos en los cuales se permite la combustión de los aceites de desecho y las condiciones técnicas para realizar la misma, el Decreto 1220 de 2005 el cual reglamenta el Título VIII de la Ley 99 de 1993 sobre licencias ambientales, la Resolución 1446 del 2005 por la cual se establecieron requisitos y condiciones para aprovechar el aceite de desecho o usado generado en el país [9], el Decreto 4741 de 2005 por el cual se reglamenta parcialmente la prevención y el manejo de los residuos o desechos peligrosos generados en el marco de la gestión integral, la Resolución DAMA (Secretaria Distrital de Ambiente) 1188 del 2003, por la cual se adoptó el Manual de Normas y Procedimientos para la Gestión de aceites usados en el Distrito Capital y la Resolución 0222 de 2011 por la cual se establecen requisitos para la gestión ambiental integral de equipos y desechos que consisten, contienen o están contaminados con bifenilos policlorados, por tal razón conforme a lo establecido en la normatividad

ambiental vigente los aceites usados provenientes del sector eléctrico o actividad afín, deberán contar con la documentación necesaria suministrada por el generador o acopiador primario que genere este tipo de residuo y que certifique los niveles contenidos de PCBs analizados por un laboratorio debidamente acreditado.

3.2 Fotocatálisis de PCBs

La fotocatálisis heterogénea de moléculas como los PCBs depende de parámetros como la intensidad de la radiación UV, naturaleza y concentración del catalizador, concentraciones y pH inicial, etc., sin embargo, en la literatura es posible encontrar reportadas condiciones experimentales empleadas para la degradación por fotocatálisis heterogénea de PCBs.

En el año 1997 los autores Chao-Yin Kuo y Shang-Lien Lo realizaron tratamiento de 4-Clorobifenilo con radiación UV sobre dióxido de titanio empleando una concentración inicial de 4-Clorobifenilo de 0 a 500 microgramos/litro, TiO_2 (Degussa, P25), un tubo fluorescente UV 500 W (Oriel 6285), pH menor a 2 y un tiempo de reacción de 24 a 100 horas, encontrando que la temperatura es un factor importante que controla la adsorción del 4-Clorobifenilo, el ΔH de adsorción el cual es >0 (usualmente) causa la adsorción del 4-Clorobifenilo al incrementar cuando incrementa la temperatura [45].

En el año 1998 los autores Chia-Swee Hong, Yongbing Wang y Brian Bush realizaron el estudio de la cinética y de los productos de la degradación fotocatalítica de 2-Clorobifenilo en agua empleando una concentración inicial de 2-Clorobifenilo de 1,4 x 10^{-3} mol/L, Catalizador TiO_2 (P-25, concentración de 1,25 mg/50mL, área superficial especifica de 50 m^2/g), tubos de luz UV A – 340, pH entre 7,6 - 7,8 y un tiempo de reacción de 16 horas, encontrando que la degradación fotocatalítica de 2- Clorobifenilo sobre la superficie del TiO_2 es compleja y un mecanismo detallado no puede proporcionarse sobre las bases del trabajo, además, la naturaleza de los intermediarios primarios sugiere que la vía fotocatalítica envuelve un ataque de radicales hidroxilo sobre la estructura aromática clorada [46].

En el año 1999 los autores Yongbing Wang y Chia-Swee Hong realizaron el estudio del efecto del peróxido de hidrogeno, peryodato y persulfato sobre la fotocatálisis de 2-clorobifenilo en suspensiones acuosas de TiO_2, empleando soluciones patrón de 2

Clorobifenilo (Soluciones Stock Hong y Qiao), catalizador TiO_2 (P-25 polvo, no poroso. 80% anatasa, diámetro promedio 0,02mm, concentración 25 mg/l, área superficial especifica 50 m^2/g), tubos de luz UV A – 340, pH de 6,8 y un tiempo de reacción de 80 minutos, encontrando que la adición de oxidantes orgánicos como el H_2O_2, $S_2O_8^{-2}$ y IO_4^- no muestran efecto significativo en la degradación fotocatalítica de 2-clorobifenilo sobre TiO2 [47].

En el año 2000 los autores Yongbing Wang y Chia-Swee Hong realizaron el estudio de la foto mineralización de 2-clorobifenilo sobre TiO_2 empleando soluciones patrón de 2 Clorobifenilo (Soluciones Stock Hong y Qiao 1995), catalizador TiO_2 (P-25 polvo, no poroso, concentración 25 mg/l, área superficial especifica 50 m^2/g), tubos de luz UV A – 340, pH de 6,8 y un tiempo de reacción de 300 minutos, encontrando que una alta presión de O_2 genera velocidades iniciales más altas de transformación de 2-clorobifenilo y formación de CO_2 y que el efecto de la presión parcial de oxígeno en el 2-clorobifenilo es más significativa que la transformación del mismo [48].

En el año 2000 los autores Qingdong Huang y Chia-Swee Hong realizaron el estudio de la degradación fotocatalítica de PCBs sobre TiO_2 en sistemas agua-suelo conteniendo fluoro surfactantes empleando catalizador TiO_2 (Degussa, 30 nm, concentración 500 mg/l, área superficial especifica 50 m^2/g), tubos de luz de irradiación entre 285 y 315 nm y un tiempo de reacción de 45 horas, encontrando que los PCBs en suelos pueden ser efectivamente fotodegradados en una dispersión que contenga surfactante aniónico fluorado y TiO_2 [49].

En el año 2004 los autores Chao-Yin Kuo y Han-Yu Lin realizaron el estudio del efecto de la adsorción de biclorobifenilos acuosos sobre dióxido de titanio iluminado con UV, empleando catalizador TiO_2 (Degussa, P25, principalmente anatasa, no porosa, área superficial especifica 53 m^2/g), Tubo UV fluorescente 500 W (Oriel 6285), pH de 3, 7 y 11, y un tiempo de reacción de 10 horas, encontrando que a pH elevados, el 4,4 PCB fue degradado por oxidación directa de adsorción y a pH más bajo la degradación se dio por medio de la solución [50].

En el año 2004 los autores K.H. Wong, S.Tao, R. Dawson, y P.K. Wong realizaron el estudio de la optimización de la oxidación fotocatalítica de 2,2´,3,3´ -tetraclorobifenilo, empleando catalizador TiO_2 (Degussa, P25, 100 mg/l), lámpara UV (15 W, 0,5 mW/cm^2, 365 nm), pH óptimo de 5,5, y un tiempo de reacción óptimo de 60 minutos, encontrando que la presencia de demasiado TiO_2 o H_2O_2 reduce la eficiencia del proceso, debido a la

inhibición de la producción de radicales OH•. Los intermediarios identificados en este estudio incluyen alquil benceno, alquil fenol y alquil benzaldehído [51].

En el año 2006 los autores Y.J. Lin, Y.L. Chen, C.Y. Huang, M.F. Wu realizaron el estudio de la fotocatálisis del 2,2´,3,4,4´,5´- Hexaclorobifenilo y sus intermediarios usando varios métodos de preparación catalítica, empleando catalizador TiO_2 (Degussa, P25, área superficial especifica 160 and 190 m^2/g), Lámpara de Xenón de 150 W, una lámpara UV de 254 nm de 35 W, y un tiempo de reacción de 0 a 32 horas, encontrando que el sustrato de soporte fortalecido por el HF y carbón con 5% TiO_2 demuestra el mejor resultado fotocatalítico para el congénere 138 [52].

De igual manera es posible encontrar reportadas en la literatura condiciones experimentales para la cuantificación de PCBs o subproductos de degradación que siguen pequeñas modificaciones o los lineamientos descritos en las normas internacionales ASTM y EPA, por lo general se trabaja con Helio como gas de arrastre con flujos cercanos a 1,4 ml/min, columna HP 5 MS (5% metil fenil silicona), con un programa de temperatura entre 50 y 320°C [51].

3.3 Biotratamiento de PCBs

La Biodegradación de PCBs depende de parámetros experimentales como la naturaleza del microorganismo, la temperatura, la cantidad de luz y sustratos iniciales, esta se lleva a cabo principalmente por tres diferentes métodos: aeróbicamente como sustrato, aeróbicamente por cometabolismo o anaeróbicamente por deshalogenación reductiva remplazando los átomos de cloro por hidrógenos. Así mismo en este tipo de tratamiento la degradación secuencial anaeróbica-aeróbica es especialmente importante para los PCBs, ya que los congéneres con mayor número de cloros se transforman en condiciones anaeróbicas en procesos de deshalogenación reductiva y los productos de decloración, congéneres de menor número de cloros, se degradan en condiciones aeróbicas [27-29].

Dado que la investigación sobre la biodegradación y biorremediación de PCBs se ha adelantado consideradamente en los últimos años, en la literatura es posible encontrar reportados algunos de los principales aportes para la degradación por Biotratamiento de PCBs.

En el año 1992 los autores William W. Mohn y James M. Tiedje realizaron el estudio de la deshalogenación reductiva microbiana de algunos compuestos organoclorados como los PCBs encontrando que la deshalogenación reductiva está involucrada en la degradación biológica de una gran variedad de compuestos, incluyendo compuestos aromáticos, los cuales generalmente resultan tóxicos y no presentan mecanismos claros de biodegradación. Esta degradación reductiva es más propensa a ocurrir en colonias anaeróbicas no definidas y por métodos sinérgicos, sin embargo algunos microorganismos como la bacteria *Desulfomonile tiedjei* pueden obtener energía de la decloración reductiva, en este aspecto la degradación de algunos compuestos halogenados por parte de microorganismos aeróbicos suele ocurrir en moléculas que no son susceptibles inicialmente a la degradación oxidativa, adicionalmente, esta deshalogenación reductiva puede ser catalizada por un número de entidades de coordinación de metales de transición, los cuales pueden o no estar presentes como indicadores de actividad catalítica en la bacteria [30].

En el año 1996 los autores Minoru Shimura,Takao Koana, Masao Fukuda, y Kazuhide Kimbara realizaron el estudio de la degradación completa de bifenilos policlorados por una combinación de radiación ultravioleta y tratamiento biológico encontrando que para congéneres PCBs la combinación de radiación ultravioleta ,en ausencia de catalizadores como TiO_2, seguida de tratamiento microbiano con *Pseudomonas alcaligenes* incubadas a 30°C con agitación recíproca (100rpm), con tiempos de residencia entre 60 min y 23 horas, resulta en una eficiente y completa degradación de PCBs [31].

En el año 1997 los autores Michael Seeger, Kenneth N. Timmis, y Bernd Hofer realizaron el estudio de las diferentes rutas de degradación de los bifenilos policlorados encontrando que al aislar el locus bph involucrado en la degradación de PCBs por *Pseudomonas Sp*, se encuentra una clara capacidad oxidativa de estos microorganismos, dado que este locus codifica para algunos poli péptidos y enzimas responsables de ciertos pasos catabólicos en el ciclo de Krebs. El análisis muestra que muchos congéneres orto sustituidos son atacados por bifenil-2,3 dioxigenasa generando los correspondientes dihidroxibenzoatos por deshalogenación, en estos casos se obtiene que la mayoría de los bifenilos mono y diclorados se convierten en clorobenzoatos, sin embargo, los PCBs con mayores grados de cloración son degradados incompletamente bajo estas mismas circunstancias [32].

En el año 1997 el autor William A. Williams realizo el estudio de la estimulación y el aumento de nutrientes de dos microbios con actividad para la decloración reductiva de bifenilos policlorados encontrando que al estimular dos diferentes microorganismos con la adición de 2,4,6, triclorobifenilo como sustrato especifico parasustituido y de 2,3,6, triclorobifenilo como sustrato metasustituido se encontraron mejores tazas de reducción para el sustrato parasustituido, sin embargo ambos procesos de decloración se vieron afectados por la adición de vancomicina o nisina, lo que sugiere que la población Gram positiva es esencial para llevar a cabo la decloración de PCBs [33].

En el año 2000 el autor Kensuke Furukawa realizo la recopilación de las bases bioquímicas y genéticas para la degradación de bifenilos policlorados, comentando que los PCBs son degradados oxidativamente por bacterias aeróbicas y otros microorganismos fungí, que los PCBs son también deshalogenados reductivamente por microbios anaerobios, que la biodegradabilidad de los PCBs es altamente dependiente del número y posición del cloro sustituido, que la capacidad de degradación y deshalogenación son dependientes y se encuentran encadenadas, que algunas bacterias pueden metabolizar muchos congéneres PCBs en clorobenzoatos por enzimas bifenilcatabolicas, que algunas enzimas involucradas en la degradación de PCBs han sido caracterizadas y purificadas (bifenil dioxigenasa), que el clúster genético bph responsable por la degradación de PCBs puede ser clonado por una gran variedad de bacterias [34].

En el año 2005 los autores F.L. Leaes, A.P. Daniel, G.B. Mello, V. Battisti, S. Bogusz Jr., T. Emanuelli, L.L.M. Fries, y I. Costabeber realizaron el estudio de la degradación de bifenilos policlorados por *Staphylococcus xylosus* en diferentes sustratos encontrando que después de someter a este microorganismo durante 168 horas de incubación en presencia de los congéneres PCBs 10, 28, 52, 138, 153, y 180, estos no afectaron el crecimiento del mismo en sustrato nutritivo (brain heart infusion, BHI) o en medio de sales minerales (MSM), en comparación con el control que no contenía PCBs, adicionalmente el microorganismo degradó algunos de los congéneres evaluados, de este modo los congéneres 138 y 153 fueron degradados en ambos sustratos BHI y en MSM [35].

En el año 2008 los autores Kensuke Furukawa, e Hidehiko Fujihara realizaron la recopilación de las características bioquímicas y moleculares de la degradación microbiana de bifenilos policlorados comentando que las bacterias aeróbicas comúnmente estudiadas difícilmente atacan bifenilos policlorados altamente sustituidos, sin embargo algunas

bacterias anaeróbicas pueden realizar decloración reductiva a PCBs altamente sustituidos para generar unos menos sustituidos, así la degradación anaeróbica seguida de la degradación aeróbica puede resultar una vía viable para la biodegradación natural de PCBs. Por otra parte el desarrollo de algunas técnicas de manipulación genética han abierto camino al desarrollo de microorganismos como *Cupriavidus necátor* capaz de desarrollarse en algunos bifenilos mono y diclorados, aroclor 1221 y aroclor 1232 [36].

A pesar de los adelantos desarrollados en materia de Biotratamiento con microorganismos de PCBs todavía existen múltiples barreras que han de superarse para lograr un tratamiento eficaz que pueda disminuir las concentraciones de PCBs a niveles aceptables, principalmente la baja eficiencia de la deshalogenación anaeróbica y aeróbica, sumado al hecho que en estos procesos se degradan mayoritariamente PCBs sin sustitución en posición orto, lo que resulta en la acumulación de esta clase de congéneres.

