



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN INGENIERÍA AMBIENTAL-AGUA

EVALUACIÓN DEL EFECTO BACTERICIDA DE NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE ZINC, ÓXIDO DE COBRE Y ÓXIDO DE NÍQUEL DOPADAS CON PLATA PRESENTES EN AGUA

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRA EN INGENIERÍA

PRESENTA

VANESSA AVILA SEGURA

TUTOR PRINCIPAL

DR. PANDIYAN THANGARASU

FACULTAD DE QUÍMICA-UNAM

COMITÉ TUTORAL

DRA. MARÍA TERESA ORTA LEDESMA, INSTITUTO DE INGENIERÍA- UNAM

DR. JESÚS ÁNGEL ARENAS ALATORRE, INSTITUTO DE FÍSICA- UNAM

CIUDAD DE MÉXICO, NOVIEMBRE 2023



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO:

Presidente: Dra. ORTA LEDESMA MARÍA TERESA
Secretario: Dr. CÉSAR VALDEZ ENRIQUE
1er. Vocal: Dr. ARENAS ALATORRE JESÚS ÁNGEL
2do. Vocal: M. C. GARCÍA GÓMEZ ROLANDO SALVADOR
3er. Vocal: Dr. THANGARASU PANDIYAN

Lugares donde se realizó la tesis:

LABORATORIOS 215 Y 221, EDIFICIO F, FACULTAD DE QUÍMICA, CIUDAD
UNIVERSITARIA, UNAM.

TUTOR DE TESIS:

Dr. PANDIYAN THANGARASU

FIRMA

DEDICATORIA

Primeramente, a Dios por todas las cosas maravillosas que me regala día a día, a mi familia por ser mi motor incondicional sin importar los kilómetros de distancia que nos separan; en especial a mi mamá Blanca Cecilia Segura Huertas por siempre apoyarme en cada paso, por tener las palabras certeras en cada momento y demostrarme que los sueños si se cumplen.

A mi hermana Valentina por su apoyo incondicional y ser un ejemplo de valentía.

A mi tía Clara Inés Segura Huertas por ser tan única y especial conmigo.

A mis abuelitos Margarita Huertas y Francisco Ávila que me cuidan desde el cielo y están presentes en mi en cada momento.

A Jesús Zamora Hernández por tanto amor y comprensión, por siempre estar a mi lado sin importar que tan difíciles sean los retos que tengamos en frente, gracias por apoyarme en cada decisión, por escucharme, alentarme y aconsejarme, pero sobre todo por quererme de la manera en que solo tú sabes hacerlo y alegrar cada día de mi vida.

A la familia Zamora Hernández por su inmenso apoyo y amor incondicional.

A mi querido angelito perruno Paul, con un profundo amor y gratitud que trasciende en el tiempo; agradecida por las innumerables alegrías que compartiste conmigo.

AGRADECIMIENTOS

La culminación de este trabajo de investigación ha sido posible gracias al valioso apoyo brindado por diversas personas e instituciones a las cuales deseo expresar mi sincero agradecimiento. Sus contribuciones, orientación y apoyo han sido fundamentales para el éxito de este proyecto académico.

A mi familia, a Jesús y su familia por siempre apoyarme en cada paso que doy, por ser mi soporte y lugar seguro.

Al Dr. Pandiyan Thangarasu por su orientación, apoyo, consejos y por confiar en mi para la realización de este proyecto ya que con su conocimiento y enseñanzas ayudaron a mi formación académica.

A mi comité tutorial conformado por la Dra. María Teresa Orta Ledesma y el Dr. Jesús Arenas Alatorre por sus observaciones y enseñanzas tanto a nivel académico en las asignaturas de procesos fisicoquímicos avanzados para el tratamiento de agua y microscopia electrónica como para el desarrollo de este proyecto.

A los miembros del jurado Dr. Enrique Cesar Valdez y M. C Rolando Salvador García Gómez por aceptar ser parte de este proyecto y aportar su valioso conocimiento.

Al doctor Luiz Antonio Daniel de la Universidad de São Paulo por su inestimable colaboración en el desarrollo de este proyecto. Por su paciencia, empatía y la oportunidad de realizar mi estancia académica en el país de mis sueños.

Al la Universidad Nacional Autónoma de México por permitirme formarme como maestra, por su calidad educativa, por ser mi segunda casa y por todos los momentos que viví en sus hermosas instalaciones.

Al consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo económico otorgado para la realización de este proyecto.

A la Dirección General de Asuntos de Personal Académico (DGAPA) por los recursos otorgados para el proyecto IN202622.

Al programa de Apoyo a Estudios de Posgrado (PAEP) por la beca otorgada para realizar mi estancia académica en el extranjero.

A la Unidad de Servicios de Apoyo a la investigación y a la industria (USAI) por la caracterización de los nanomateriales empleados en este trabajo.

A mis compañeros de los laboratorios 215 y 221 del edificio F de la Facultad de Química; en especial a Jessica Muro por ser mi compañera y amiga dentro y fuera del laboratorio, por su bonita forma de ser y hacer los días difíciles más llevaderos, a Alan Santiago por sincera amistad, ser siempre tan atento y un ejemplo de nobleza, a Sofia Quintana por siempre escucharme y ser mi compañera de natación, a Daniel Tecuapa por tanta paciencia y apoyarme en mi proyecto, a Axel Macias por su sinceridad y siempre estar dispuesto ayudar, a Cristian Palacios por contar malos chistes y su apoyo dentro del laboratorio.

A todos mis profesores y compañeros de la maestría por la formación académica brindada y por todos los momentos vividos en este camino.

ÍNDICE DE CONTENIDO

1	INTRODUCCIÓN	3
2	MARCO TEÓRICO	6
2.1	Contaminación del agua	6
2.2	Distribución del agua	10
2.3	Contaminación del agua con microorganismos patógenos	12
2.4	Bacterias patógenas	14
2.4.1	Bacterias de interés.....	17
2.5	Tratamientos convencionales para la remoción de microorganismos patógenos en el agua	20
2.5.1	Tratamiento de agua residual	23
2.5.2	Tratamientos biológicos	25
2.5.3	Tratamiento de agua potable	26
2.6	Nanotecnología y nanomateriales	28
2.6.1	Nanopartículas metálicas.....	30
2.7	Tratamiento de agua por medio de nanotecnología.....	31
2.8	Procesos avanzados de oxidación.....	33
2.8.1	Fotocatálisis.....	34
2.8.2	Fotocatálisis heterogénea	34
2.8.3	Banda prohibida	35
2.9	Espectroscopía de impedancia electroquímica (EIS)	36
2.10	Selección de nanomateriales con propiedades antibacterianas	38
2.10.1	Óxido de Zinc.....	39
2.10.2	Óxido de cobre	41
2.10.3	Óxido de níquel	43
2.10.4	Nanopartículas de plata	45
2.11	Especies reactivas de oxígeno	47
2.12	Técnicas de caracterización.....	48
2.12.1	Difracción de rayos X (XRD)	48
2.12.2	Microscopía electrónica de barrido (SEM)	49
2.12.3	Espectroscopía por Dispersión de Energía de Rayos X (EDS)	50
2.12.4	Microscopía electrónica de transmisión (TEM)	51
2.13	Estudios antibacterianos.....	52