Por otra parte una gran cantidad de miembros biológicos diferentes como las microalgas y las cianobacterias son altamente adaptativas y pueden crecer autotróficamente, heterotróficamente y mixotróficamente, y dado que esta clase de organismos pueden proveer muchas ventajas competitivas sobre otras bacterias y hongos en la degradación de contaminantes orgánicos [38], en los últimos años ha venido surgiendo una nueva tendencia a emplear esta clase de microorganismos en procesos de Biotratamiento y remediación, por ejemplo, especies de algas como *Selanastrum capricornutum* han demostrado efectividad degradando compuestos orgánicos de efectos nocivos para la salud humana [41], sin embargo actualmente se encuentra disponible información limitada sobre catabolismo algal de PCBs , se conoce que la bioconcentración algal de PCBs hidrofóbicos depende de las propiedades fisicoquímicas de compuestos y la fisiología y densidad del alga y que variaciones en los lípidos totales en diferentes estados de crecimiento, la membrana permeable en el alga, la hidrofobicidad y la estructura de los PCBs afecta la bioacumulación [39].

4. Materiales

4.1 Muestras

La muestra de aceite dieléctrico empleada en este proyecto proviene de un equipo en desuso del sector eléctrico y fue obtenida gracias al apoyo de la empresa privada LITO S.A.S., Esta muestra fue recogida y almacenada en contenedores adecuados para impedir su contaminación y deterioro en los laboratorios de la Universidad Nacional de Colombia sede Bogotá.

Las cepas de la especie *Nostoc sp* fue obtenida gracias al apoyo del Laboratorio de Cultivo de Microalgas de la Universidad Jorge Tadeo Lozano.

4.2 Equipos

1. Equipo de agua desionizada NANOpure® DIamond™ Analytical ultrapure water system capaz de producir agua tipo I
2. Conductímetro Sartorius Professsional Meter PP-50 celda B112806006Conductivity /ATC 4-bandk
3. Titulador Automático Metrohm 904 Titrando 815 robotic Processor equipado con un electrodo Metrohm 3.0430.100 Ag titrode
4. Cromatógrafo de gases Shimadzu GCMS-QP2010 columna HP-5 MS columna 5% en Fenil metil silicona acoplado a un analizador espectrómetro de masas de cuadrupolo
5. Cromatógrafo de gases HP 6890 dotado de un detector de captura de electrones ECD, y una columna DB-5
6. Equipo de análisis elemental LECO TRUMAC CNS y navecillas correspondientes
7. Equipo de absorción atómica Perkin Elmer PinAAcle 900T equipado con un horno de grafito y lámpara HDL Perkin Elmer de Cr y lámparas EDL Perkin Elmer de Cd y Pb.
8. Equipo Total Organic Carbon Analyzer TOC-L Shimadzu
9. Espectrofotómetro UV-VIS Ocean Optics USB2000+ y celdas correspondientes

10. Electrodo combinado de pH de membrana de vidrio en bulbo Metrohm pH 6.0259.100 acoplado a un equipo pH metro Metrohm 780 y sonda de temperatura Metrohm 6.11110.100 Pt 1000/B/2
11. Balanza analítica Mettler AT261 DeltaRange FACT de $1x10^{-5}$g de precisión
12. Balanza analítica Sartorius CPA 124 de $1x10^{-4}$g de precisión
13. Reactor y chaqueta refrigerante de vidrio equipado con Tubo fluorescente UV OSRAM power star HQI TS 150W/WDL, y plancha de agitación magnética Fisher Versamix
14. Microscopio Axio Zeiss scope A1 equipado con una cámara de Neubauer 1/10mm Boeco
15. Termo higrómetro DeltaTRAK. Reporte de temperatura con precisión de 0,1ºC
16. Vortex VWR digital Vortex Mixer
17. Plancha de agitación magnética y calentamiento Thermo Scientific Cimarec
18. Autoclave Tuttnauer® 2540 MK, Holanda.

4.3 Reactivos

Reactivo	**Calidad**	**Marca**
Agua destilada	Tipo I	
Acetona	90% de pureza	Merck
Hexano RA	>99% de pureza	Merck
Ciclohexano RA	Reactivo analítico	Merck
Sulfato de sodio	anhidro granular, > 99% de pureza	Merck
Ácido sulfúrico	concentrado 37%	JT Baker
Polvo de cobre	200mesh, 99% mínimo	Merck

Reactivo	Calidad	Marca
Silica gel	100 a 200 mesh.	Merck
Dióxido de titanio TiO_2	(P-25 polvo, no poroso. 80% anatasa, diámetro promedio 0,02mm, área superficial especifica 50 m^2/g)	Aeroxide P-25
Nonil Fenol Etoxilado 10moles [(poli(oxi-1,2etanedil),alfa-(4nonilfenil)-omega hidroxi ramificado]	Producto comercial	NR
Hidróxido de potasio	>98,0% de pureza	Merck
Dicromato de potasio	Reactivo analítico	Merck
Cloruro de sodio	Reactivo analítico	Merck

4.4 Material de laboratorio

1. Picnómetro de vidrio Bingham 25ml
2. Matraces volumétricos de vidrio de 10, 100, 250 y 1000mL clase A.
3. Micropipetas volumétricas Brand de 0,2; 1 y 5 mL
4. Pipetas volumétricas de vidrio de 10, 25, 100 y 200ml de clase A.
5. Matraces Erlenmeyer y vasos de precipitado de vidrio de 100 y 200ml
6. Recipientes de vidrio ámbar de 50, 100 y 250 ml

5. Métodos y desarrollo experimental

5.1 Cromatografía de gases/Espectrometría de Masas (GC/MS)

Este ensayo se llevó a cabo siguiendo las condiciones analíticas para determinar congéneres de PCBs descritas por Wong [51], empleando como gas de arrastre helio a un flujo de 1,4ml/min, una columna HP-5 MS columna 5% en fenil metil silicona siguiendo un programa de temperatura que inicia manteniéndose en 50°C dos minutos, cambia a 160°C a 10°C/min, incrementa a 190°C a 1 ºC/min y aumenta hasta 270°C a 2°C/min, empleando un detector de espectrometría de masas cuadrupolo a 280°C**.**

5.2 Determinación de densidad

La densidad del aceite dieléctrico fue establecida usando un picnómetro de vidrio Bingham de 25ml, empleando como referencia la densidad promedio del agua a una temperatura de 20 ºC conforme a los lineamientos de la norma ASTM D1217-15 "*Standard Test Method for Density and Relative Density (Specific Gravity) of Liquids by Bingham Pycnometer"* [57]*.*

5.3 Análisis de elementos pesados cromo, cadmio y plomo

El contenido de cromo, cadmio y plomo fue establecido para una emulsión acuosa del aceite dieléctrico con un contenido total de PCB`s de 1000mg/L, empleando como agente tensoactivo nonil fenol etoxilado 10M en una concentración de 40mg/L.

La cuantificación se llevó a cabo por medio de la técnica de horno de grafito en el equipo de absorción atómica Perkin Elmer PinAAcle 900T hasta alcanzar una temperatura de 2300 ºC (Tabla 5-1) empleando como material de calibración soluciones estándar Perkin

Elmer de los elementos cromo, cadmio y plomo, como gas de cámara Argón grado AA, y como matrices modificadoras soluciones de nitrato de magnesio y fosfato diácido de amonio de 10000mg/L.

Tabla 5-1 Descripción del programa de temperatura empleado en la técnica AA horno de grafito.

Paso	Temperatura (°C)	Tiempo para incremento de temperatura (s)	Tiempo espera (s)	Flujo interno de Argón en el horno (ml/min)
1	110	1	30	250
2	130	15	30	250
3	1500	10	20	250
4	2300	0	5	0

5.4 Análisis elemental de carbono, nitrógeno y azufre totales y análisis de carbono orgánico total

El porcentaje de carbono, nitrógeno y azufre total del aceite dieléctrico se determinó en el equipo de análisis elemental LECO TRUMAC CNS a una temperatura de 1350 ºC empleando como material de calibración los estándares LECO N° 502-062; 502-308; 502-309; 502-092; 502-654; 502-209.

El contenido de carbono orgánico total presente en muestras acuosas fue determinado por medio del equipo Total Organic Carbon Analyzer TOC-L Shimadzu empleando como material de calibración biftalato de potasio RA en concentraciones que abarcan el rango desde 15 a 150mg/L de carbono como se indica en el anexo A Tabla 9-4.

5.5 Fotocatálisis heterogénea

La fotocatálisis heterogénea se llevó a cabo en un reactor de vidrio equipado con chaqueta refrigerante y un tubo fluorescente UV OSRAM power star HQI TS 150W/WDL (Figura 5-1), empleando como catalizador dióxido de titanio TiO_2 (P-25 polvo, no poroso. 80%

anatasa, diámetro promedio 0,02mm, área superficial especifica 50 m^2/g), como agente tensoactivo el producto comercial nonil fenol etoxilado 10M en una concentración de 40mg/L, tiempo de exposición a la radiación UV de 120min y agitación constante de 6000 rpm.

Figura 5-1 Montaje experimental (reactor de vidrio equipado con chaqueta refrigerante)

Para determinar las condiciones óptimas en las que se podría llevar a cabo la fotocatálisis heterogénea se planteó un diseño experimental Box Behnken (Tabla 5-2; 5-3) teniendo como variables concentración inicial de PCBs, concentración del catalizador, y pH inicial; y como variables de respuesta la remoción del carbono orgánico total, la remoción del contenido total de PCBs, la concentración de ion cloruro y la conductividad eléctrica.

Tabla 5-2 Descripción de los niveles y diseño experimental de la fotocatálisis.

Nivel	Concentración TiO_2 (mg/L)	pH Inicial	Concentración PCBs (mg/L)
1	500	11,0	1000
0	25	7,0	550
-1	262,5	3,0	100

Tabla 5-3 Descripción de los niveles y diseño experimental de la fotocatálisis.

Nº Experimento Std	[PCBs] (mg/L)	pH Inicial	[TiO_2] (mg/L)
1	100	3,00	262,5
2	1000	3,00	262,5
3	100	11,00	262,5
4	1000	11,00	262,5
5	100	7,00	25,0
6	1000	7,00	25,0
7	100	7,00	500,0
8	1000	7,00	500,0
9	550	3,00	25,0
10	550	11,00	25,0
11	550	3,00	500,0
12	550	11,00	500,0
13	550	7,00	262,5
14	550	7,00	262,5
15	550	7,00	262,5
16	550	7,00	262,5
17	550	7,00	262,5
18	1000	7,00	0

Para realizar los ajustes de pH 3,0 y 11,0 se empleó ácido sulfúrico al 10% e hidróxido de potasio al 10% mientras para realizar el ajuste de pH 7,0 se empleó ácido sulfúrico al 1% e hidróxido de potasio al 1%.

5.6 Determinación de cloruros, conductividad y pH

La determinación del contenido de cloruros se llevó a cabo por medio de una titulación potenciométrica con nitrato de plata de concentración determinada por una solución patrón de cloruro de sodio, en el equipo Titulador Automático Metrohm 904 Titrando 815 robotic Processor utilizando un electrodo de plata Metrohm 3.0430.100 Ag titrode.

La conductividad de las muestras fue determinada por triplicado en un equipo Conductímetro Sartorius Professsional Meter PP-50 celda B112806006Conductivity /ATC 4-bandk, empleando como material de calibración soluciones patrón de KCl de conductividad determinada en concentraciones de 0,1; 0,01 y 0,001 molar.
El pH de las muestras fue determinado por triplicado por medio de un electrodo combinado de pH de membrana de vidrio en bulbo Metrohm pH 6.0259.100 acoplado a un equipo pH metro Metrohm 780 y sonda de temperatura Metrohm 6.11110.100 Pt 1000/B/2 empleando como material de referencia soluciones amortiguadoras Metrohm de pH 4,0; 7,0 y 10,0.

5.7 Cuantificación de PCBs

Los análisis cuantitativos de PCBs se realizaron conforme a los lineamientos del método 8280a de la U.S EPA [40], estableciendo el contenido total de PCBs en extractos realizados en ciclohexano con base en el Aroclor 1016 empleando un equipo cromatógrafo de gases HP 6890 dotado de un detector de captura de electrones ECD, la columna empleada en el análisis fue DB-5 y la inyección se realizó en modo splitless (V_{iny} = 1µL).

5.8 Biotratamiento con microalgas

5.8.1 Cultivo *Nostoc sp*

El stock del cultivo caracterizado como *Nostoc sp* se conservo en recipientes de vidrio de 250ml, previamente esterilizados en autoclave durante 45 min a una temperatura de 121 ºC, el cultivo se llevo a cabo bajo condiciones anaerobias en un medio cultivo acuoso BG11 [58] modificado sin fuente de carbono orgánico ni solución de metales en trazas conforme a la Tabla 5-4, estas cepas se mantuvieron bajo condiciones controladas de laboratorio con agitación diaria e iluminación blanca artificial constante de 75W y 1300lm, manteniéndose el cultivo hasta que alcanzo la fase exponencial.

Tabla 5-4 Descripción del medio de cultivo BG11 modificado.

Componente	Concentración final en el medio (Molar)
$NaNO_3$	$1,76x10^{-2}$
$K_2HPO_4.3H_2O$	$1,75\ x10^{-4}$
$MgSO_4.7H_2O$	$3,04\ x10^{-4}$
$CaCl_2.2H_2O$	$2,45\ x10^{-4}$
Na_2CO_3	$1,89\ x10^{-4}$
$MgNa_2(EDTA).H_2O$	$2,79\ x10^{-6}$

5.8.2 Exposición del cultivo *Nostoc sp* al efluente fotocatalítico contaminado con PCBs

Los ensayos se llevaron a cabo en recipientes de vidrio esterilizados, el tiempo de exposición fue de 7dias y se realizaron por duplicado en un intervalo de 15 días, en cada unidad experimental (recipientes) se inoculó una concentración de *Nostoc sp* inicial de 2,0 x 10^5cel/ml de medio de cultivo.

Las condiciones de los experimentos variaron conforme a un diseño experimental factorial teniendo como variables fotoperiodo y concentración de PCBs provenientes del efluente fotocatalítico a condiciones optimas (Tabla 5-5: 5-6), para este fin, se considero la concentración de 0 mg/L de PCBs como el tratamiento control, determinándose posteriormente como variables de crecimiento la densidad celular expresada como el conteo en cámara de Neubauer por extrapolación de la absorbancia a 665nm, el cambio en el contenido de carbono orgánico total del extracto, y el contenido de clorofila a conforme a la formula de Strickland y Parsons para los correspondientes extractos en acetona al 90% [59].

Tabla 5-5 Descripción de los niveles y diseño experimental del Biotratamiento.

Nivel	Concentración PCBs (mg/L)	Fotoperiodo (horas luz/horas oscuridad)
-1	0	12/12
0	2,0	NA
1	5,0	24/24

Tabla 5-6 Descripción de los niveles y diseño experimental del Biotratamiento.

Experimento	Concentración PCBs (mg/L)	Fotoperiodo (horas luz/ horas oscuridad)
1	0	12/12
2	2,0	12/12
3	5,0	12/12
4	0	24/24
5	2,0	24/24
6	5,0	24/24

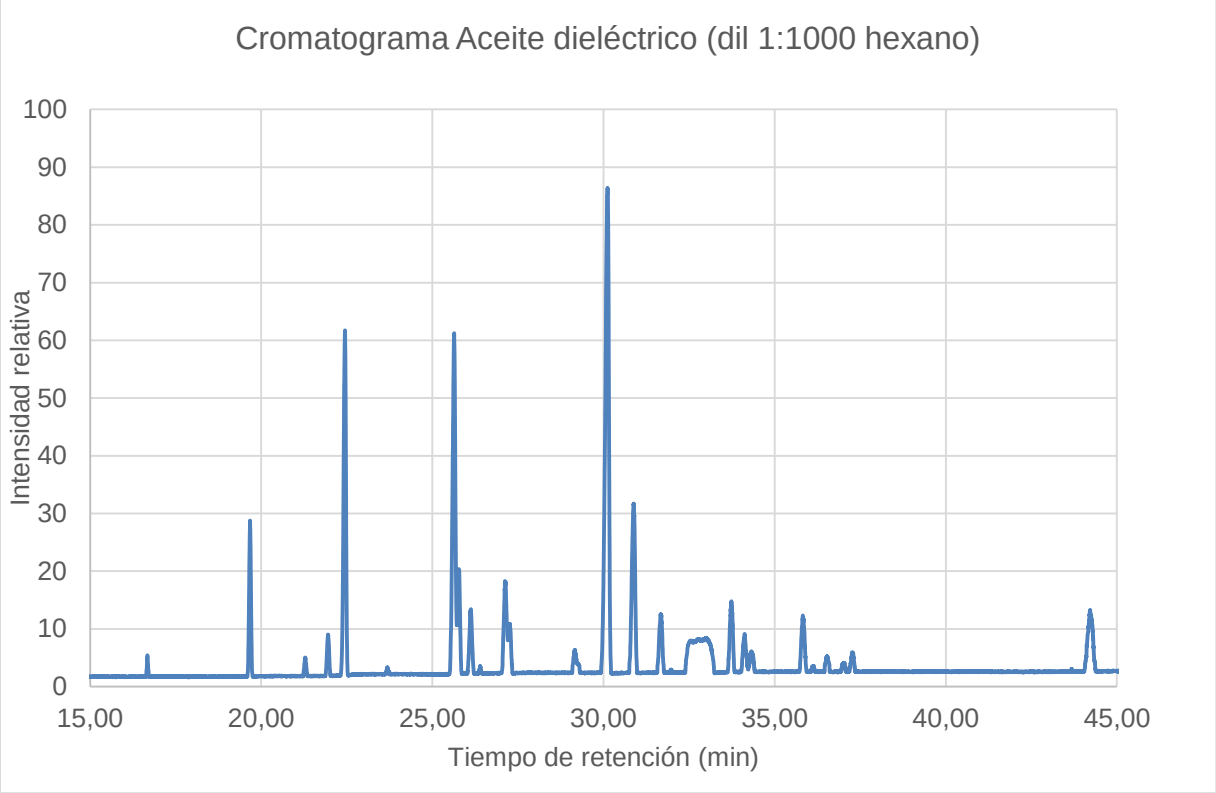
6. Resultados y discusión

6.1 Caracterización del aceite dieléctrico

6.1.1 Cromatografía de gases/Espectrometría de Masas (GC/MS)

Por medio de la metodología descrita anteriormente se analizaron cualitativamente por GC-MS los compuestos volátiles de la muestra de aceite dieléctrico, el cromatograma obtenido se representa en la Figura 6-1.

Figura 6-1 Cromatograma obtenido para la muestra de aceite dieléctrico empleando como solvente hexano R.A en una dilución 1 a 1000.



En la Tabla 6-1 se recopila la información relativa al análisis por cromatografía de gases, teniendo en cuenta los factores de identificación y realizando la comparación con bases de datos de espectrometría de masas es posible afirmar que en su mayoría los compuestos volátiles presentes en la muestra de aceite dieléctrico son congéneres PCBs.

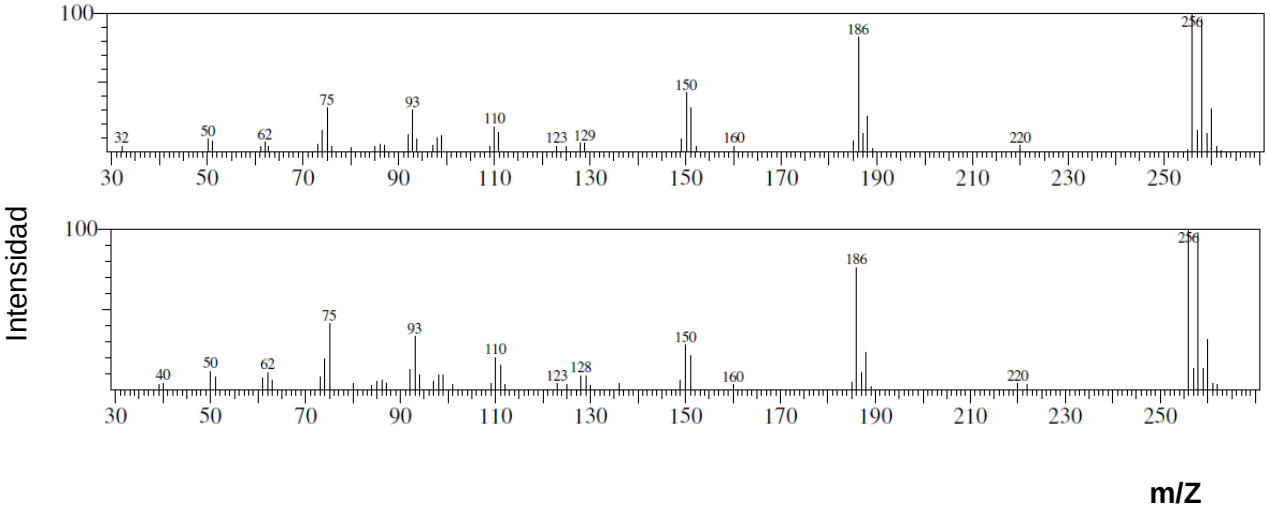
Tabla 6-1 información correspondiente al cromatograma obtenido para la muestra de aceite dieléctrico empleando como solvente hexano R.A en una dilución 1 a 1000.

Nº Pico	**Tiempo de retención (min)**	**Área (%)**	**Compuesto identificado**	**Factor de identificación**	**Formula**
1	16,67	0,33	2-cloro-1,1'-bifenilo	86	$C_{12}H_9Cl$
2	19,67	3,81	2,2'-dicloro-1,1'-bifenilo	86	$C_{12}H_8Cl_2$
3	21,28	0,48	2,6-dicloro-1,1'-bifenilo	80	$C_{12}H_8Cl_2$
4	21,95	1,16	2,6-dicloro-1,1'-bifenilo	77	$C_{12}H_8Cl_2$
5	22,45	11,29	2,3-dicloro-1,1'-bifenilo	91	$C_{12}H_8Cl_2$
7	25,64	16,45	tricloro-1,1'-bifenilo	91	$C_{12}H_7Cl_3$
8	26,13	2,27	2,6-dicloro-1,1'-bifenilo	79	$C_{12}H_8Cl_2$
10	27,12	5,37	2,2',5-tricloro-1,1'-bifenilo	84	$C_{12}H_7Cl_3$
11	29,16	1,06	2',3,4-tricloro-1,1'-bifenilo	80	$C_{12}H_7Cl_3$
12	30,12	24,02	3,4,4'-Tricloro-1,1'-bifenilo	94	$C_{12}H_7Cl_3$
13	30,88	7,58	2,4,6-tricloro-1,1'-bifenilo	88	$C_{12}H_7Cl_3$
14	31,67	2,48	2,4,6-tricloro-1,1'-bifenilo	83	$C_{12}H_7Cl_3$
15	33,01	9,73	Nonanoato de metilo	90	$C_{10}H_{20}O_2$
16	33,74	2,88	2,2',5,6-tetracloro-1,1'-bifenilo	82	$C_{12}H_6Cl_4$
17	34,12	1,53	2,2',4,5'-tetracloro-1,1'-bifenilo	77	$C_{12}H_6Cl_4$
18	34,33	0,94	2,2',6,6'-tetracloro-1,1'-bifenilo	73	$C_{12}H_6Cl_4$
19	35,82	2,41	2,2',4,5'-tetracloro-1,1'-bifenilo	79	$C_{12}H_6Cl_4$
21	36,52	0,62	2,4,6-tricloro-1,1'-bifenilo	80	$C_{12}H_7Cl_3$
23	37,28	0,73	2,2',6,6'-tetracloro-1,1'-bifenilo	82	$C_{12}H_6Cl_4$
24	44,22	4,12	9-Hexadecenoato de metilo	85	$C_{17}H_{32}O_2$

Por otra parte, al realizar el análisis de los correspondientes espectros de masas es posible confirmar la presencia de picos correspondientes a iones característicos del rompimiento de compuestos como los PCBs, por ejemplo, para el caso del pico de ion molecular del pico número 12 en el cromatograma se registra una relación m/z cercana a 257, y es posible estimar perdidas en masa correspondiente a la perdida sucesiva de átomos de cloro, de este modo, para el pico de ion molecular –1Cl se tiene m/z de 222, para el pico de ion molecular –2Cl se tiene m/z de 187, todo esto lleva a identificar este compuesto como 3,4,4'-tricloro-1,1'-bifenilo (Figura 6-2).

Figura 6-2 Espectro de masas correspondiente al pico número 12 en el cromatograma

Arriba espectro experimental, abajo espectro obtenido de la base de datos para el compuesto 3,4,4'-tricloro-1,1'-bifenilo.



6.1.2 Determinación de densidad

La densidad del aceite dieléctrico se determinó por duplicado empleando un picnómetro Bingham de vidrio de 25ml, en un termostato que permitió realizar el control de temperatura con una precisión de 0,01ºC y empleando como referencia la densidad del agua a 20ºC, los resultados de la determinación se resumen en la Tabla 6-2 obteniendo como resultado promedio para el aceite dieléctrico una densidad de 1,020 g/ml.

Tabla 6-2 Determinación de la densidad del aceite dieléctrico.

Determinación	**1**	**2**	**Unidad**
Temperatura (T ºC)	20,00	20,00	ºC
Presión Barométrica	566	566	mm Hg
Humedad relativa	0,56	0,56	Fracción
Presión de vapor Agua a 20C	17,54591	17,54591	mm Hg
Densidad Aire	0,0008924	0,0008924	g/ml
Masa del picnómetro vidrio vacío	17,7112	17,7112	g
Masa del picnómetro vidrio conteniendo la muestra de aceite dieléctrico	43,2112	43,2110	g
Masa del picnómetro vidrio conteniendo agua	42,6663	42,6663	g
Densidad del agua a 20ºC	0,998207	0,998207	g/ml
Densidad del material peso de la balanza	7,75	7,75	g/ml
Densidad Aceite dieléctrico	**1,020**	**1,020**	**g/ml**

6.1.3 Análisis de elementos pesados cromo, cadmio y plomo

El contenido de cromo, cadmio y plomo fue establecido a través de interpolación en curvas de calibración con estándares de baja, media y alta concentración, empleando como material de calibración soluciones estándar Perkin Elmer de los elementos mencionados (Anexo A: Tabla 9-1), como gas de cámara Argón grado AA, y como matrices modificadoras soluciones estándar Perkin Elmer de nitrato de magnesio y fosfato diácido de amonio de 10000mg/L (Anexo A: Figura 9-1).

El contenido de cadmio para la emulsión del aceite en mención arrojo un resultado de 0,7 µg/L, mientras el contenido de cromo establecido fue de 2,3 µg/L y el de plomo 5,0 µg/L,

de este modo el contenido total de metales pesados en la muestra de aceite se muestra en la Tabla 6.-3.

Tabla 6-3 Contenido de metales pesados en la muestra de aceite dieléctrico.

	Concentración cadmio (mg/L)	Concentración cromo (mg/L)	Concentración plomo (mg/L)
Muestra de aceite dieléctrico	0,5	1,5	3,2

Valores que se encuentran por debajo del límite establecido en la normatividad ambiental vigente [10].

6.1.4 Análisis elemental carbono, nitrógeno y azufre

El porcentaje de carbono, nitrógeno y azufre total del aceite dieléctrico se determinó en el equipo de análisis elemental LECO TRUMAC CNS a una temperatura de 1350 ºC empleando como material de calibración los estándares LECO referidos en el anexo A Tabla 9-2.

Los estándares empleados se analizaron comprendiendo el rango de carbono que abarca desde 2,02% hasta 72,53%, el rango de nitrógeno que abarca desde 0,18% hasta 20,13 y en el rango de azufre que abarca desde 0,03% hasta 11,5% obteniendo de esta forma las correspondientes curvas de calibración que se muestran en el anexo A Tabla 9-3.

Debido a que la muestra de aceite dieléctrico se encontraba en estado líquido para realizar el análisis se hizo necesario utilizar el soporte para líquidos LECO Comaid, los resultados obtenidos para la muestra de aceite dieléctrico se realizaron por triplicado y se muestran en la Tabla 6-4.

Tabla 6-4 Resultados experimentales para la determinación de CNS en la muestra de aceite dieléctrico.

Muestra	**%C**	**%N**	**%S**
Aceite dieléctrico	57,478	0,283	0,293
	55,118	0,196	0,230
	53,558	0,200	0,201
Promedio	**55,38**	**0,23**	**0,24**
Desvest	**1,97**	**0,05**	**0,05**

6.2 Tratamiento fotocatalítico

6.2.1 Remoción del carbono orgánico total

Los resultados de remoción del carbono orgánico total del diseño experimental Box Behnken propuesto (Tabla 5-3) se resumen en la Tabla 6-5, en la cual se calcula el porcentaje de remoción de carbono orgánico total (%remoción COT), como se indica en (6-1).

$$\%\ Remoción\ COT = \frac{COT_{inicial} - COT_{final}}{COT_{inicial}} \quad (6\text{-}1)$$

Tabla 6-5 Resultados experimentales de remoción de COT obtenidos para el tratamiento fotocatalítico.

Nº Experimento Std	**%Remoción COT**
1	9,32
2	91,49
3	6,53
4	82,39
5	12,08
6	91,34
7	8,09
8	90,71
9	84,25
10	63,27
11	85,90
12	57,09
13	91,48
14	84,78
15	83,84
16	82,27
17	82,92
18	NA

Los datos obtenidos de remoción de carbono orgánico total se analizaron a través de un ANOVA (Anexo B Remoción COT), y se ajustó una superficie de respuesta en función de las variables experimentales propuestas, obteniendo de este modo la variabilidad de la remoción del carbono orgánico total en función de variables separadas para cada uno de los efectos estudiados, de tal manera, para un ajuste de tipo cuadrático existen al menos cuatro parámetros que tienen una influencia significativa diferente de cero sobre el comportamiento del ajuste, dado tienen un valor-P menor que 0,05 con un nivel de confianza del 95%, todos ellos relacionados con la influencia del pH y la concentración inicial de PCBs en el medio de reacción (Tabla 6-6).

Tabla 6-6 Descripción de los coeficientes de regresión obtenidos por medio de un ajuste de tipo cuadrático para la remoción del porcentaje de carbono orgánico total (%Remoción COT).