2.13.1	Método del antibiograma disco-placa	52
2.13.2	Concentración mínima inhibitoria.....	54
2.13.3	Densidad óptica: Ley de Beer-Lambert.....	55
3	JUSTIFICACIÓN.....	57
3.1	OBJETIVOS	59
3.2	HIPOTESIS	59
4	METODOLOGÍA	60
4.1	Síntesis de nanopartículas de óxido de zinc	60
4.2	Síntesis nanopartículas de óxido de cobre.....	61
4.3	Preparación nanopartículas de óxido de níquel.....	62
4.4	Preparación nanopartículas de plata	63
4.5	Caracterización.....	64
4.6	Propiedades eléctricas de los nanomateriales.....	65
4.7	Estudios microbiológicos	66
4.8	Elaboración de un filtro con las nanopartículas metálicas	68
4.9	Diseño de experimentos para la optimización de variables de un filtro con nanopartículas metálicas.....	70
5	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	72
5.1	Síntesis de nanopartículas	72
5.2	Técnicas de caracterización.....	72
5.2.1	Difracción de rayos X (XRD)	72
5.2.2	Microscopía electrónica de barrido (SEM)	77
5.2.3	Espectroscopía por Dispersión de Energía de Rayos X (EDS)	78
5.2.4	Microscopía electrónica de transmisión (TEM).....	79
5.2.5	Distancia interplanar	81
5.2.6	Propiedades eléctricas de los nanomateriales.....	84
5.3	Estudios antibacterianos.....	90
5.3.1	Método del antibiograma disco-placa	90
5.3.2	Concentración mínima inhibitoria.....	92
5.3.3	Densidad óptica	96
5.4	Elaboración de un filtro con las nanopartículas metálicas	99
5.4.1	Flujo laminar	100
5.4.2	Flujo turbulento	101

5.4.3	Diseño de experimentos para la optimización de variables de un filtro con nanopartículas metálicas	102
5.4.4	Análisis estadístico del diseño experimental.....	104
6	CONCLUSIONES	109
7	PERSPECTIVAS	110
	REFERENCIAS.....	111

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 2.1. Promedios mensuales permisibles en descargas de aguas residuales en cuerpos receptores propiedad de la nación	8
Tabla 2.2. Límites máximos permisibles de contaminantes en descargas de aguas residuales a los sistemas de alcantarillado.....	8
Tabla 2.3. Límites máximos permisibles de contaminantes en aguas residuales tratadas que se reúsen en servicios al público	9
Tabla 2.4. Límites permisibles en la calidad y tratamientos para agua potable	10
Tabla 2.5. Distribución de agua en la Tierra	11
Tabla 2.6. Países con mayores y menores fuentes renovables de agua dulce	12
Tabla 2.7. Agentes patógenos de interés transmitidos a través del agua	13
Tabla 2.8. Clasificación general de los microorganismos con base en sus fuentes de carbono y energía	16
Tabla 2.9. Tratamientos convencionales para la remoción de microorganismos	20
Tabla 2.10. Procesos unitarios para la eliminación de contaminantes en agua potable	26
Tabla 2.11. Principales parámetros de clasificación según el tipo de agua.....	27
Tabla 2.12. Procesos unitarios según el grado de tratamiento para el suministro de agua potable ..	27
Tabla 2.13. Morfologías convencionales para diversas nanopartículas metálicas	31
Tabla 2.14. Nanomateriales y nanopartículas empleadas para el tratamiento de agua	32
Tabla 2.15. Clasificación de los procesos avanzados de oxidación	33
Tabla 2.16. Comparación de actividad antibacteriana de NPs de ZnO a partir de varios agentes ...	40
Tabla 2.17. Comparación de actividad antibacteriana de NPs de CuO a partir de varios agentes ...	42
Tabla 2.18. Comparación de actividad antibacteriana de NPs de NiO a partir de varios agentes....	44
Tabla 2.19. Comparación de actividad antibacteriana de NPs de Ag a partir de varios agentes.....	46
Tabla 2.20. Principales especies reactivas del oxígeno.....	47
Tabla 4.1. Dopaje de NPs con plata	63
Tabla 4.2. Dimensiones del filtro y lecho empleando nanopartículas.....	69
Tabla 4.3. Factores experimentales para el diseño del filtro	70
Tabla 4.4. Combinaciones experimentales del diseño factorial 2^3	71
Tabla 5.1. Picos de difracción en 2θ y diferencia con el JCPDS estándar 36-1451	73
Tabla 5.2. Picos de difracción en 2θ para Ag en óxido de zinc y diferencia con el JCPDS 04-078374	
Tabla 5.3. Picos de difracción en 2θ y diferencia con el JCPDS 48-1548.....	75
Tabla 5.4. Picos de difracción en 2θ para Ag en óxido de cobre y diferencia con el JCPDS 04-0783	76
Tabla 5.5. Picos de difracción en 2θ y diferencia con el JCPDS 04-0783.....	77
Tabla 5.6. Picos de difracción en 2θ para Ag en óxido de níquel y diferencia con el JCPDS 04-0783	77
Tabla 5.7. Resultados EDS nanopartículas de óxido de zinc, cobre y níquel.	78
Tabla 5.8. Distancia interplanar de nanomateriales de óxido de zinc, óxido de cobre y óxido de níquel.	83
Tabla 5.9. Resumen de banda prohibida de las NPs de óxido de zinc, óxido de cobre y óxido de níquel	84

Tabla 5.10. Valores de la banda prohibida mediante la relación de T_{auc} comparado con el valor de referencia.....	87
Tabla 5.11. Datos electroquímicos para nanopartículas de óxido de zinc, óxido de cobre y óxido de níquel.....	88
Tabla 5.12. Zona de inhibición nanopartículas de óxido de zinc, óxido de cobre y óxido de níquel.....	90
Tabla 5.13. MIC de NPs óxido de zinc, óxido de cobre y óxido de níquel.....	92
Tabla 5.14. Parámetros hidráulicos con un flujo de 0.0002L/s.	101
Tabla 5.15. Parámetros hidráulicos con un flujo de 0.4 L/s.	102
Tabla 5.16. Variables aleatorias del diseño de experimentos: Factor A: Dopaje, Factor B: Bacteria y Factor C: Flujo.	102
Tabla 5.17. ANOVA para filtro con nanopartícula de óxido de zinc, óxido de cobre y óxido de níquel.	104

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1. Mecanismo fundamental de fotocatalisis heterogénea	4
Figura 2.1. Principales contaminantes del agua	7
Figura 2.2. Distribución de agua en la Tierra.....	11
Figura 2.3. Contaminación del agua por microorganismos patógenos	14
Figura 2.4. Estructura de las bacterias Gram positivas y Gram negativas	15
Figura 2.5. Clasificación de bacterias	16
Figura 2.6. Bacterias Gram positivas. <i>S. aureus</i> y <i>B. cereus</i>	18
Figura 2.7. Bacterias Gram negativas <i>E. coli</i> y <i>S. typhi</i>	20
Figura 2.8. Tratamiento convencional de aguas residuales.....	24
Figura 2.9. Tratamiento convencional de agua potable	28
Figura 2.10. Dimensiones de los nanomateriales.....	29
Figura 2.11. Escala nanométrica	30
Figura 2.12. Principio de la fotocatalisis.....	34
Figura 2.13. Mecanismo de fotocatalisis heterogénea	35
Figura 2.14. Representación de banda prohibida de materiales conductores, semiconductores y aislantes.....	36
Figura 2.15. Representación de diagrama de Nyquist.....	38
Figura 2.16. Estructuras cristalinas del óxido de zinc.....	40
Figura 2.17. Estructuras cristalinas óxido del cobre	41
Figura 2.18. Estructura cristalina del óxido de níquel.....	43
Figura 2.19. Dopaje de nanopartículas con plata	46
Figura 2.20. Liberación de ROS en bacterias.....	48
Figura 2.21. Representación Ley de Bragg.....	49
Figura 2.22. Esquema de microscopía electrónica de barrido.....	50
Figura 2.23. Esquema de generación de rayos X característicos al interactuar el haz de electrones con la muestra	51
Figura 2.24. Esquema de microscopía electrónica de transmisión.....	52
Figura 2.25. Método de antibiograma disco-placa.....	53
Figura 2.26. Esquema de la metodología para determinar la concentración mínima inhibitoria	55
Figura 2.27. Esquema de densidad óptica.....	56
Figura 3.1. Aplicaciones de los nanomateriales	57
Figura 3.2. Interacción de las NPs para inhibir el crecimiento bacteriano.....	58
Figura 4.1. Diagrama de metodología experimental desarrollada en el proyecto	60
Figura 4.2. Esquema síntesis de nanopartículas de óxido de zinc.....	61
Figura 4.3. Esquema de síntesis de nanopartículas de óxido de cobre.....	62
Figura 4.4. Esquema de síntesis nanopartículas de óxido de níquel	63
Figura 4.5. Esquema síntesis nanopartículas de plata por reducción	64
Figura 4.6. Diagrama para determinar la zona de inhibición	67
Figura 4.7. Diagrama para determinar la concentración mínima inhibitoria	67
Figura 4.8. Diagrama para determinar la densidad óptica.....	68
Figura 4.9. Esquema para la elaboración de un filtro con nanomateriales.....	69
Figura 4.10. Representación gráfica del diseño factorial 2^3	71