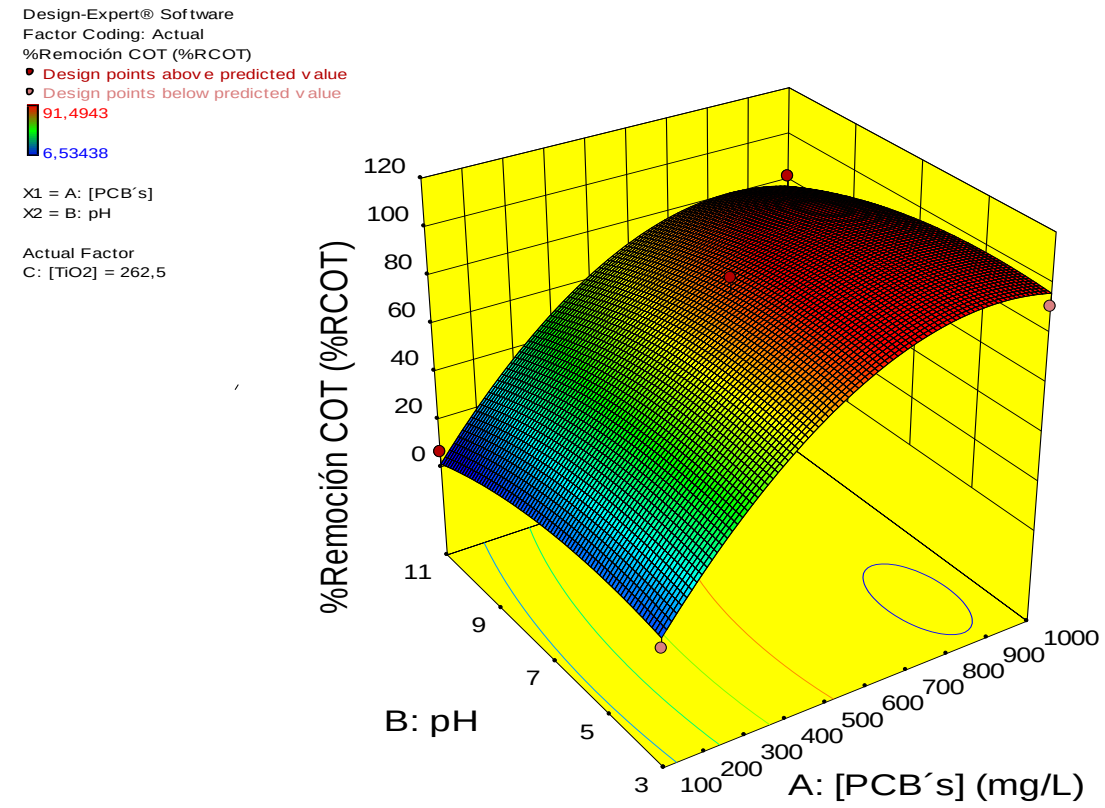
Variable	**Coeficiente de regresión**	**Valor-P**
A: [PCBs]	39,99	**<0,0001**
B: pH	-7,71	**0,0072**
C: [TiO_2]	-1,14	0,5951
AB	-1,58	0,6038
AC	0,84	0,7806
BC	-1,96	0,5224
A^2	-29,85	**<0,0001**
B^2	-7,78	0,0287
C^2	-4,65	**0,1444**
Constante	85,06	--------

El valor de R^2 obtenido para la superficie de respuesta de 0,9868 indica que el ajuste de regresión cuadrático, se ajusta a la variación de la remoción del carbono orgánico total, mientras el estadístico R^2 ajustado, que es el más adecuado para comparar los ajustes con diferente número de variables independientes fue de 0,9697, al usar los coeficientes de regresión obtenidos a través del ajuste se puede construir la ecuación del modelo ajustado que representa de forma significativa los datos obtenidos tal como se observó a través del análisis del ANOVA (Anexo B Remoción COT).

Al realizar el análisis de los datos a través del ajuste cuadrático para la remoción de carbono orgánico total se encuentra que se alcanzan remociones cercanas al 90% en el

máximo de los rangos, partiendo de esta base, por medio del software Design Expert 10 se realizó la optimización de la ecuación del ajuste matemático para encontrar las condiciones de pH, concentración de PCBs y concentración de dióxido de titanio en la cuales se logra una óptima remoción de carbono orgánico total encontrando 15 posibles soluciones que oscilan entre pH 5.67 y 5.52, concentración de dióxido de titanio entre 254 y 286 mg/L y contenido total de PCBs entre 786 y 792 mg/L, estos resultados corresponden al máximo de la superficie de respuesta del diseño experimental (Figura 6-3).

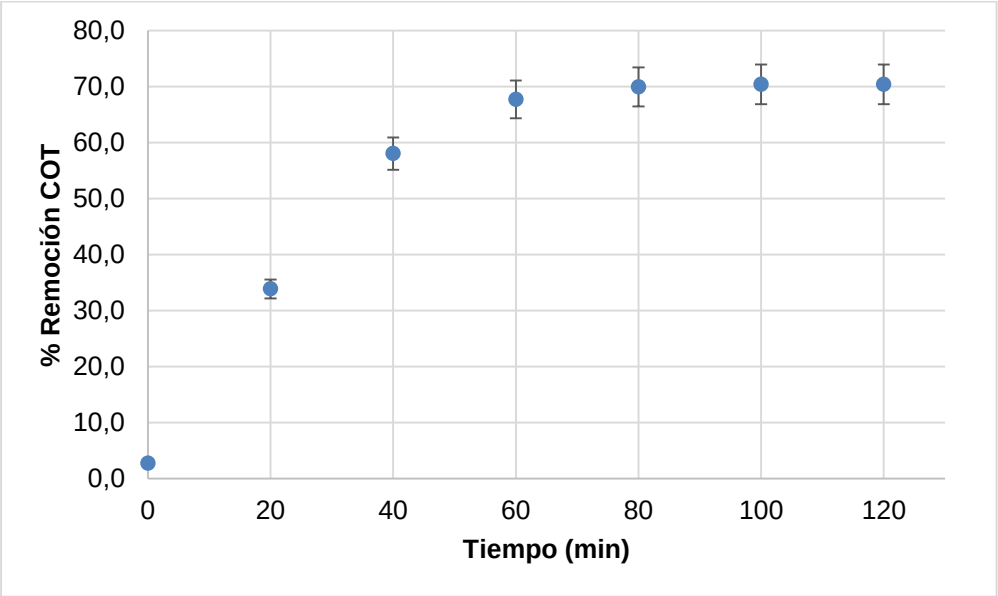
Figura 6-3 Superficie de respuesta obtenida por medio de un ajuste de tipo cuadrático para la remoción del porcentaje de carbono orgánico total (%Remoción COT).



Como solución del óptimo de esta superficie de respuesta se tomó el valor sugerido por el software Design Expert 10 que corresponde a un pH de 5,6, una concentración de dióxido de titanio de 262 mg/L y una concentración de PCBs de 790 mg/L.

Partiendo de estos valores como condiciones de referencia se realizó el correspondiente experimento fotocatalítico con el objetivo de determinar el porcentaje de remoción de carbono orgánico total y su comportamiento en función del tiempo, los resultados obtenidos se muestran en la Figura 6-4.

Figura 6-4 Comportamiento de la remoción de carbono orgánico total en función del tiempo a condiciones óptimas.



Los resultados muestran una remoción acelerada en la primera hora de reacción hasta alcanzar valores cercanos al 70% en donde la velocidad de remoción disminuye hasta alcanzar remociones cercanas al 80% en un tiempo de reacción de cuatro horas, adicionalmente, también es posible observar que para el tiempo planteado de 120min se alcanza un nivel de remoción de alrededor de 70%, indicando que el ajuste es una representación aceptable del proceso.

El comportamiento de las remociones obtenidas indica que la variación de la remoción del carbono orgánico total se puede ajustar a una cinética de tercer orden, sin embargo la dispersión de datos por arriba y abajo del ajuste sugiere que la cinética de esta reacción es mucho más compleja y puede involucrar diferentes etapas y pasos de reacción.

6.2.2 Determinación de cloruros, conductividad y pH

La determinación del contenido de cloruros se llevó a cabo por medio de titulación potenciométrica con nitrato de plata (Anexo A Figura 9-2), la concentración del nitrato de plata empleado como agente titulante fue determinada valorando por triplicado una alícuota de 5.0mL de solución patrón de cloruro de sodio de concentración 0,01mol/L (Anexo A tabla 9-5), de este modo se estableció que la concentración promedio del agente titulante $AgNO_3$ a emplear en la titulación fue 4,89 mMolar.

Los resultados de las diferentes titulaciones potenciométricas de las muestras propuestas en el diseño experimental de la fotocatálisis (Tabla 5-3) se expresan como concentración de ion cloruro y se reportan junto al promedio de los triplicados realizados para establecer conductividad y el pH final correspondiente en la Tabla 6-7, empleando como material de calibración soluciones patrón de KCl de conductividad determinada en concentraciones de 0,1; 0,01 y 0,001 molar, y soluciones amortiguadoras Metrohm de pH 4,0; 7,0 y 10,0.

Tabla 6-7 Resultados experimentales de cloruros, conductividad y pH obtenidos para el tratamiento fotocatalítico.

Nº Experimento Std	**Cloruros (mg/L)**	**Conductividad Promedio (µS/cm)**	**pH Final**
1	3,38	381,5	3,12
2	4,96	367,0	3,11
3	20,42	169,3	8,51
4	4,54	168,0	9,14
5	No detectado	16,1	6,79
6	No detectado	8,0	5,44
7	3,07	37,3	4,39
8	2,31	28,1	4,38
9	3,18	409,2	3,09

Nº Experimento Std	Cloruros (mg/L)	Conductividad Promedio (µS/cm)	pH Final
10	No detectado	181,0	9,13
11	3,55	390,8	3,11
12	No detectado	174,0	8,18
13	No detectado	35,2	4,44
14	4,35	39,4	4,40
15	2,19	40,1	4,35
16	2,41	38,2	4,36
17	1,91	37,7	4,39
18	No detectado	11,2	6,10
18 duplicado	No detectado	NA	NA

Adicionalmente se realizo la determinación de cloruros para el agente tensoactivo comercial nonil fenol etoxilado 10M (dil 1 a 2) obteniendo un resultado nulo en la detección, de esta forma es posible inferir que bajo las condiciones experimentales mencionadas la generación de cloruros muy probablemente se debe a la degradación fotocatalítica de los PCBs presentes en la muestra de aceite dieléctrico.

Los datos obtenidos de cloruros se analizaron a través de un ANOVA (Anexo B Cloruros), y se ajustó una superficie de respuesta en función de las variables experimentales propuestas, obteniendo de este modo la variabilidad de la concentración de cloruro en función de variables separadas para cada uno de los efectos estudiados, de tal manera, para un ajuste de tipo cuadrático combinado existen al menos seis parámetros que tienen una influencia significativa diferente de cero sobre el comportamiento del ajuste, dado tienen un valor-P menor que 0,05 con un nivel de confianza del 95% (Tabla 6-8).

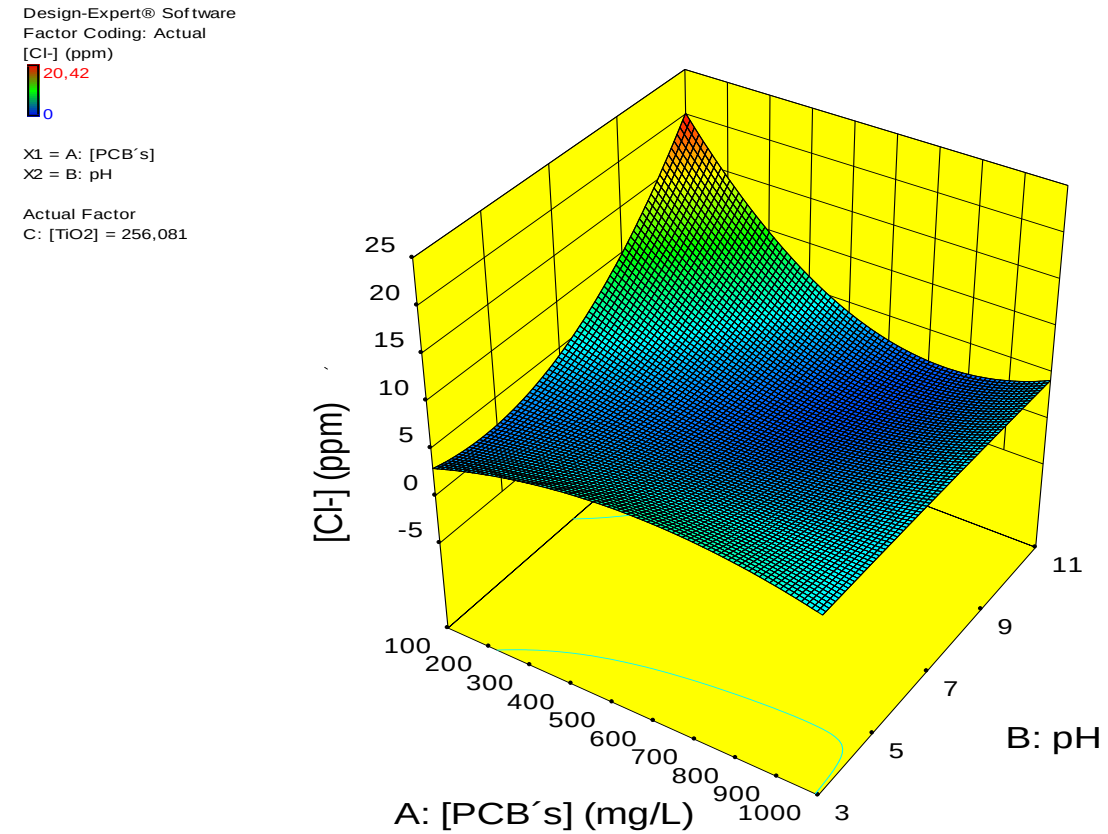
Tabla 6-8 Descripción de los coeficientes de regresión para un ajuste de tipo cuadrático para la concentración de cloruros.

Variable	**Coeficiente de regresión**	**Valor-P**
A: [PCBs]	-0,19	0,8178
B: pH	-1,68	0,0951
C: [TiO_2]	0,093	0,9104
AB	-4,36	**0,0049**
AC	-0,19	0,8178
BC	-0,093	0,9104
A^2	2,91	**0,0182**
B^2	3,24	**0,0126**
C^2	-3,73	**0,0078**
A^2B	5,84	**0,0059**
A^2C	1,25	0,3159
B^2A	-3,38	**0,0365**
Constante	2,17	--------

El valor de R^2 obtenido de 0,9732 indica que el ajuste de regresión cuadrático combinado, se ajusta a la variación en la concentración de cloruros, mientras el estadístico R^2 ajustado, que es el más adecuado para comparar los ajustes con diferente número de variables independientes fue de 0,8929, al usar los coeficientes de regresión obtenidos a través del ajuste se puede construir la ecuación del modelo ajustado que representa de forma significativa los datos obtenidos tal como se observó a través del análisis del ANOVA.