Figura 5.1. Difracción de rayos X. NPs de óxido de zinc y óxido de zinc dopado con plata	73
Figura 5.2. Difracción de rayos X NPs de óxido de cobre y óxido de cobre dopado con plata	75
Figura 5.3. Difracción de rayos X NPs de óxido de níquel y óxido de níquel dopado con plata.....	76
Figura 5.4. SEM a 20kV (a) ZnOAg1.5% a X7,000 (b) CuOAg1% a X3,000 (c) NiOAg2% a X10,000.....	78
Figura 5.5. Análisis (EDS): (a) ZnOAg1%, (b) CuOAg2.5%, (c) NiOAg1.5%.	79
Figura 5.6. TEM: (a) ZnO (b) CuO (c) NiOAg1%	80
Figura 5.7. Histogramas de tamaño de partículas:(a) óxido de Zinc, (b) óxido de cobre, (c) óxido de níquel.....	81
Figura 5.8. HRTEM: (a) óxido de zinc, (b) óxido de cobre, (c) óxido de níquel	82
Figura 5.9. Banda gap para nanopartículas de óxido de zinc y óxido de zinc dopadas con plata....	85
Figura 5.10. Banda gap para nanopartículas de óxido de cobre y óxido de cobre dopadas con plata	86
Figura 5.11. Banda gap para nanopartículas de óxido de níquel y óxido de níquel dopadas con plata	87
Figura 5.12. Resultados de impedancia: (a) óxido de zinc, (b) óxido de cobre, (c) óxido de níquel	90
Figura 5.13. Concentración mínima inhibitoria: (a) óxido de zinc, (b) óxido de cobre, (c) óxido de níquel.....	95
Figura 5.14. Densidad óptica: (a) Gram positivas <i>B. cereus</i> y <i>S. aureus</i> (b) Gram negativas <i>E. coli</i> y <i>S. typhi</i>	96
Figura 5.15. Porcentaje de inhibición: (a) Gram positivas <i>B. cereus</i> y <i>S. aureus</i> (b) Gram negativas <i>E. coli</i> y <i>S. typhi</i>	98
Figura 5.16. Filtro con nanopartículas empleado para la remoción de microorganismo	100
Figura 5.17. Diagrama de Pareto: (a) óxido de zinc, (b) óxido de cobre y (c) óxido de níquel	106
Figura 5.18. Gráfica de efectos principales para la remoción: (a) óxido de zinc, (b) óxido de cobre y (c) óxido de níquel	107
Figura 5.19. Cubo diseño experimental: óxido de zinc: (a) óxido de zinc, (b) óxido de cobre y (c) óxido de níquel	108

RESUMEN

La calidad del agua se ve afectada por la contaminación con microorganismos patógenos que ocasionan graves enfermedades en los seres humanos; especialmente de tipo gastrointestinal. La eliminación de estos agentes se pueden llevar a cabo mediante diferentes procesos de tratamiento biológico o de desinfección con ozono, cloro o radiación de luz ultravioleta. Sin embargo, debido a los mecanismos de defensa desarrollados por los microorganismos y la aparición de nuevas cepas la resistencia bacteriana ha ido incrementando con el paso del tiempo y los sistemas de tratamiento convencionales no logran ser efectivos para la eliminación de estos agentes patógenos; por tal motivo, para poder distribuir un agua de calidad, se han desarrollado nuevas técnicas con el fin de degradar o desinfectar los componentes antibacterianos presentes en el recurso hídrico. Algunos de los microorganismos patógenos presentes en los sistemas de agua son las bacterias Gram positivas (*B. cereus* y *S. Aureus*) y Gram negativas (*E. coli* y *S. typhi*) las cuales generan afectaciones a la salud como diarrea aguda, infecciones urinarias y enfermedades respiratorias entre otras. Por esta razón, la inhibición bacteriana por nanopartículas ha sido un tema de estudio debido a las propiedades físicas, químicas y catalíticas de los nanomateriales, se ha reportado que los elementos metálicos como el cobre, zinc y plata presentan propiedades antibacterianas por lo que la síntesis de estos ha sido un foco de atención; en cuanto al níquel se conoce que posee propiedades antibacterianas aunque no se encuentran muchos reportes sobre este lo cual será un aspecto innovador de este proyecto. Con base en esta información, el presente trabajo se enfoca principalmente en la inhibición de bacterias Gram positivas (*B. cereus* y *S. Aureus*) y negativas (*E. coli* y *S. typhi*) presentes en el agua, mediante nanopartículas de óxido de zinc, óxido de cobre y óxido de níquel dopados con plata (1-5% w/w); cada uno de estos nanomateriales fue caracterizado mediante diferentes técnicas analíticas (XRD, SEM, EDS, TEM y HRTEM) para obtener conocimiento sobre la morfología, estructura cristalina, composición elemental y diámetro de partícula de los nanomateriales elaborados. Una vez obtenidos los nanomateriales se evaluó su inhibición bacteriana mediante la activación con luz UV, los cuales al estar en contacto con la radiación UV generan especies reactivas de oxígeno y otras especies oxidativas que afectan el crecimiento de las bacterias. Mediante la técnica de densidad óptica en un periodo de 12 horas se evidencio una inhibición de las bacterias Gram (+) entre el 40.72-100% y las bacterias Gram (-) entre 22.28-100%. De igual manera, se desarrolló un sistema de filtración a nivel de laboratorio utilizando los nanomateriales que mostraron una mayor eficiencia, específicamente aquellos dopados con un (2.5-5%) de plata. Este sistema fue sometido a una evaluación a través de un diseño experimental 2³, a condiciones de flujo laminar y turbulento. Los resultados de este estudio indicaron que a un flujo menor y un mayor porcentaje de plata en los nanomateriales de CuO y ZnO condujeron a una inhibición más efectiva del crecimiento bacteriano.

ABSTRACT

Water quality is affected by contamination with pathogenic microorganisms that cause serious illnesses in humans, especially of gastrointestinal nature. The removal of these agents can be carried out through different biological treatment or disinfection processes using ozone, chlorine, or ultraviolet light radiation. However, due to the defense mechanisms developed by microorganisms and the emergence of new strains, bacterial resistance has been increasing over time, and conventional treatment systems fail to be effective in eliminating these pathogens. Therefore, in order to distribute quality water, new techniques have been developed to degrade or disinfect antibacterial components present in the water resource. Some of the pathogenic microorganisms present in water systems are Gram-positive bacteria (*B. cereus* and *S. aureus*) and Gram-negative bacteria (*E. coli* and *S. typhi*), which can lead to health issues such as acute diarrhea, urinary tract infections, and respiratory diseases, among others. For this reason, bacterial inhibition by nanoparticles has been a subject of study due to the physical, chemical, and catalytic properties of nanomaterials. It has been reported that metallic elements such as copper, zinc, and silver exhibit antibacterial properties, so their synthesis has been a focus of attention. Regarding nickel, it is known to possess antibacterial properties, although there are not many reports on it, making it an innovative aspect of this project. Based on this information, the present work primarily focuses on the inhibition of Gram-positive (*B. cereus* and *S. aureus*) and Gram-negative (*E. coli* and *S. typhi*) bacteria present in water using nanoparticles of zinc oxide, copper oxide, and silver-doped nickel oxide (1-5% w/w). Each of these nanomaterials was characterized using various analytical techniques (XRD, SEM, EDS, TEM, and HRTEM) to obtain knowledge about the morphology, crystalline structure, elemental composition, and particle diameter of the fabricated nanomaterials. Once the nanomaterials were obtained, their bacterial inhibition was evaluated through UV light activation. When in contact with UV radiation, they generate reactive oxygen species and other oxidative species that affect bacterial growth. Using the optical density technique over a period of 12 hours, bacterial inhibition was observed to be between 40.72-100% for Gram (+) bacteria and between 22.28-100% for Gram (-) bacteria, depending on the nanomaterial. Likewise, a laboratory-level filtration system was developed using the nanomaterials that showed the highest efficiency, specifically those doped with (2.5-5%) silver. This system was subjected to an evaluation through a 23 experimental design under laminar and turbulent flow conditions. The results of this study indicated that lower flow rates and a higher percentage of silver in the CuO and ZnO nanomaterials led to more effective inhibition of bacterial growth.

1 INTRODUCCIÓN

El incremento de la contaminación ambiental en nuestra sociedad es un problema sanitario creciente; los agentes patógenos implicados en la transmisión hídrica de enfermedades son las bacterias, virus, protozoos, helmintos y cianobacterias[1]. Estos microorganismos son los causantes de: diarrea, disentería, hepatitis, fiebre tifoidea o gastroenteritis. La transmisión de agentes patógenos mediante el agua no es la única vía, ya que también pueden ser transmitidos por medio de alimentos, de persona a persona debido a los malos hábitos de higiene, y también de animales al hombre por diversas rutas.[2] El cambio ambiental y la dinámica poblacional están contribuyendo al aumento de este tipo de microorganismos. además a esto se suma la resistencia de los agentes microbianos a las tecnologías empleadas hoy en día lo que incrementa los niveles de mortalidad y los costos sanitarios.[3, 4] Por tal motivo la comunidad científica se encuentra en una constante búsqueda y desarrollo de materiales con propiedades antibacterianas. En este ámbito están los nanomateriales los cuales tienen un tamaño entre 1-100 nm lo que les permite interactuar con células bacterianas a nivel molecular demostrando ser útiles para inhibir el crecimiento bacteriano. Los nanomateriales ofrecen un gran potencial en la adsorción y degradación de contaminantes ambientales debido a sus propiedades catalíticas y fotocatalíticas. Las nanopartículas (NPs) tienen propiedades electrónicas, magnéticas y ópticas excepcionales debido al efecto de tamaño cuántico.[5]

Se han identificado varios óxidos metálicos con propiedades antimicrobianas como son el ZnO, el Al₂O₃, el CuO, el SiO₂ y el TiO₂; en particular, el óxido de zinc es considerado como el agente antibacteriano más tóxico entre los óxidos metálicos contra *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas fluorescens*, y podría ser un agente antibacteriano eficaz para proteger los productos agrícolas y los alimentos contra patógenos.[6] Ya que es un material semiconductor con potencial para la conversión de energía solar, luminiscencia, recubrimientos disipadores electrostáticos, películas transparentes de protección UV, sensores químicos y dispositivos espintrónicos.[7] Las nanopartículas de óxido de zinc (ZnO), junto con las de óxido de cobre (CuO) exhiben propiedades antimicrobianas empleadas en medicina, como bloqueadores solares, como recubrimientos de piel y como agentes antimicrobianos y antifúngicos.[8] Lo anterior es gracias a la capacidad que tienen de liberar radicales libres y generar daño en las células bacterianas. Las propiedades antibacterianas de las nanopartículas de óxido de cobre se ha atribuido a la capacidad de producir especies reactivas de oxígeno ante la presencia de agua.[9] Lo cual hace que estas nanopartículas sean atractivas para aplicaciones biomédicas. De igual forma, se pueden realizar cambios radicales en las propiedades ópticas, eléctricas y biológicas de las nanopartículas de CuO alterando su estructura haciendo uso de metales de transición como Ag, Ti, Fe, Cd, Zn, y Mn como dopantes. El óxido de cobre dopado con níquel en varios estudios ha demostrado una mayor toxicidad contra *Staphylococcus aureus*,

Escherichia coli, *Streptococcus pneumoniae* y *Klebsiella pneumoniae*. [10] En cuanto a las nanopartículas de óxido de níquel (NiO), se sabe que son utilizadas para la elaboración de baterías, sensores de gas, capacitores electroquímicos y en la catálisis. Sin embargo, no existe mucha información sobre su actividad antimicrobiana, pero teniendo en las propiedades físicas y químicas de las nanopartículas de óxidos metálicos permiten su interacción con otros sistemas biológicos, lo cual ha tomado una gran importancia debido a la creciente resistencia de bacterias ya que los nanomateriales tienen diversas propiedades como su tamaño, forma, rugosidad y potencial zeta. En donde la actividad antimicrobiana que presenta la nanoestructura de estos óxidos podría tener una aplicación a nivel terapéutico, alimentación, en la industria textil, y en la purificación del agua, entre otras. [11]

El dopaje de nanomateriales hace referencia al proceso de agregar “impurezas” controladas a un material con el objetivo de modificar las propiedades eléctricas, magnéticas, ópticas o mecánicas y poderlo adaptar a un uso específico. El estudio de estructuras que cuentan con la presencia de plata se han incrementado en las últimas décadas gracias a la preparación de nanopartículas, las cuales tienen diversas propiedades de interés, como lo son su capacidad bactericida. Por lo anterior se ha buscado contar con materiales que puedan contener plata en forma metálica o en forma iónica y que sus propiedades les permitan actuar en contra de diversos microorganismos causantes de enfermedades, como son las bacterias. [12] En la actualidad, la contaminación bacteriana del agua es un problema crítico que requiere soluciones innovadoras para garantizar la seguridad y la salud de las personas. La utilización de nanopartículas dopadas con plata ha demostrado ser una estrategia eficaz para inhibir el crecimiento bacteriano. En este sentido, se llevó a cabo la síntesis de nanopartículas de óxido de zinc, óxido de cobre y óxido de níquel dopadas con plata con el objetivo de investigar la capacidad que tienen de inhibir el crecimiento bacteriano en agua.

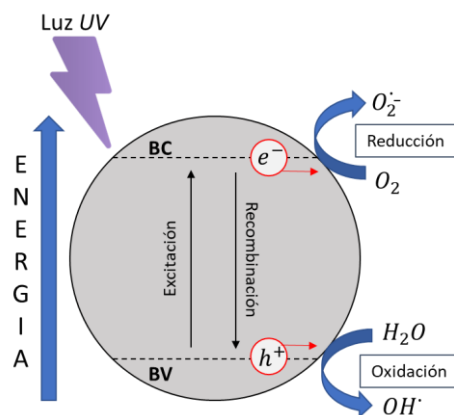


Figura 1.1. Mecanismo fundamental de fotocatalisis heterogénea

Estas nanopartículas se caracterizan por contar con una alta capacidad para generar especies reactivas de oxígeno (ROS) cuando se encuentran expuestas a luz UV; llegando a ser altamente oxidantes y causando daño celular en la membrana de las bacterias.[13] Para esto se llevarán a cabo pruebas de actividad antibacteriana utilizando diferentes cepas de bacterias para evaluar la eficacia de las nanopartículas en la inactivación e inhibición del crecimiento bacteriano en agua (Figura 1.1).