Al realizar el análisis de los datos a través del ajuste cuadrático combinado para la concentración de cloruro se encuentra que esta concentración se hace máxima a pH básico y concentración de PCBs totales debajo de 500mg/L, partiendo de esta base, por medio del software Design Expert 10 se realizó la superficie de respuesta del diseño experimental (Figura 6-6).

Figura 6-5 Superficie de respuesta obtenida para un ajuste de tipo cuadrático para la concentración de cloruros ([Cl-]).



6.2.3 Cuantificación y remoción de PCBs

Los análisis cuantitativos de PCBs se realizaron conforme a los lineamientos del método 8280a de la U.S EPA[40], teniendo en cuenta lo anterior y debido a que los tiempos de retención de los cromatogramas obtenidos (Anexo B cuantificación de PCBs) se encuentran entre 10,4 y 25,8 minutos, fue posible asociar la muestra de aceite objeto de investigación con el aroclor 1016 que cuenta con tiempos de retencion similares, de esta forma se realizo una curva de calibración de baja concentración que abarca el rango desde 1 a 25mg/L de Aroclor 1016 y una curva de calibración de alta concentración que abarca el rango desde 50 a 300mg/L de Aroclor 1016 como se indica en el Anexo A Tabla 9-6.

Así, de esta manera y teniendo en cuenta la apropiada dilución fue posible establecer el contenido de PCBs en el aceite dieléctrico como 657050 mg/L (65,7%), valor que excede el limite establecido en la normatividad ambiental vigente de 50mg/L [10].

Los resultados del diseño experimental propuesto (Tabla 5-3) se resumen en la tabla 6-9 en la cual se calcula el porcentaje de remoción de PCBs (%remoción PCBs), como se indica en (6-2).

$$\%\ Remoción\ PCB´s = \frac{PCB´s_{inicial} - PCB´s_{final}}{PCBs_{inicial}} \quad (6\text{-}2)$$

Tabla 6-9 Resultados experimentales de remoción de PCBs (Aroclor 1016) obtenidos para el tratamiento fotocatalítico para la remoción de PCBs (%Remoción PCBs).

Nº Experimento Std	**%Remoción PCBs experimental**
1	75,76
2	71,06
3	53,03
4	92,42
5	77,65
6	98,01
7	97,73
8	98,56
9	86,02
10	88,57
11	94,01
12	89,33
15	82,99
18	NA

Los datos obtenidos de remoción de PCBs se analizaron a través de un ANOVA (Anexo B Remoción PCBs), y se ajustó una superficie de respuesta en función de las variables experimentales propuestas, obteniendo de este modo la variabilidad de la remoción de la concentración de PCBs en función de variables separadas para cada uno de los efectos estudiados, de tal manera, para un ajuste de tipo cuadrático existen al menos ocho parámetros que tienen una influencia significativa diferente de cero sobre el comportamiento del ajuste, dado tienen un valor-P menor que 0,05 con un nivel de confianza del 95% (Tabla 6-10).

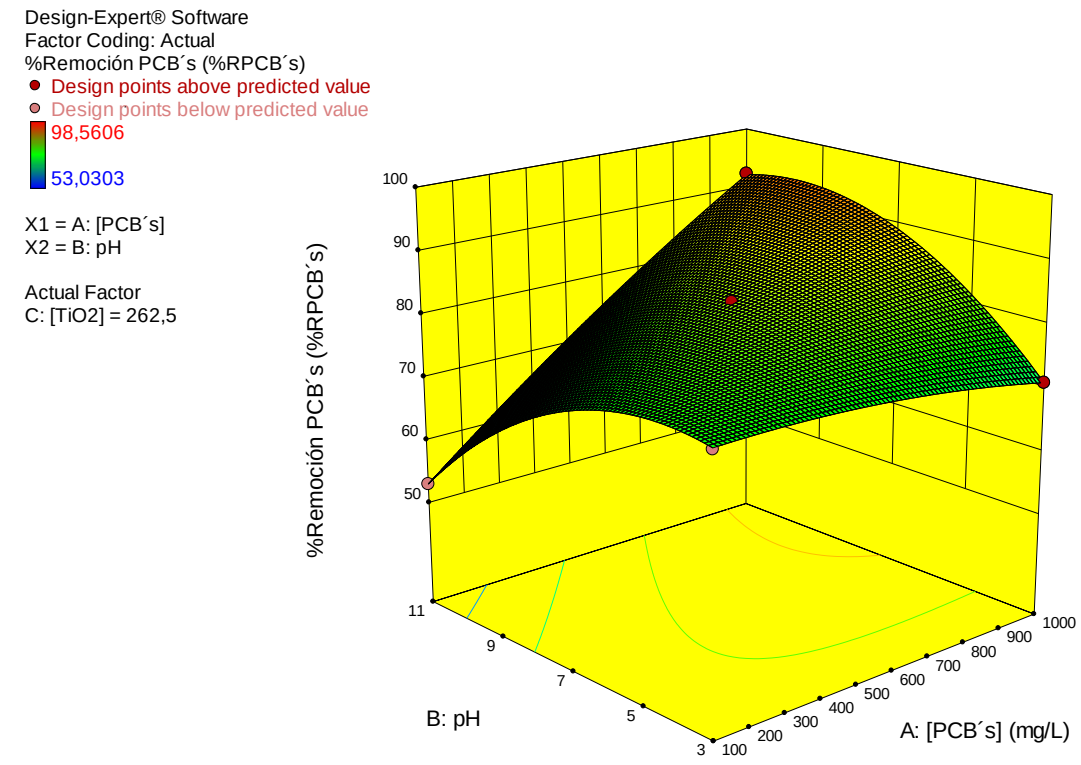
Tabla 6-10 Descripción de los coeficientes de regresión obtenidos por medio de un ajuste de tipo cuadrático para la remoción de PCBs (%Remoción PCBs).

Variable	Coeficiente de regresión	Valor-P
A: [PCBs]	8,57	0,0003
B: pH	-0,44	0,0701
C: [TiO_2]	2,09	0,0051
AB	11,02	0,0002
AC	-8,05	0,0009
BC	-1,81	0,009
A^2	-1,62	0,0221
B^2	-8,30	0,0009
C^2	14,79	0,0003
Constante	82,99	--------

El valor de R^2 obtenido de 0,9999 indica que el ajuste de regresión cuadrático, se ajusta a la variación de la remoción de PCBs, mientras el estadístico R^2 ajustado, que es el más adecuado para comparar los ajustes con diferente número de variables independientes fue de 0,9993, al usar los coeficientes de regresión obtenidos a través del ajuste se puede construir la ecuación del modelo ajustado que representa de forma significativa los datos obtenidos tal como se observó a través del análisis del ANOVA (Anexo B Remoción PCBs).

Al realizar el análisis de los datos a través del ajuste cuadrático para la remoción de PCBs se encuentra que se logran remociones superiores al 90% en el máximo de la superficie, partiendo de esta base, por medio del software Design Expert 10 se realizó la optimización de la ecuación del ajuste matemático para encontrar las condiciones de pH, concentración de PCBs y concentración de dióxido de titanio en la cuales se logra una óptima remoción de PCBs, encontrando 5 posibles soluciones que oscilan entre pH 6,09 y 7,58, concentración de dióxido de titanio entre 112 y 262 mg/L y contenido total de PCBs entre 550 y 826 mg/L, estos resultados corresponden al máximo de la superficie de respuesta del diseño experimental (Figura 6-7).

Figura 6-6 Superficie de respuesta obtenida por medio de un ajuste de tipo cuadrático para la remoción PCBs (%Remoción PCBs).

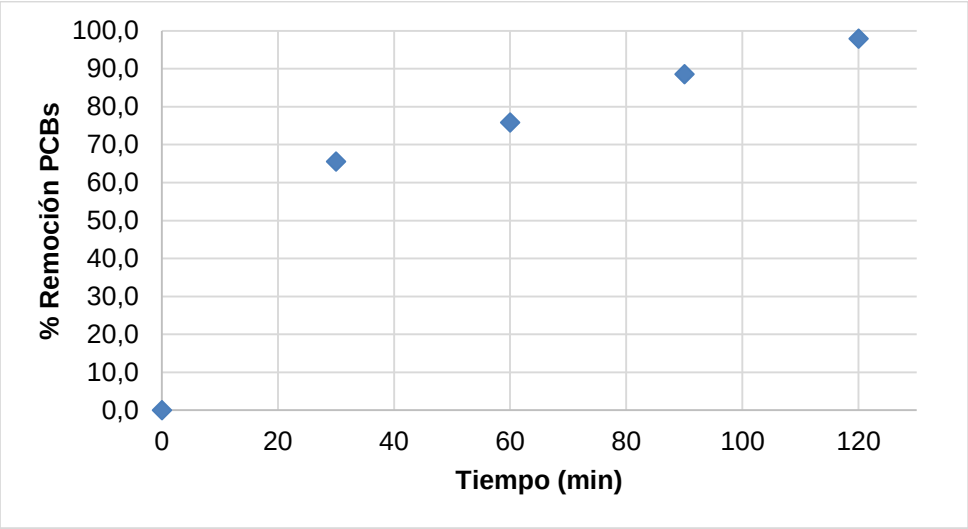


Como solución del óptimo de esta superficie de respuesta se tomó el valor sugerido por el software Design Expert 10 que corresponde a un pH de 6,10, una concentración de dióxido de titanio de 113 mg/L y una concentración de PCBs de 765 mg/L.

Partiendo de estos valores como condiciones de referencia se realizó el correspondiente experimento fotocatalítico con el objetivo de determinar el porcentaje de remoción de PCBs y su comportamiento en función del tiempo, los resultados obtenidos se muestran en la Figura 6-8.

Los resultados muestran una remoción acelerada en la primera hora de reacción hasta alcanzar valores cercanos al 70% en donde la velocidad de remoción disminuye hasta alcanzar remociones cercanas al 90% en un tiempo de reacción de 90min, adicionalmente, también es posible observar que para el tiempo planteado de 120min se alcanza un nivel de remoción de alrededor de 98%, indicando que el ajuste realizado es una representación fiable del proceso.

Figura 6-7 Comportamiento de la remoción de PCBs en función del tiempo a condiciones óptimas.



Al igual que para el caso de la remoción del carbono orgánico total, el comportamiento de las remociones obtenidas indica que la variación de la remoción de PCBs se puede ajustar a una cinética de tercer orden, sin embargo, de manera similar a como lo sugieren los datos obtenidos para la remoción del COT, este ajuste muy probablemente sugiere que la cinética de esta reacción es mucho más compleja y puede involucrar diferentes etapas y pasos de reacción.

6.3 Biotratamiento

Para determinar la densidad celular de la especie *Nostoc sp* en los medios de cultivo expuestos al efluente fotocatalítico (Tabla 5-6), se empleo la relación existente entre la absorbancia a 665nm y el conteo celular en cámara de Neubauer (Anexo A: Figura 9-3), de este modo se estableció que transcurrido el tiempo de exposición de siete días la especie *Nostoc sp* contaba con las densidades celulares reportadas en la Tabla 6-11.

Tabla 6-11 Resultados experimentales de densidad celular obtenidos para los cultivos sometidos al biotratamiento.

Experimento	Concentración PCBs (mg/L)	Fotoperiodo (horas luz/ horas oscuridad)	Densidad celular (Células/mL)
1	0	12/12	$1{,}25x10^6$
2	2,0	12/12	$3{,}09\ x10^5$
3	5,0	12/12	No detectado
4	0	24/24	$5{,}12\ x10^5$
5	2,0	24/24	$4{,}02\ x10^4$
6	5,0	24/24	$1{,}32\ x10^4$

Por otra parte, los resultados del contenido de carbono orgánico y contenido de clorofila a de los medios de cultivo (Figura 6- 8) se resumen en la Tabla 6-12, en la cual se calcula el contenido de clorofila a extraída en acetona 90% de acuerdo a la absorbancia del extracto a 665, 645 y 630nm (Figura 6-9) como se indica en 6-3 [59].

$$Clorofila\ a\ (\frac{\mu g}{L}) = (11{,}6\ A\ 665nm) - (1{,}31\ A\ 645nm) - (0{,}14\ A\ 630nm)) \quad (6\text{-}3)$$

Figura 6-8 Medios de cultivo para la especie *Nostoc sp* expuestos al efluente fotocatalítico contaminado con PCBs.

a) Medio de cultivo control (experimento 1)

b) Medios de cultivo centrifugados, experimento 1 (izquierda), experimento 2 (centro), experimento 3 (derecha)

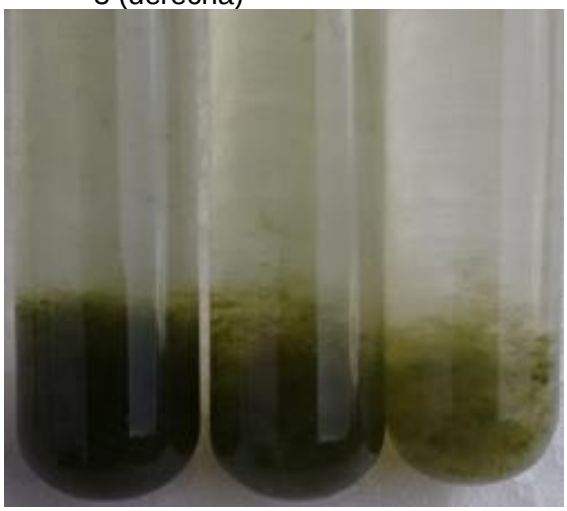


Figura 6-9 Espectro de absorción visible del medio de cultivo control (experimento1).

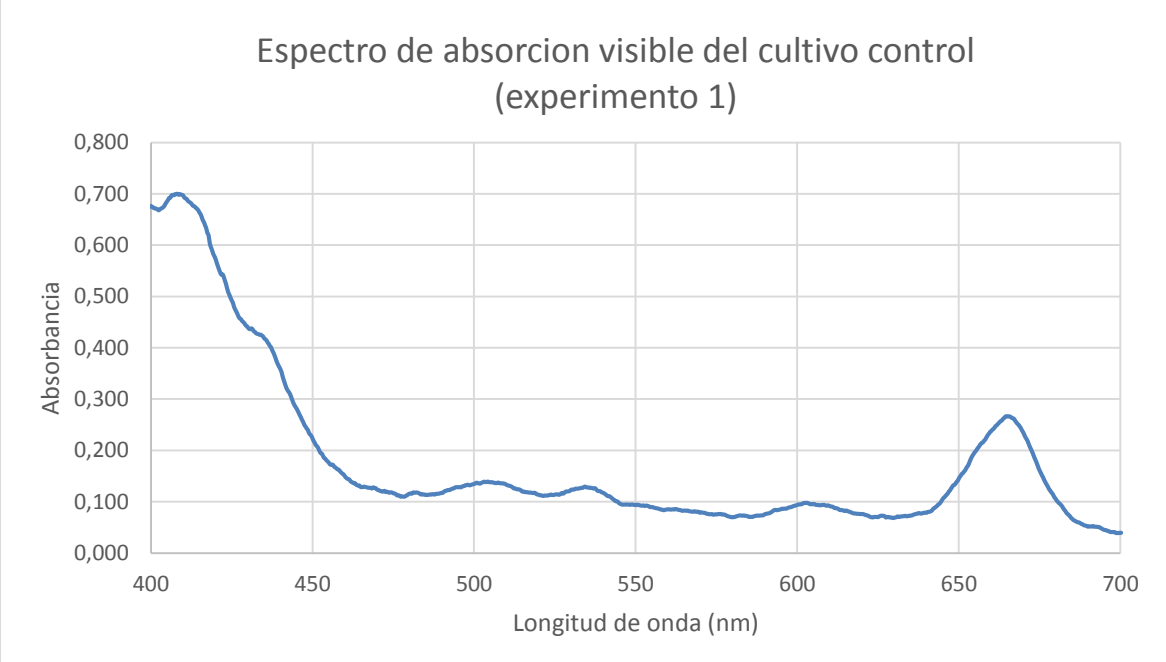


Tabla 6-12 Resultados experimentales del contenido carbono orgánico total y de clorofila a obtenidos para el biotratamiento.