En el contexto actual, donde la contaminación bacteriana del agua representa un desafío crítico para la salud pública, la utilización de nanopartículas dopadas con plata ha emergido como una estrategia altamente efectiva para combatir el crecimiento bacteriano. Este estudio se centra en la síntesis y caracterización de nanopartículas de óxido de zinc, óxido de cobre y óxido de níquel dopadas con plata, con el propósito de investigar su capacidad para inhibir el crecimiento bacteriano en el agua. Estas nanopartículas tienen el potencial de marcar un cambio en la desinfección y en la prevención de enfermedades transmitidas por el agua, y su eficacia será evaluada mediante pruebas antibacterianas para bacterias Gram positivas (*B. cereus* y *S. Aureus*) y Gram negativas (*E. coli* y *S. typhi*). Los resultados de esta investigación podrían tener un impacto significativo en la búsqueda de soluciones innovadoras para abordar la creciente amenaza de la contaminación bacteriana en el suministro de agua, contribuyendo a salvaguardar la salud y el bienestar de las comunidades en todo el mundo.

2 MARCO TEÓRICO

2.1 Contaminación del agua

El agua es el recurso más abundante en la Tierra y es la fuente esencial de toda vida; su distribución es muy variable en algunas regiones es muy abundante, mientras que en otras escasea. Se estima que el planeta Tierra está constituido por 70% de agua en donde 97.6% pertenece a agua salada concentrada principalmente en océanos, mientras que el 2.4% restante corresponde a agua dulce y aproximadamente dos terceras partes de ésta se encuentra inmobilizada en glaciares y al abrigo de nieves perpetuas, por otro lado, el 30% del agua dulce mundial se encuentra en acuíferos y sólo un 1% de ésta escurre por cuencas hidrográficas en forma de arroyos, ríos, lagos, lagunas o cuerpos superficiales; en donde solamente el 0.78% es accesible para el ser humano.[14]

La contaminación hídrica se define como la alteración de un cuerpo de agua por la presencia de componentes químicos, físicos y biológicos los cuales generan un deterioro con respecto a algún benéfico de uso.[15] Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) el agua está contaminada cuando su composición o estado natural haya sido modificada, de modo que no reúna las condiciones necesarias para el uso, al que se le hubiera destinado en un estado natural; en donde el nivel de contaminación dependerá de la concentración de los contaminantes generando alteraciones físicas (color, temperatura, densidad, radiactividad etc.), químicas (sustancias disueltas, composición, etc.) o biológicas que afectan las funciones ecológicas. Durante los últimos años el agua dulce ha sido afectado por la contaminación, debido a que aproximadamente dos millones de toneladas de desechos son arrojados diariamente a las corrientes hídricas; las fuentes de contaminación pueden ser puntuales, es decir, se descargan agentes contaminantes en lugares específicos o pueden ser fuentes difusas en donde no se puede localizar fácilmente, es decir, son fuentes móviles y afectan a las masas de agua como escorrentías de zonas agrícolas que drenan hacia los ríos, lo cual genera que sean más difíciles de controlar.[16]

Los agentes que contaminan el recurso hídrico son muy variados y se pueden clasificar en los siguientes grupos.[17]

- **Microrganismos patógenos:** Es la presencia de diferentes tipos de bacterias, virus, parásitos, protozoos y otro tipo de microorganismos proveniente de desechos orgánicos que entran en contacto con el agua [18] y pueden transmitir enfermedades como cólera, tifus, hepatitis, etc.
- **Residuos orgánicos:** Son todos aquellos residuos orgánicos producidos por los seres vivos que requieren la presencia de oxígeno, algunos de estos pueden ser descompuestos por bacterias aerobias para biodegradarlos. Sin embargo, cuando existen grandes poblaciones de

estas bacterias pueden llegar a agotar el oxígeno presente en el agua afectando la vida acuática.[19]

- **Sustancias químicas inorgánicas:** Dentro de este grupo se encuentran los ácidos, las sales y los compuestos de metales tóxicos como el mercurio y el plomo que en altas cantidades producen graves daños a los seres vivos, disminuyen los rendimientos agrícolas, corroen equipos y envenenan el agua.[20]
- **Nutrientes vegetales inorgánicos:** Los nitratos y fosfatos son sustancias solubles en agua y ayudan al crecimiento de las plantas, pero si se encuentran en cantidades excesivas pueden ocasionar el crecimiento desmesurado de algas y de otros organismos y cuando éstas mueren, se descomponen agotando el oxígeno del agua provocando la muerte de varias especies marinas y provocando su eutrofización.[21]
- **Sedimentos y materiales en suspensión:** Varias partículas son desprendidas del suelo y arrastradas al agua, con otros materiales en suspensión generando turbidez, lo que dificulta la vida de algunos organismos, además la acumulación de estos destruye sitios de alimentación o desove de peces, rellena lagos o pantanos.[22]
- **Compuestos orgánicos:** El petróleo, los plásticos, plaguicidas, los detergentes, y los disolventes entre otras moléculas orgánicas terminan en el agua y permanecen por largos periodos ya que poseen estructuras complejas y difíciles de degradar por microorganismos.[23]
- **Sustancias radioactivas:** Algunos isótopos radiactivos solubles pueden estar en el agua y en ocasiones se van acumulando hasta generar cadenas tróficas y alcanzar concentraciones considerables afectando el recurso hídrico.[24]
- **Contaminación térmica:** El aumento de la temperatura disminuye la cantidad de oxígeno en el agua, vulnerando la supervivencia de los organismos acuáticos, generalmente esto es causado por las centrales de energía o procesos industriales.[25]

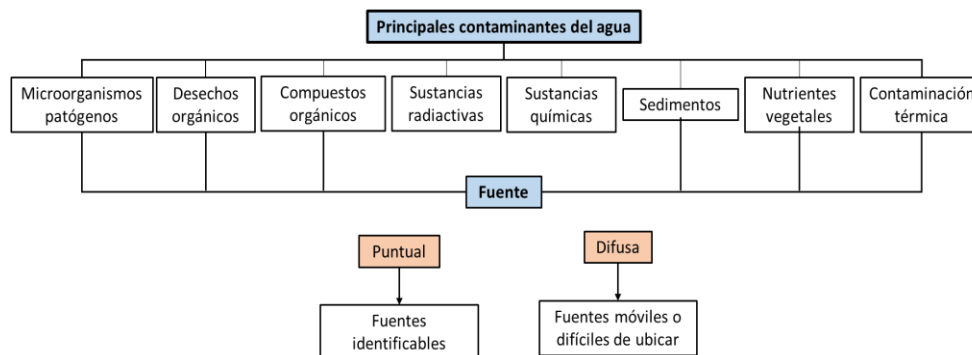


Figura 2.1. Principales contaminantes del agua

En México existen normativas para mitigar la contaminación del recurso hídrico, La NOM-001-SEMARNAT-2021, establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de agua residual en agua y bienes nacionales. Los promedios mensuales se encuentran en la Tabla 2.1 aclarando que esta norma no aplica para las descargas de drenajes para agua pluvial ni a las descargas que se viertan directamente a sistemas de drenaje y alcantarillado municipales.

Tabla 2.1. Promedios mensuales permisibles en descargas de aguas residuales en cuerpos receptores propiedad de la nación [26]

NOM-001-SEMARNAT-2021			
Parámetro (mg/L)	Ríos, arroyos, canales, drenes	Embalses, lagos y lagunas	Zonas marinas mexicanas
Temperatura (°C)	35	35	35
Grasas y aceites	15	15	15
Sólidos suspendidos totales	60	20	20
Demanda Química de oxígeno	150	100	85
Carbono orgánico total	38	25	21
Nitrógeno total	25	15	25
Fósforo total	15	5	15
Huevos de Helmintos (Huevo/L)		NA	
<i>Escherichia coli</i>, (NMP/100 mL)	250	250	250
Enterococos fecales	250	250	250
pH		6-9	

La NOM-002-SEMARNAT-1996, establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de agua residual a los sistemas de alcantarillado urbano o municipal. Esta norma aplica para usos municipales, industriales, comerciales, agrícolas, pecuarios, domésticos y de servicios, incluyendo fraccionamientos y mezclas entre ellas, tal como se muestra en la Tabla 2.2.