Experimento	Contenido de clorofila a (µg/L)	Carbono Orgánico total (mg/L)
1	5,88	174,0
2	1,49	219,9
3	0,02	187,7
4	2,27	161,4
5	0,28	223,6
6	0,16	211,9

Los resultados obtenidos evidencian que el contenido de clorofila a en el medio de control para el fotoperiodo 12/12 (experimento 1) supera en mas de dos veces el contenido de clorofila a obtenido en el medio de control para el fotoperiodo 24/24 (experimento 4), sugiriendo que el fotoperiodo ideal para el crecimiento de la especie es 12 horas de luz seguidas de 12 horas de oscuridad, adicionalmente, para los cultivos control (experimentos 1 y 4) la densidad celular y el contenido de clorofila a es notablemente mayor que para los cultivos sometidos a la exposición del efluente fotocatalítico, de este modo, es posible concluir que la concentración de PCBs inhibe progresivamente el crecimiento de la especie *Nostoc sp*, siendo observado el menor crecimiento celular en el medio con mayor concentración de PCBs.

El porcentaje de inhibición de crecimiento celular se calculo con base en el contenido de clorofila a como se indica en (6-4), obteniendo de este modo los porcentajes de inhibición reportados en la Tabla 6-13.

$$\%Inhibición = \frac{[Clorofila\ a]_{Cultivo\ Control} - [Clorofila\ a]_{\ cultivo\ PCB´s}}{[Clorofila\ a]_{Cultivo\ Control}} \quad (6\text{-}4)$$

Tabla 6-13 Porcentajes de inhibición de crecimiento para los cultivos de *Nostoc sp* expuestos al efluente fotocatalítico.

Experimento	**Porcentaje de inhibición de crecimiento de *Nostoc sp***
2	74,7
3	99,6
5	87,6
6	92,7

Estos resultados confirman que la concentración de PCBs y sustancias provenientes del efluente fotocatalítico inhiben el crecimiento de Nostoc sp durante exposiciones agudas, reflejando una disminución considerable en la densidad celular y el contenido de clorofila a

Para establecer los resultados de remoción del diseño experimental propuesto (Tabla 5-6), estos se resumen en la tabla 6-14 en la cual se calcula el porcentaje de remoción de PCBs (%remoción PCBs), como se indica en (6-2).

Tabla 6-14 Resultados experimentales de remoción de PCBs (Aroclor 1016) obtenidos para la etapa de biotratamiento (%Remoción PCBs).

Experimento	**Porcentaje de remoción de PCBs**
1	NA
2	43,8
3	54,0
4	NA
5	31,3
6	41,5

De este modo, por medio del diseño experimental planteado para el biotratamiento, se estableció que para una concentración inicial de PCBs provenientes del efluente fotocatalítico de 5,0mg/L bajo el fotoperiodo 12/12 es posible alcanzar una remoción de PCBs de 54,0%, basado en el anterior hecho y teniendo en cuenta la realización de una degradación secuencial entre la etapa fotocatalítica y la etapa del biotratamiento es posible alcanzar una remoción de PCBs de 99,6%

7. Conclusiones y recomendaciones

7.1 Conclusiones

El contenido de PCBs totales de la muestra de aceite dieléctrico expresado como el contenido de Aroclor 1016 fue cuantificado conforme a los lineamientos del método 8280a de la U.S EPA [40], estableciendo una concentración de 657050 mg/L, valor que excede ampliamente el limite de 50mg/L establecido para este tipo de aceites en la normatividad ambiental [10], adicionalmente, al analizar cualitativamente por GC-MS los compuestos volátiles de la muestra de aceite dieléctrico se obtuvo como resultado la identificación de varios congéneres de PCBs entre los que se destaca la presencia del compuesto 3,4,4'-tricloro-1,1'-bifenilo.

Al realizar la determinación del contenido de metales pesados cadmio, cromo y plomo en la muestra de aceite dieléctrico se estableció una concentración de 0,5mg/L de Cd, 1,5mg/L de Cr y 3,2mg/L de Pb, valores que se consideran aceptables dado que se encuentran por debajo de los límites establecidos en la normatividad ambiental vigente de 2mg/L de Cd, 10mg/L de Cr y 100mg/L Pb [10], igualmente, al realizar la determinación del contenido de carbono, nitrógeno y azufre totales en la muestra de aceite dieléctrico se estableció una concentración de 55,38% de C, 0,23% de N y 0,24% de S, estos valores son consistentes con los resultados obtenidos para la composición del aceite y en el caso del azufre este valor se encuentra por debajo del límite establecido en la normatividad para este tipo de sustancias de 1,7% de S [10].

Después de llevar a cabo el tratamiento fotocatalítico de la muestra de aceite dieléctrico en emulsión acuosa fue posible obtener remociones de PCBs cercanas al 98%, adicionalmente, se determinaron las condiciones óptimas para el diseño experimental planteado, estimando como condiciones experimentales adecuadas un pH de 6,10, una concentración de dióxido de titanio de 113 mg/L y una concentración de PCBs de 765 mg/L.

Al realizar la variación del fotoperiodo como variable para el crecimiento de la especie *Nostoc sp* en un medio de cultivo BG11 modificado sin fuente de carbono orgánico ni solución de metales en trazas, fue posible establecer que se presentaron mayores indicadores de crecimiento celular al emplear 12 horas de luz seguidas de 12 horas de oscuridad, adicionalmente, al someter el cultivo de la especie *Nostoc sp* a la exposición del efluente fotocatalítico a condiciones optimas, se determino que la concentración de PCBs inhibe progresivamente el crecimiento de la especie, siendo observado de este modo el menor crecimiento celular en el medio con mayor concentración de PCBs, esto debido posiblemente a que la presencia de este tipo de sustancias genera un efecto tóxico en *Nostoc sp* durante exposiciones agudas con significativas alteraciones en la densidad celular y las tasas de crecimiento (clorofila a).

Por medio del diseño experimental planteado para el biotratamiento, se estableció que para una concentración inicial de PCBs provenientes del efluente fotocatalítico de 5,0mg/L bajo el fotoperiodo 12/12 es posible alcanzar una remoción de PCBs de 54,0%

Después de realizar conjuntamente el tratamiento fotocatalítico y la etapa de biotransformación empleando el microrganismo Nostoc sp fue posible alcanzar una remoción de PCBs de 99,6%

7.2 Recomendaciones

A continuación se proponen una serie de recomendaciones derivadas de los resultados obtenidos en la presente investigación para la realización de trabajos futuros relacionados con fotocatálisis heterogénea y biotratamiento de matrices contaminadas con PCBs:

- Completar el estudio con diferentes tensoactivos y disolventes de diferentes naturaleza química y polaridad, con el propósito de evaluar su efecto sobre la remoción de PCBs, así como realizar un estudio detallando las condiciones de micelización con el propósito de encontrar aquellas más favorables para la degradación sobre TiO_2 (determinación de la concentración micelar crítica (cmc), temperatura micelar crítica (tmc) y fases micelares posibles, en función de la composición del medio).
- Realizar estudios basados en el empleo de óxidos como fotocatalizadores (ZnO, CeO_2, ZrO_2, SnO_2, Sb_2O_4, CdS, ZnS), o por una matriz de TiO_2 que cuente con otros elementos incorporados en su red como dopantes, con el propósito de evaluar su efecto sobre sus propiedades mesoscópicas y fotocatalíticas.
- Analizar la influencia de otras variables de reacción sobre la velocidad de degradación fotocatalítica de PCBs: intensidad lumínica de la fuente, concentración de tensoactivo, concentración de peróxido de hidrogeno, velocidad de agitación, etc., con el propósito de determinar las condiciones óptimas de reacción.
- Estudiar la regeneración y reutilización del fotocatalizador TiO_2
- Realizar el estudio de la biodegradación de PCBs o efluentes contaminados con este tipo de sustancias, empleando el cultivo de diferentes microalgas, determinando las condiciones óptimas de temperatura, pH, concentración de carbono orgánico y fotoperiodo óptimas para llevar a cabo la remoción de estos contaminantes orgánicos persistentes.
- Desarrollar la degradación fotocatalítica de aceite dieléctrico a escala en planta piloto en las condiciones óptimas determinadas en este trabajo.

8. Bibliografía y referencias

1. Senado de la Republica de Colombia. Ley 253 de 1996. Por medio de la cual se aprueba el Convenio de Basilea sobre el control de los movimientos transfronterizos de los desechos peligrosos y su eliminación, hecho en Basilea el 22 de marzo de 1989.

2. Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial, Republica de Colombia. Decreto 4741 de 2005. Por el cual se reglamenta parcialmente la prevención y el manejo de los residuos o desechos peligrosos generados en el marco de la gestión integral.

3. Ministerio de Minas y Energía, Republica de Colombia, Unidad de Planeación Minero Energética (UPME). Bogotá, 2001. Resumen ejecutivo transformación de los aceites usados para su utilización como energéticos en procesos de combustión.

4. Ishikawa, Y.; Noma, Y.; Mori, Y.; Sakai, S. Congener profiles of PCB and a proposed new set of indicator congeners. *Chemosphere*. 2007. 67: 1838–1851.

5. Heinzow, B.; Mohr, S.; Ostendorp, G.; Kerst, M.; Ko¨rner, W. PCB and dioxin-like PCB in indoor air of public buildings contaminated with different PCB sources – deriving toxicity equivalent concentrations from standard PCB congeners. *Chemosphere.* 2007. 67: 1746–1753.

6. Howell, N.; Lakshmanan, D.; Rifai, H.; Koenig, L. PCB dry and wet weather concentration and load comparisons in Houston-area urban channels. *Sci. Total Environ*. 2011. 409: 1867–1888.

7. Buitrago Claudia M., Caicedo Inés F., Coll Jorge N., Quintero Ricardo S., Escobar Luis A.,; Falla Marta R., Martínez Alejandro, Ramírez Alberto, Manual Técnico para el Manejo de Aceites Lubricantes Usados. DAMA - Bogotá D.C. 2006.

8. Londoño, J.; Tamayo, C.; Londoño, D.; Llano, S. Manual de Normas y Procedimientos para la Gestión de Aceites Usados. Corporación Autónoma Regional de Cundinamarca – *CAR*. Bogotá D.C. 2003.

9. Secretaria Distrital de Ambiente de Bogotá. Gestión de los Aceites Usados. Dirección de Evaluación, Control y Seguimiento Ambiental. Bogotá D.C. 2008.

10. Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial, Republica de Colombia. Por la cual se establecen los casos en los cuales se permite la combustión de los aceites de desecho y las condiciones técnicas para realizar la misma. Resolución 415. 1998.

11. Estrucplan Consultora S.A. Argentina, Políticas Integrales de Seguridad e Higiene, Salud Ocupacional y Medio Ambiente. Argentina. Disponible en: *http://www.estrucplan.com.ar/producciones/entrega.asp ?identrega=1856*. [Consultado el 15 de Junio de 2013].

12. Secretaria de Ambiente y Desarrollo Sostenible de la Nación Argentina, Unidad de Residuos Peligrosos. La Gestión de los PCB en Argentina. Argentina. 2013.

13. Acuerdo de cooperación entre el PNUMA, OIT, FAO, OMS, ONUDI, UNITAR Y OCDE, Programa interinstitucional para la IOMC gestión racional de las sustancias químicas. Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente: Transformadores y condensadores con PCB: desde la gestión hasta la reclasificación y eliminación. 1ª. ed., Kenia. 2002.

14. Lorenzo, C. Eliminación o descontaminación de los PCB's Improvisación del Gobierno en el cumplimiento de la gestión de los PCB's. Argentina. 2009.

15. Convenio De Estocolmo Sobre Contaminantes Orgánicos Persistentes. Decisión 2006/507/CE del Consejo. 2004. Relativa a la celebración, en nombre de la Comunidad Europea, Estocolmo. 2001. Disponible en: *http://europa.eu/legislation_summaries/environment/air_pollution/l21279_es.htm.* [Consultado el 03 de Junio de 2013].

16. Macdonald, R.; Barrie, L.; Bidleman, T.; Diamond, M.; Gregor, D.; Semkin, R. Contaminants in the Canadian Arctic: 5 Years of Progress in Understanding Sources, Occurrence and Pathways. *Sci Total Environ*. 2000. 254:93-234.

17. Polder, A.; Odland, J.; Tkachev, A.; Føreid, S.; Savinova, Tn. Geographic Variation of Chlorinated Pesticides, Toxaphenes and PCBs in Human Milk from Sub-Arctic and Arctic Locations in Russia. *Sci Total Environ*. 2003. 306:179-195.

18. She, J.; Holden, A.; Sharp, M. Tañer, M.; Williams-Derry, C.; Hooper, K. Polybrominated Diphenyl Ethers (PBDEs) and Polychlorinated Biphenyls (PCBs) in Breast Milk from the Pacific Northwest. *Chemosphere.* 2007. 67: S307-S317.

19. Hatzinger, P.; Alexander, M. Effect of Aging of Chemicals in Soil on their Biodegradability and Extractability. *Environ Sci Technol*. 1995. 29: 537-545.

20. Focht, D. Biotransformation of Halogenated Pesticides. En: Haggblom MM, Bossert ID, editors. Dehalogenation, Microbial Processes and Environmental Application. Kluwer Academic Publishers; 2003. p. 303-332.

21. Corbella, R. Contaminantes orgánicos en tres especies de Patella de la costa de la isla de Fuerteventura. España. 1998.

22. Aguirre, J.; Lopera, E. Purificación de aceites aislantes contaminados con bifenilos policlorados (PCB's). Revista de Facultad de Minas. 2006. 150. ISSN: 0012-7353.

23. Ruiz, G. Biodegradación de bifenilos policlorados (PCB's) por microorganismos. Acta universitaria. México. 15 No. 002. ISNN: 0188-6266.

24. Duglas, W.; Ministerio De Medio Ambiente; Ceri-Acdi-Colombia. Manual de manejo de PCB's para Colombia. Canadá - Colombia. 1999.

25. PNUMA. Directrices técnicas para el manejo ambiental racional de desechos consistentes en contaminantes orgánico persistente los que los contengan o estén contaminados con ellos. Conferencia de las partes en el convenio de Basilea sobre control de los desechos peligrosos y su eliminación. Ginebra. 2004.

26. Borja, J.; Taleon, D.; Auresenia, J.; Gallardo, S. Polychlorinated Biphenyls and their Biodegradation Process. *Biochemistry.* 2005. 40: 1999-2013.

27. Wiegel, J.; Wu, Q. Microbial Reductive Dehalogenation of Polychlorinated Biphenyls. *FEMS Microbial Ecol*. 2000. 32: 1-15.

28. Abraham, W.; Nogales, B.; Golyshin, P.; Pieper, Dh.; Timmis, K. Polychlorinated Biphenyl-Degrading Microbial Communities in Soils and Sediments. *Curr Opin Microbiol*. 2002. 5: 246-253.

29. Master, E.; Lai, V.; Kuipers, B.; Cullen, W.; Mohn, W. Sequential Anaerobic-Aerobic Treatment of Soil Contaminated with Weathered Aroclor 1260. *Environ Sci Technol*. 2002. 36: 100-103.

30. William, W.; Mohn, J.; Microbial Reductive Dehalogenation. *American Society for Microbiology*. *Microbiological Reviews*. 1992. 56: 482-507.

31. Minoru, S.; Takao, K.; Masao, F.; Kazuhide, K. Complete Degradation Of Polychlorinated Biphenyls By A Combination Of Ultraviolet And Biological Treatments. *Journal Of Fermentation and Bioengineering. 1996. 81: 6, 573-576.*

32. Seeger, M.; Timmis, K.; Hofer, B. Bacterial Pathways For The Degradation Of Polychlorinated Biphenyls. *Mar. Chem.* 1997. 58: 327-333.

33. Williams, A. Stimulation And Enrichment Of Two Microbial Polychlorinated Biphenyl Reductive Dechlorination Activities. *Chemosphere*. 1997. 34: 655-669.

34. Furukawa, K. Biochemical and Genetic Bases of Microbial Degradation of Polychlorinated Biphenyls (PCBs). *J Gen Appl Microbiol*. 2000. 46: 283-296.

35. Leaes, F.; Daniel, A.; Mello, G.; Battisti, V.; Bogusz S.; Emanuelli, T.; Fries, L.; Costabeber, I. Degradation of polychlorinated biphenyls (PCBs) by Staphylococcus xylosus in liquid media and meat mixture. *Food Chem. Toxicol.* 2006. 44: 847–854.

36. Furukawa, K.; Fujihara. H. Microbial Degradation of Polychlorinated Biphenyls: Biochemical and Molecular Features. *Journal Of Bioscience And Bioengineering*. 2008. 105: 433–449.

37. Salazar, L. Evaluación De Métodos De Extracción De Aceite De Microalgas Para La Producción De Biodiesel. Piura. 2012.

38. Salazar, M. Aplicación e importancia de las Microalgas en el tratamiento de aguas residuales. Laboratorio de Microbiología Ambiental y Tratamiento de Aguas Residuales. Depto. de Biotecnología. UAM-I.

39. Subashchandrabose, S.; Ramakrishnan, B.; Megharaj, M.; Venkateswarlu, K.; Naidu, R. Mixotrophic cyanobacteria and microalgae as distinctive biological agents for organic pollutant degradation. *Environment International.* 2013. 51: 59–72.

40. US Environmental Protection Agency METHOD 8082A. Polychlorinated Biphenyls (PCBs) By Gas Chromatography. 2000.

41. Warshawsky, D.; LaDow, K.; Schneider, J. Enhanced degradation of benzo[a]pyrene by Mycobacterium sp. in conjunction with green alga. *Chemosphere*. 2007. 69: 500–506.

42. Herrmann, J. Destrucción de contaminantes orgánicos por fotocatálisis heterogénea. Université Claude Bernard Lyon1. Francia. 1918.

43. Imagen disponible en: http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Ceratium_sp_umitunoobimusi.jpg. [consultada el 15 de Junio de 2013].

44. Imagen disponible en: http://www.qbd-dtc.com/wp-content/uploads/Imagen1.jpg. [consultada el 15 de Junio de 2013].

45. Kuo, C.; Lo, S. Adsorption of Aqueous 4-Clorobiphenyl and Treatment with UV-Illuminated Titanium Dioxide. *J. Colloid Interface Sci*. 1997.196: 199–206.

46. Hong, C.; Wang, Y.; Bush, B. Kinetics and products of the TiO_2 photocatalytic degradation of 2-clorobiphenyl in water. *Chemosphere*. 1998. 36 No. 7: 1653-1667.

47. Wang, Y.; Hong, S. Effect of hydrogen peroxide, periodate and persulfate on photocatalysis of 2-clorobiphenyl in aqueous TiO_2 suspension. *Wat. Res*. 1999. 33. No. 9: 2031-2036.

48. Wang, Y.;Hong, C. TiO_2-mediated photomineralization of 2-clorobiphenyl: the role of O_2. *Wat. Res.* 2000. 34. No. 10: 2791-2797.

49. Huang,Q.; Hong, C. TiO_2 photocatalytic degradation of PCBs in soil-water systems containing fluoro surfactant. *Chemosphere.* 2000. 41: 871-879.

50. Kuo, C.; Lin, H. Adsorption effect of aqueous biclorobiphenyls onto UV-illuminated titanium dioxide. *J. Hazard. Mater.* 2004. B114: 225–230.

51. Wong, K.; Tao, S.; Dawson, R.; Wong, P. Optimization of photocatalytic oxidation of 2,2´,3,3´ -tetraclorobiphenyl. J. Hazard. Mater. 2004. B109: 149–155.

52. Lin, Y.; Chen, Y.; Huang, C.; Wu, M. Photocatalysis of 2,2´,3,4,4´,5´-Hexaclorobiphenyl and its intermediates using various catalytical preparing methods. J. Hazard. Mater. 2006. B136: 902–910.

53. ASTM International Designation: D6160 – 98. Standard Test Method for Determination of Polychlorinated Biphenyls (PCBs) in Waste Materials by Gas Chromatography. 2008.

54. ASTM International Designation: D4059 – 00. Standard Test Method for Analysis of Polychlorinated Biphenyls in Insulating Liquids by Gas Chromatography. 2010.

55. Información disponible en: http://www.sigmaaldrich.com/chemistry/solvents/products.html, [consultada el 15 de Octubre de 2013].

56. Informacion disponible en http://www.unac.edu.pe/ Documentos: capitulo 3 Introduccion al planeamiento de experimentos [consultada el 15 de Octubre de 2013].

57. ASTM D1217-15 "*Standard Test Method for Density and Relative Density (Specific Gravity) of Liquids by Bingham Pycnometer".*

58. Algal Culture Techniques, Edition: 1, Chapter: Appendix, Publisher: Elsevier Academic Press., London, Editors: R.A. Andersen, pp.429-538.

59. Strickland Jhd, Parsons Tr. A practical handbook of seawater analysis. Bull Fish Res. 1972;167:189-190.

9. Anexo A: Curvas de calibración correspondientes a los análisis realizados.

Tabla 9-1 Descripción de las curvas de calibración empleadas para la determinación de cromo, cadmio y plomo

Elemento	Muestra	Concentración (µg/L)	Señal promedio (Abs)	Coeficiente correlación	Pendiente	Intercepto	Límite de detección (µg/L) $3S_{Blancos}$	Longitud de onda (nm)
Cadmio	Blanco	0	0,000	1,000	0,05534	0,000	1,0	228,80
	Estándar baja	10	0,454					
	Estándar media	25	0,822					
	Estándar alta	50	1,056					
Cromo	Blanco	0	0,000	1,000	0,00696	0,000	3,0	357,87
	Estándar baja	50	0,360					
	Estándar media	100	0,754					
	Estándar alta	150	1,223					
Plomo	Blanco	0	0,000	1,000	0,00289	0,000	8,0	283,31
	Estándar baja	100	0,272					
	Estándar media	250	0,604					
	Estándar alta	500	0,933					

Figura 9-1 Curva experimental obtenida para la determinación de cadmio.

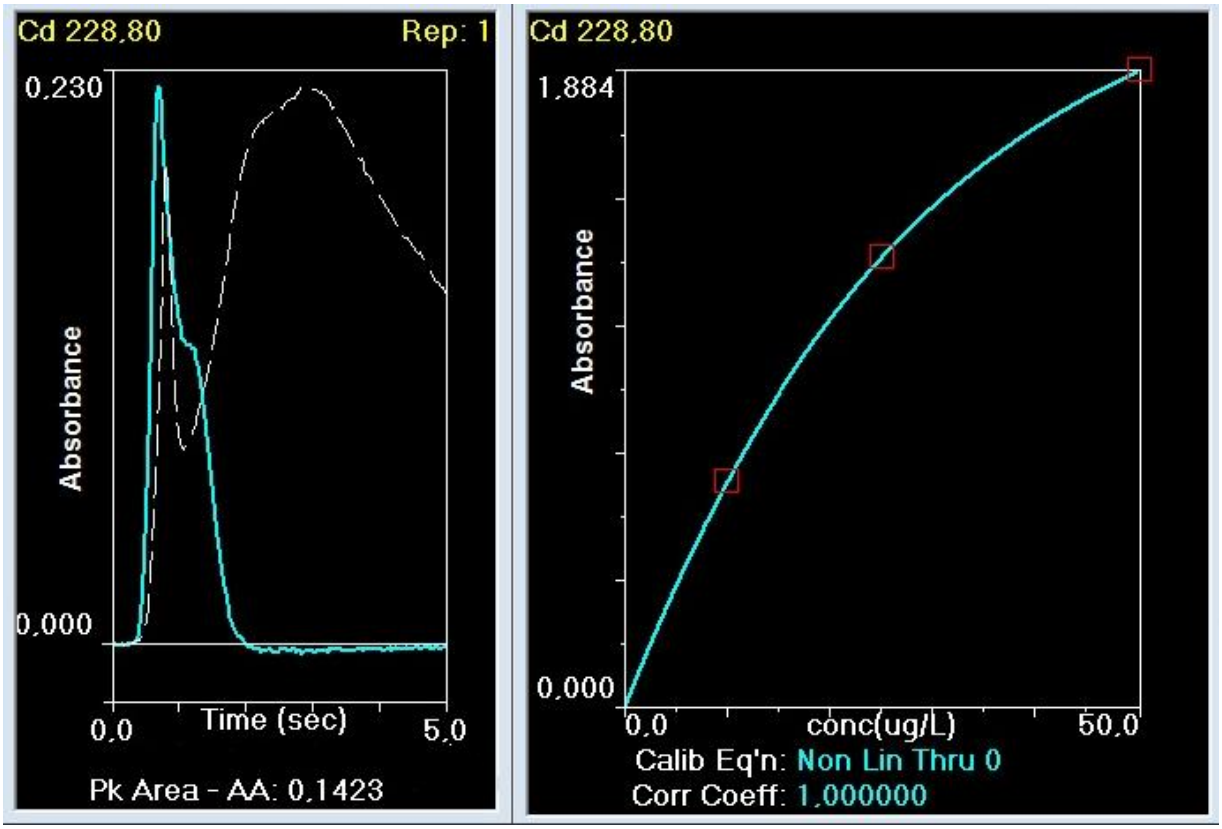


Tabla 9-2 Material de referencia empleado para la determinación de carbono, nitrógeno y azufre.

Estándar	%C	µC (+/-)	%N	µN (+/-)	%S	µS (+/-)	%H	µH (+/-)
502-062	2,02	0,06	0,183	0,015	0,029	0,004	0,41	0,09
502-308	2,35	0,07	0,183	0,01	0,028	0,002	-----	-----
502-309	12,25	0,34	1,03	0,05	0,207	0,009	-----	-----
502-092	41,07	0,13	9,56	0,02	-------	-----	5,55	0,03
502-654	72,53	0,29	6,5	0,15	7,43	0,15	6,11	0,08
502-209	51,78	-----	20,13	-----	11,52	-----	NR	-----

Tabla 9-3 Descripción de las curvas de calibración empleadas para la determinación de carbono, nitrógeno y azufre.

Elemento	Pendiente	Intercepto	Error relativo	Límite de detección $3S_{Blancos}$
C	0,707	0,001	0,75	0,074

Elemento	Pendiente	Intercepto	Error relativo	Límite de detección $3S_{Blancos}$
N	0,468	0,007	0,19	0,390
S	0,125	0,204	0,11	0,011

Tabla 9-4 Descripción de las curvas de calibración empleadas para la determinación de carbono orgánico total.

Punto de calibración	Concentración	Unidad	Área Promedio	Numero de inyecciones	Desviación Estándar máxima
1	15,00	mg/L	43,9828	3	0,5
2	30,00	mg/L	93,1378	3	0,5
3	50,00	mg/L	158,6778	3	0,5
4	75,00	mg/L	240,6028	3	0,5
5	150,00	mg/L	486,3778	3	0,5

Figura 9-2 Variación del potencial en función del volumen de nitrato de plata adicionado para una alícuota de 5,0mL de solución patrón de cloruro de sodio de concentración 0,01mol/L.

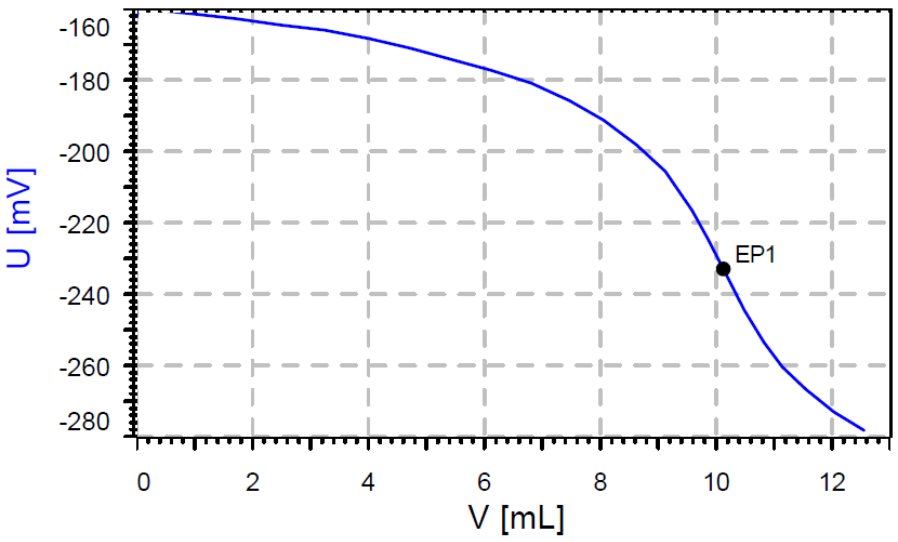


Tabla 9-5 Resultados experimentales obtenidos para la determinación de la concentración del nitrato de plata.