Tabla 2.2. Límites máximos permisibles de contaminantes en descargas de aguas residuales a los sistemas de alcantarillado[26]

NOM-002-SEMARNAT-1996			
------------------------------	--	--	--

Parámetro (mg/L)	Promedio mensual	Promedio diario	Instantáneo
Grasas y aceites	50	75	100
Sólidos sedimentables (mL/L)	5	7.5	10
Arsénico total	0.5	0.75	1
Cadmio total	0.5	0.75	1
Cianuro total	1	1.5	2
Cobre total	10	15	20
Cromo hexavalente	0.5	0.75	1
Mercurio total	0.01	0.015	0.02
Níquel total	4	6	8
Plomo total	1	1.5	2
Zinc total	6	9	12

Para el agua residual tratada que se reúsa en servicios públicos aplica la norma NOM-003-SEMARNAT-1997, que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en promedio mensual como se muestra en la Tabla 2.3, la cual tiene como objetivo proteger el medio ambiente y la salud de la población y es obligatoria para cualquier entidad pública responsable de su tratamiento y reúso.

Tabla 2.3. Límites máximos permisibles de contaminantes en aguas residuales tratadas que se reúsen en servicios al público [27]

NOM-003-SEMARNAT-1997			
Parámetro	Servicios al público con	Servicios al público con contacto	
	contacto directo	indirecto u ocasional	
Coliformes fecales (NMP/100mL)	240	1000	
Huevos de helmintos (Huevos/litro)	≥ 1	≤ 5	
Grasas y aceites (mg/L)	15	15	
DBO₅	20	30	
SST (mg/L)	20	30	

En cuanto al agua para consumo humano, se encuentra la NOM-127-SSA1-2021, agua para uso y consumo humano en donde se establecen los límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización, que deben cumplir los sistemas de abastecimiento públicos y privados o cualquier persona física o moral encargada de la distribución en todo el territorio mexicano (Tabla 2.4).

Tabla 2.4. Límites permisibles en la calidad y tratamientos para agua potable [28]

NOM-127-SSA1-2021	
Característica	Límite permisible
Organismos coliformes totales	2 NMP/100 mL
Organismos coliformes fecales	No detectable NMP/100 mL Cero UFC/100 mL
Color	20 unidades de color verdadero en la escala de platino-cobalto
Olor y sabor	Agradable (se aceptarán aquellos que sean tolerables para la mayoría de los consumidores, siempre que no sean resultados de condiciones objetables desde el punto de vista biológico o químico)
Turbiedad	5 UTN o su equivalente en el método
Radiactividad alfa global	0.1
Radiactividad beta global	1.0

2.2 Distribución del agua

La hidrosfera es considerada uno de los cuatro componentes o subsistemas del planeta tierra y comprende toda el agua contenida dentro de él, además de sus diferentes estados (sólido, líquido y gaseoso) teniendo en cuenta sus diversas fuentes superficiales y subterráneas.[29] El agua no permanece de manera estacionaria sobre la Tierra ya que está en constante circulación en los océanos, litósfera, biósfera y atmósfera; este flujo se produce principalmente por la energía solar y la gravedad. La mayor cantidad de agua dentro de la Tierra se encuentra presente en las aguas marinas con un 97%, siendo la reserva más importante de agua salada, mientras que la mayor concentración de agua dulce se encuentra en los casquetes polares en forma de hielo y lejos de lugares poblados (Figura 2.2).[30]

Tabla 2.5. Distribución de agua en la Tierra

	Distribución de agua en la Tierra		
	Volumen (km ³ x10 ⁶)	Porcentaje (%)	Altura equivalente (m)
Océanos y mares	1.350	97.6	2.650
Hielos glaciares	26	1.9	50
Subterránea	7	0.5	14
Superficial	0.3	0.02	0.6
Suelo	0.2	0.01	0.4
Atmosférica	0.02	0.001	0.04

La renovación natural del recurso hídrico se lleva a cabo mediante el ciclo hidrológico, se estima que mediante la precipitación cae 28% de agua en la Tierra y 72% en el mar, Del agua que cae en la Tierra aproximadamente 7% se percola a los acuíferos, 8% se va al mar por escurrimientos y el 13% restante regresa a la atmósfera por evaporación y evapotranspiración. Es decir que el 7% de agua lluvia se recupera en los diversos cuerpos de agua para su posible empleo como agua dulce y el otro 93% se pierde por medio físicos o biológicos .[31] Del total de agua dulce el 68.9% se encuentra en hielos y glaciares; el otro 29.9% se encuentra en aguas subterráneas y en acuíferos, el 0.3 en lagos y reservorios hidrográficos y el restante en otros reservorios.[32]

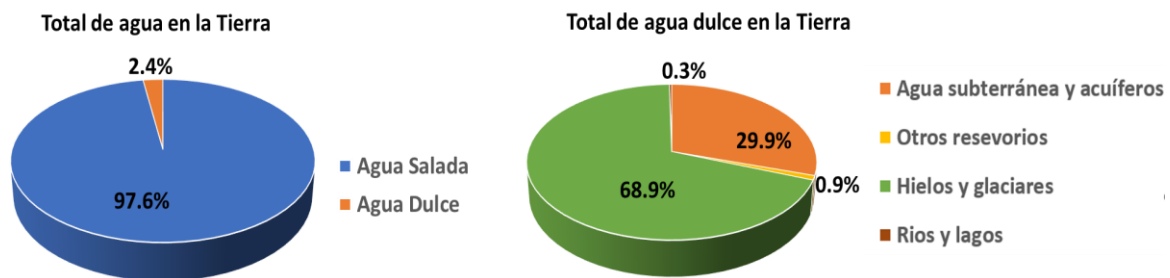


Figura 2.2. Distribución de agua en la Tierra

Según World Water Assessment Programme (WWAP) la precipitación dentro de la superficie terrestre se da de manera irregular ya que existe una considerable variación entre los climas áridos y húmedos; estaciones secas y lluviosas dando como resultados que la distribución de las fuentes renovables de agua dulce ocurre de forma irregular en diferentes países y regiones.[33] El sistema global de informaciones sobre agua define que una fuente es no renovable cuando no cumplen con

una tasa significativa de recarga. El total de las fuentes de agua dulce renovales (TRWR, por sus siglas en inglés) de un país es la suma de las fuentes internas renovales de agua dulce (IRWR) con las fuentes externas renovables de agua dulce (ERWR) dando como resultado el volumen anual máximo de agua dulce disponible para un país por un año. En la Tabla 2.6 se presentan los diez países con mayores y menores fuentes renovables de agua dulce.

Tabla 2.6. Países con mayores y menores fuentes renovables de agua dulce [33]

Fuentes renovables de agua dulce			
Mayores volúmenes (km³/año)		Menores volúmenes (km³/año)	
País	Total (TWRW)	País	Total (TWRW)
Brasil	8.647	Kuwait	0.02
Rusia	4.525	San Cristóbal y nieves	0.024
Estados Unidos	3.069	Maldivas	0.03
Canadá	2.902	Malta	0.0505
China	2.840	Antigua y Barbuda	0.052
Colombia	2.360	Qatar	0.058
Indonesia	2.019	Barbados	0.08
India	1.911	San Vicente y las granadinas	0.1
Perú	1.880	Bahréin	0.116
Venezuela	1.325	Emiratos árabes	0.15

2.3 Contaminación del agua con microorganismos patógenos

La contaminación del agua por microorganismos patógenos es un problema importante que afecta la salud humana, ya que pueden llegar a causar enfermedades en los seres vivos, debido a la presencia de bacterias, virus, parásitos y hongos.