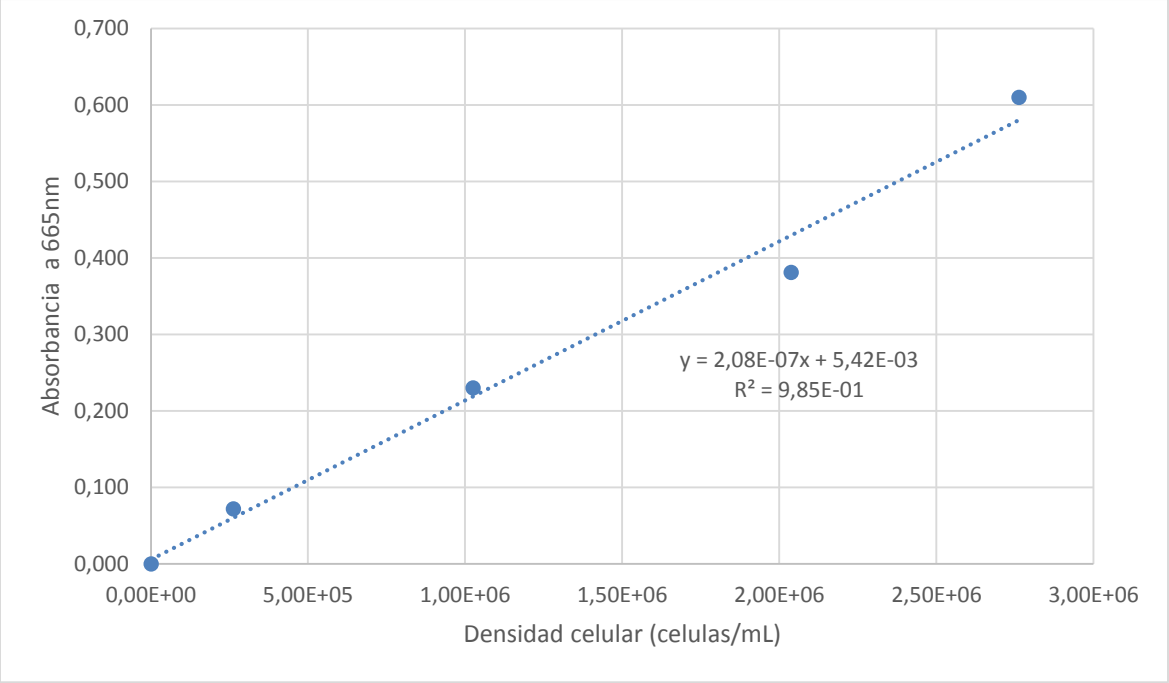
Muestra	**Alícuota Muestra (ml)**	**Volumen AgNO3 (ml)**	**Concentración AgNO3 (mMolar)**
Patrón 0,01 Molar NaCl	5,000	10,124	4,94
Patrón 0,01 Molar NaCl	5,000	10,280	4,86
Patrón 0,01 Molar NaCl	5,000	10,275	4,87

Tabla 9-6 Descripción de las curvas de calibración empleadas para la determinación de PCBs totales.

Curva de calibración de baja concentración			
Punto de calibración	**Concentración**	**Unidad**	**Área Promedio**
1	1,002	mg/L	$6,57x10^4$
2	2,505	mg/L	$1,68\ x10^5$
3	5,010	mg/L	$3,31\ x10^5$
4	7,515	mg/L	$5,32\ x10^5$
5	10,020	mg/L	$7,33\ x10^5$
6	25,050	mg/L	$1,83\ x10^6$
m=73906,922 ; b=-18800,389; R^2 = 0,9998			

Curva de calibración de alta concentración			
Punto de calibración	**Concentración**	**Unidad**	**Área Promedio**
1	50,10	mg/L	$3,54x10^6$
2	75,15	mg/L	$4,80\ x10^6$
3	100,20	mg/L	$6,26\ x10^6$
4	150,30	mg/L	$8,47\ x10^6$
5	200,40	mg/L	$1,08\ x10^7$
6	300,60	mg/L	$1,63\ x10^7$
m=50218,229 ; b=$1,030\ x10^6$; R^2 = 0,9993			

Figura 9-3 Relación existente entre la densidad celular del cultivo *Nostoc sp* en un medio BG11 modificado y la absorbancia del mismo a 665nm.



10. Anexo B: Información estadística.

ANOVA COT						
Response	1	%Remocion COT				

ANOVA for Response Surface Quadratic model
Analysis of variance table [Partial sum of squares - Type III]

	Sum of		Mean	F	p-value	
Source	Squares	df	Square	Value	Prob > F	
Model	17620,11	9	1957,79	57,94	< 0.0001	significant
A-[PCBs]	*12792,83*	*1*	*12792,83*	*378,62*	*< 0.0001*	
B-pH	*475,58*	*1*	*475,58*	*14,08*	*0,0072*	
C-[TiO2]	*10,47*	*1*	*10,47*	*0,31*	*0,5951*	
AB	*9,97*	*1*	*9,97*	*0,3*	*0,6038*	
AC	*2,83*	*1*	*2,83*	*0,084*	*0,7806*	
BC	*15,32*	*1*	*15,32*	*0,45*	*0,5224*	
A^2	*3751,61*	*1*	*3751,61*	*111,03*	*< 0.0001*	
B^2	*254,55*	*1*	*254,55*	*7,53*	*0,0287*	
C^2	*91,22*	*1*	*91,22*	*2,7*	*0,1444*	
Residual	236,51	7	33,79			
Lack of Fit	*181,42*	*3*	*60,47*	*4,39*	*0,0935*	*not significant*
Pure Error	*55,09*	*4*	*13,77*			
Cor Total	17856,62	16				

The Model F-value of 57,94 implies the model is significant. There is only a 0,01% chance that an F-value this large could occur due to noise. Values of "Prob > F" less than 0,0500 indicate model terms are significant. In this case A, B, A^2, B^2 are significant model terms. Values greater than 0.1000 indicate the model terms are not significant. If there are many insignificant model terms (not counting those required to support hierarchy), model reduction may improve your model. The "Lack of Fit F-value" of 4,39 implies there is a 9,35% chance that a "Lack of Fit F-value" this large could occur due to noise. Lack of fit is bad -- we want the model to fit. This relatively low probability (<10%) is troubling.

Std. Dev.	5,81		R-Squared	0,9868		
Mean	65,16		Adj R-Squared	0,9697		
C.V. %	8,92		Pred R-Squared	0,8326		
PRESS	2988,83		Adeq Precision	21,399		
-2 Log Likelihood	93,00		BIC	121,33		
			AICc	149,67		

The "Pred R-Squared" of 0,8326 is in reasonable agreement with the "Adj R-Squared" of 0,9697; i.e. the difference is less than 0.2. "Adeq Precision" measures the signal to noise ratio. A ratio greater than 4 is desirable. Your ratio of 21,399 indicates an adequate signal. This model can be used to navigate the design space.

	Coefficient		Standard	95% CI	95% CI	
Factor	Estimate	df	Error	Low	High	VIF
Intercept	85,06	1	2,6	78,91	91,21	
A-[PCBs]	39,99	1	2,06	35,13	44,85	1
B-pH	-7,71	1	2,06	-12,57	-2,85	1
C-[TiO2]	-1,14	1	2,06	-6	3,72	1
AB	-1,58	1	2,91	-8,45	5,29	1
AC	0,84	1	2,91	-6,03	7,71	1
BC	-1,96	1	2,91	-8,83	4,92	1
A^2	-29,85	1	2,83	-36,55	-23,15	1,01
B^2	-7,78	1	2,83	-14,47	-1,08	1,01
C^2	-4,65	1	2,83	-11,35	2,04	1,01

Final Equation in Terms of Actual Factors:

%Remocion COT	=
-29,17124	
0,25508	* [PCBs]
5,89906	* pH
0,048593	* [TiO2]
-8,77E-04	* [PCBs] * pH
7,87E-06	* [PCBs] * [TiO2]
-2,06E-03	* pH * [TiO2]
-1,47E-04	* $[PCBs]^2$
-0,48596	* pH^2
-8,25E-05	* $[TiO2]^2$

ANOVA PCBs						
Response	2	%Remocion PCBs				

ANOVA for Response Surface Quadratic model

Analysis of variance table [Partial sum of squares - Type III]

	Sum of		Mean	F	p-value	
Source	Squares	df	Square	Value	Prob > F	
Model	1860,39	9	206,71	1726,31	0,0006	significant
A-[PCBs]	*391,95*	*1*	*391,95*	*3273,31*	*0,0003*	
B-pH	*1,53*	*1*	*1,53*	*12,78*	*0,0701*	
C-[TiO2]	*23,19*	*1*	*23,19*	*193,64*	*0,0051*	
AB	*486*	*1*	*486*	*4058,78*	*0,0002*	
AC	*129,75*	*1*	*129,75*	*1083,57*	*0,0009*	
BC	*13,07*	*1*	*13,07*	*109,18*	*0,009*	
A^2	*5,25*	*1*	*5,25*	*43,84*	*0,0221*	
B^2	*137,8*	*1*	*137,8*	*1150,82*	*0,0009*	
C^2	*437,59*	*1*	*437,59*	*3654,45*	*0,0003*	
Residual	0,24	2	0,12			
Cor Total	1860,63	11				

The Model F-value of 1726,31 implies the model is significant. There is only a 0,06% chance that an F-value this large could occur due to noise. Values of "Prob > F" less than 0,0500 indicate model terms are significant. In this case A, C, AB, AC, BC, A^2, B^2, C^2 are significant model terms. Values greater than 0.1000 indicate the model terms are not significant. If there are many insignificant model terms (not counting those required to support hierarchy), model reduction may improve your model.

Std. Dev.	0,35		R-Squared	0,9999
Mean	83,93		Adj R-Squared	0,9993
C.V. %	0,41		Pred R-Squared	N/A
PRESS	N/A		Adeq Precision	144,762
-2 Log Likelihood	-12,92		BIC	11,93
			AICc	227,08

"Adeq Precision" measures the signal to noise ratio. A ratio greater than 4 is desirable. Your ratio of 144,762 indicates an adequate signal. This model can be used to navigate the design space.

	Coefficient		Standard	95% CI	95% CI	
Factor	Estimate	df	Error	Low	High	VIF
Intercept	82,99	1	0,35	81,5	84,48	
A-[PCBs]	8,57	1	0,15	7,93	9,22	1,3
B-pH	-0,44	1	0,12	-0,96	0,089	1
C-[TiO2]	2,09	1	0,15	1,44	2,73	1,3
AB	11,02	1	0,17	10,28	11,77	1
AC	-8,05	1	0,24	-9,11	-7	1,46
BC	-1,81	1	0,17	-2,55	-1,06	1
A^2	-1,62	1	0,24	-2,67	-0,57	1,46
B^2	-8,3	1	0,24	-9,35	-7,25	1,33
C^2	14,79	1	0,24	13,74	15,84	1,46

Final Equation in Terms of Actual Factors:

%Remocion PCBs	=
70,39987	
4,77E-03	* [PCBs]
4,28519	* pH
-0,074123	* [TiO2]
6,12E-03	* [PCBs] * pH
-7,54E-05	* [PCBs] * [TiO2]
-1,90E-03	* pH * [TiO2]
-8,00E-06	* $[PCBs]^2$
-0,51879	* pH^2
2,62E-04	* $[TiO2]^2$

ANOVA CLORURO						
Response	3	[Cl-]				

ANOVA for Response Surface Reduced Cubic model (Aliased)

Analysis of variance table [Partial sum of squares - Type III]

	Sum of		Mean	F	p-value	
Source	Squares	df	Square	Value	Prob > F	
Model	348,41	12	29,03	12,12	0,0138	significant
A-[PCBs]	*0,15*	*1*	*0,15*	*0,061*	*0,8178*	
B-pH	*11,35*	*1*	*11,35*	*4,74*	*0,0951*	
C-[TiO2]	*0,034*	*1*	*0,034*	*0,014*	*0,9104*	
AB	*76,18*	*1*	*76,18*	*31,79*	*0,0049*	
AC	*0,15*	*1*	*0,15*	*0,061*	*0,8178*	
BC	*0,034*	*1*	*0,034*	*0,014*	*0,9104*	
A^2	*35,59*	*1*	*35,59*	*14,85*	*0,0182*	
B^2	*44,34*	*1*	*44,34*	*18,5*	*0,0126*	
C^2	*58,69*	*1*	*58,69*	*24,49*	*0,0078*	
ABC	*0*	*0*				
A^2B	*68,25*	*1*	*68,25*	*28,48*	*0,0059*	
A^2C	*3,14*	*1*	*3,14*	*1,31*	*0,3159*	
AB^2	*22,89*	*1*	*22,89*	*9,55*	*0,0365*	
AC^2	*0*	*0*				
B^2C	*0*	*0*				
BC^2	*0*	*0*				
Pure Error	9,59	4	2,4			
Cor Total	358	16				

The Model F-value of 12,12 implies the model is significant. There is only a 1,38% chance that an F-value this large could occur due to noise. Values of "Prob > F" less than 0,0500 indicate model terms are significant. In this case AB, A^2, B^2, C^2, A^2B, AB^2 are significant model terms. Values greater than 0.1000 indicate the model terms are not significant. If there are many insignificant model terms (not counting those required to support hierarchy), model reduction may improve your model.

Std. Dev.	1,55		R-Squared	0,9732
Mean	3,31		Adj R-Squared	0,8929
C.V. %	46,75		Pred R-Squared	N/A
PRESS	N/A		Adeq Precision	15,085
-2 Log Likelihood	38,50		BIC	75,33
			AICc	185,84

"Adeq Precision" measures the signal to noise ratio. A ratio greater than 4 is desirable. Your ratio of 15,085 indicates an adequate signal. This model can be used to navigate the design space.

	Coefficient		Standard	95% CI	95% CI	
Factor	Estimate	df	Error	Low	High	VIF
Intercept	2,17	1	0,69	0,25	4,09	
A-[PCBs]	-0,19	1	0,77	-2,34	1,96	2
B-pH	-1,68	1	0,77	-3,83	0,46	2
C-[TiO2]	0,093	1	0,77	-2,06	2,24	2
AB	-4,36	1	0,77	-6,51	-2,22	1
AC	-0,19	1	0,77	-2,34	1,96	1
BC	-0,093	1	0,77	-2,24	2,06	1
A^2	2,91	1	0,75	0,81	5	1,01
B^2	3,24	1	0,75	1,15	5,34	1,01
C^2	-3,73	1	0,75	-5,83	-1,64	1,01
ABC	ABC					
A^2B	5,84	1	1,09	2,8	8,88	2
A^2C	1,25	1	1,09	-1,79	4,29	2
AB^2	-3,38	1	1,09	-6,42	-0,34	2
AC^2	AC2+ A - AB2					
B^2C	B^2C + C - A^2C					
BC^2	BC2+ B - A2B					

Final Equation in Terms of Coded Factors:

[Cl-]	=
2,17	
-0,19	* A
-1,68	* B
0,093	* C
-4,36	* AB
-0,19	* AC
-0,093	* BC
2,91	* A^2
3,24	* B^2
-3,73	* C^2
0	* ABC
5,84	* A^2B
1,25	* A^2C
-3,38	* AB^2
0	* AC^2
0	* B^2C
0	* BC^2