El agua residual es la principal fuente de microorganismos patógenos que se transmiten a través del ambiente y llegan a la población especialmente a través de la contaminación del agua usada para beber, agua de riego, en la preparación de comida, para lavar o en diversos usos recreativos.[34] Los efectos de la contaminación del agua por la presencia de estos microorganismos pueden ser variados desde enfermedades gastrointestinales leves hasta enfermedades graves como lo son hepatitis, cólera, fiebre tifoidea. Los grupos más vulnerables son los niños, personas mayores y personas con sistemas inmunológicos debilitados. La Organización Mundial de la Salud reconoce que las posibles

consecuencias de la contaminación microbiana para la salud son de tal magnitud, que su control debe ser siempre un objetivo de importancia primordial y nunca debe comprometerse. Aunque con frecuencia la calidad microbiológica del agua puede presentar variaciones bruscas en un amplio rango de concentraciones; pueden existir aumentos repentinos en los niveles de agentes patógenos, lo cual, puede llegar a aumentar el riesgo de enfermedades y podría desencadenar brotes de enfermedades transmitidas por el agua. Generalmente cuando esto sucede, muchas personas se encuentran expuestas a la contaminación antes de que sea detectada. Por estos motivos, para garantizar la inocuidad microbiana del agua de consumo humano no puede confiarse únicamente en el análisis del producto final, incluso si se realizara con frecuencia.[35]

Por otro lado, los microorganismos patógenos que son transmitidos por el agua tienen ciertas características que los diferencian de otros contaminantes como lo son:[36]

- Algunos agentes patógenos pueden proliferar en el medio ambiente.
- Los agentes patógenos se encuentran en número discreto en el ambiente.
- Generalmente los microorganismos patógenos se agregan o se adhieren a los sólidos suspendidos en el agua y su concentración varía en el tiempo.
- Dependiendo de la dosis del agente patógeno será ocasionada la invasión y la virulencia.
- Si se establece la infección, los agentes patógenos se multiplican en su huésped.
- Cierta tipo de microorganismos del agua también se multiplican en los alimentos, las bebidas o los sistemas de agua caliente, lo que perpetúa o incluso aumenta la probabilidad de infección.

En la Tabla 2.7 se presentan algunos aspectos generales sobre los microorganismos patógenos de interés establecidos por la Organización Mundial de la Salud son los siguientes:

Tabla 2.7. Agentes patógenos de interés transmitidos a través del agua [37]

Agentes patógenos	Importancia para la salud	Persistencia en el suministro de agua	Resistencia al cloro	Infectividad relativa
<i>Escherichia coli</i>	Alta	Moderada	Baja	Baja
<i>Salmonella typhi</i>	Alta	Moderada	Baja	Baja
<i>Staphylococcus aureus</i>	Alta	Moderada	Moderada	Baja
<i>Bacillus cereus</i>	Alta	Moderada	Moderada	Baja

Para prevenir la contaminación del agua con microorganismos patógenos es importante tomar medidas de saneamiento básicas, como el tratamiento de agua residual antes de su descarga en cuerpos receptores y la implementación de prácticas agrícolas sostenibles; además de educar a la población

sobre los riesgos de la contaminación del agua e incentivar las prácticas de higiene como el lavado de manos y la preparación adecuada de alimentos.

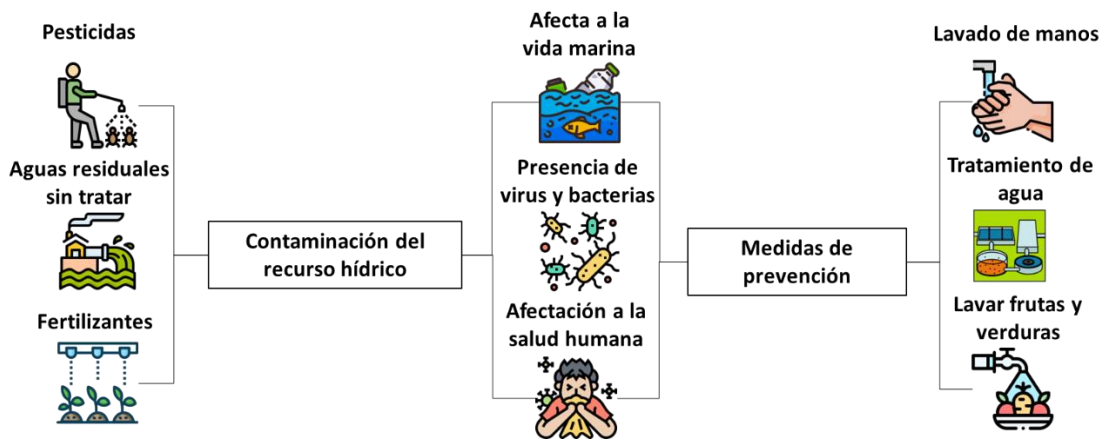


Figura 2.3. Contaminación del agua por microorganismos patógenos

2.4 Bacterias patógenas

Los seres vivos se clasifican en eucariotas y procariotas; en donde la primera de ellas tienen un modelo de organización mucho más complejo que las segundas, su tamaño es mucho mayor y en el citoplasma encontramos un conjunto de estructuras celulares que cumplen diversas funciones; este tipo de célula es característico de los animales, plantas y hongos.[38] En cuanto a las células procariotas son más simples y pequeñas, se encuentran delimitadas por una membrana plasmática y rodeada por una pared celular que brinda protección; en su interior está el citoplasma. En el centro es posible hallar una región más densa, llamada nucleóide, donde se encuentra el material genético, las bacterias y arqueas son organismos procariotes.

Los patógenos son agentes infecciosos que pueden provocar enfermedades a su huésped llegando a perturbar la fisiología normal de plantas, animales y seres humanos. Dentro de ellos encontramos cinco microorganismos principales que causan enfermedades: Bacterias, virus, hongos, protozoos y priones.[39]

Las bacterias son organismos microscópicos unicelulares. Se encuentran entre las formas de vida más antiguas conocidas en el planeta. Hay miles de tipos de bacterias diferentes y pueden vivir en todos los medios y ambientes imaginables, en cualquier parte del mundo. Viven en el suelo, en el agua del mar y en las profundidades de la corteza terrestre. Se ha podido comprobar que ciertas bacterias pueden vivir, incluso, en los desechos radiactivos. Muchas bacterias viven en personas y animales, en la piel y en las vías respiratorias, la boca y los tractos digestivo, reproductivo y urinario, sin causar ningún daño.[40]

Su tamaño oscila entre 0.5 y 3 μm , aunque algunos tipos pueden llegar hasta 10 μm . La forma de las bacterias está determinada por la rigidez de su pared celular; básicamente se diferencian según forma en cocos (esféricas u ovaladas), bacilos (cilíndrica o de bastones rectos o curvos) y espirilos (espiral) y su pared celular está compuesta por peptidoglicano. Su forma de reproducción es por fisión binaria.[41] De igual manera se pueden clasificar por la técnica de tinción de Gram como las bacterias Gram positivas (G+) las cuales están constituidas principalmente por una capa de peptidoglicano de 20 a 80 nm de grosor y es la determinante de presenten una coloración violeta. Sin embargo, estas células contienen también una gran cantidad de ácido teicoico: Polisacáridos que se unen al ácido N-acetilmurámico o a los lípidos de la membrana plasmática. Por otro lado las bacterias Gram negativas (G-) se caracterizan por contar con un espacio periplásmico que incluye una fina capa de peptidoglicano de 2 a 8 nm y una membrana externa con varios poros y apéndices.[42]

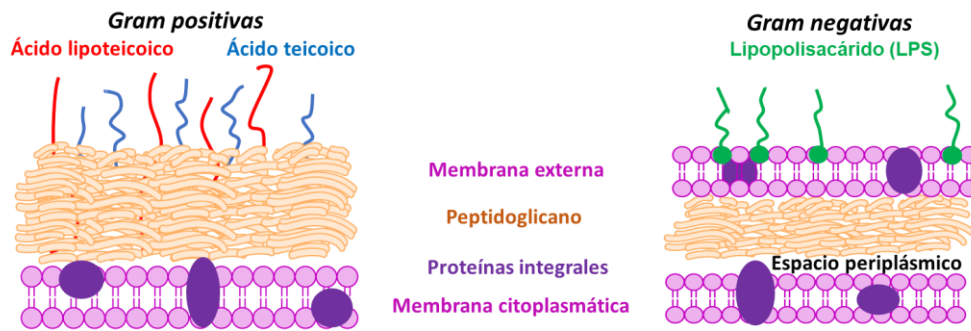


Figura 2.4. Estructura de las bacterias Gram positivas y Gram negativas

En la Tabla 2.8 se presenta una clasificación general de microorganismos con base en sus fuentes de carbono y energía. Dependiendo de esta clasificación se tiene a los siguientes microorganismos:

- 1) **Fotoautótrofos:** Son organismos que utilizan la energía de la luz para sintetizar compuestos orgánicos a partir de sustancias inorgánicas. Es decir, son capaces de generar su propio alimento, convirtiendo la energía luminosa en energía química. Algunos ejemplos son las algas, las plantas y las cianobacterias.
- 2) **Fotoheterótrofos:** Son bacterias que utilizan la luz solar como fuente de energía, pero no tienen la capacidad de sintetizar su propio alimento a partir de sustancias inorgánicas; es decir, dependen de compuestos orgánicos preexistentes para su nutrición.
- 3) **Quimioautótrofos:** Son organismos capaces de producir su propia energía mediante la oxidación de compuestos químicos inorgánicos, en lugar de depender de la luz solar como fuente de energía; es decir, pueden obtener energía mediante la oxidación de sustancias químicas inorgánicas, como amoníaco, el dióxido de carbono, el hidrógeno y el hierro.

4) **Quimioheterótrofas:** Son bacterias que obtienen energía mediante la oxidación de compuestos orgánicos complejos. Algunas de estas bacterias tienen la capacidad de fermentar carbohidratos para obtener energía, mientras que otras emplean la respiración celular.

Tabla 2.8. Clasificación general de los microorganismos con base en sus fuentes de carbono y energía [43]

Clasificación	Fuente de energía	Fuente de carbono	Organismos
Fotoautótrofos	Luz	CO ₂	Algas Bacterias fotosintéticas
Fotoheterótrofos	Luz	Compuestos orgánicos	Bacterias fotosintéticas
Quimioautótrofos	Química	Compuestos inorgánicos	Bacterias
Quimioheterótrofas	Química	Compuestos orgánicos	Bacterias Hongos Protozoarios

Es importante tener en cuenta que algunas bacterias pueden mostrar una combinación de estas categorías, por lo que la clasificación exacta puede depender de la forma en que se mide su nutrición.

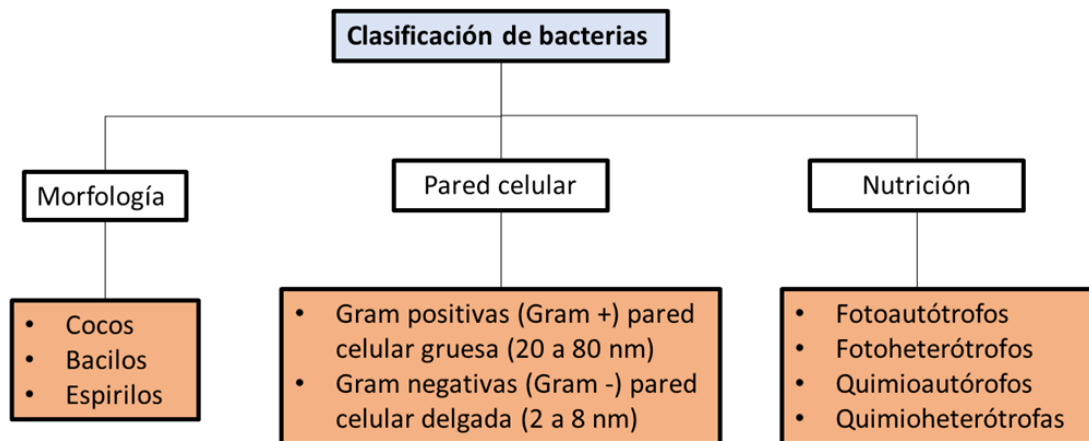


Figura 2.5. Clasificación de bacterias

Las bacterias resistentes son un desafío que crece rápidamente y una amenaza para la salud y el bienestar de las plantas, los animales y los seres humanos. La resistencia a los antimicrobianos se presenta como una amenaza, donde la prevención y el tratamiento eficaz de la gama cada vez mayor de patógenos se vuelve difícil.[44]

2.4.1 Bacterias de interés

Gram positivas:

Entre las bacterias Gram positivas encontramos a *Staphylococcus aureus* y a *Bacillus cereus*. La primera de ellas es una bacteria anaerobia facultativa perteneciente al género estafilococo. Se caracteriza por tener una forma cocoide esférica con cadenas cortas; su diámetro ronda entre los 0.5 y 1.5 μm , constituida por tres componentes principales: Peptidoglicano, ácidos teicoicos y la proteína A; esta bacteria es la causante de un gran número de enfermedades y constituye uno de los agentes etiológicos que causan diversas patologías en el humano como: Infecciones de piel, neumonía, infecciones de válvulas cardiacas, infecciones óseas y afectación a los tejidos blandos.[45]

Esta bacteria es muy persistente en el medio ambiente y ampliamente distribuida en la naturaleza, se puede encontrar en el agua, aire, superficies de la industria alimentaria y tienen la capacidad de sobrevivir durante largos periodos de tiempo en un ambiente seco y en alimentos con alto contenido en sales y glúcidos, además de tener la capacidad de producir enterotoxinas estafilocócicas muy resistentes, las cuales son responsables de las toxiinfecciones alimentarias estafilocócicas, estas enterotoxinas son ampliamente estables, resistentes al calor, a la congelación e irradiación, por lo que una vez formadas es difícil de eliminarlas principalmente en alimentos.[46]

La contaminación por esta bacteria puede ser causada por varios factores tales como:

- Entre persona-persona por contaminación cruzada al utilizar un objeto contaminado o por inhalación de gotas infectadas que se dispersan al estornudar o toser.
- Contaminación alimento-persona, en donde alguno de los alimentos ingeridos contiene la presencia de la bacteria.
- Entre animal-personas, si un animal se encuentra enfermo pueden ser una fuente de infección, como el caso de la mastitis en rumiantes cuando se da el proceso de extracción de leche.

En cuanto a *Bacillus cereus* es una bacteria perteneciente al género *Bacillus* de tipo Gram positivo, con forma alargada, tienen un tamaño aproximado de 1.0 a 1.2 μm con un diámetro de 3.0 a 5.0 μm . Además, tienen la capacidad de producir esporas en condiciones bien aireadas, aunque las células vegetativas pueden crecer anaeróbicamente; tiene la capacidad de utilizar glucosa, fructosa y trehalosa, pero no glúcidos, pentosas y alcoholes. Sin embargo, la mayoría de las cepas hidroliza de manera activa el almidón, caseína y gelatina.

Es una bacteria genéticamente diversa que se encuentra comúnmente en el ambiente y puede contaminar fácilmente cualquier sistema de producción y principalmente en elaboración de alimentos debido a la formación de endosporas. Tiene la capacidad de sobrevivir a altas temperaturas e irradiación de rayos gamma.[47]

Una vez contaminado el alimento llega a afectar la salud humana, las vías de transmisión se pueden dar de la siguiente forma:

- Contaminación cruzada: Se presenta en las fases posteriores de transformación de los alimentos, en la preparación y conservación de los alimentos en el hogar.
- Persona a persona: Los manipuladores de alimentos pueden ser portadores de la bacteria, de manera que al estar en contacto con éstos son buenas prácticas de higiene y conservación, contaminan los alimentos.

El proceso de toxiinfección por esta bacteria es causado por una toxina termolábil que ocasiona diarrea, dolor abdominal y náuseas; generalmente se encuentra en derivados cárnicos, especias, pescados, derivados lácteos, arroz y salsas vegetales.

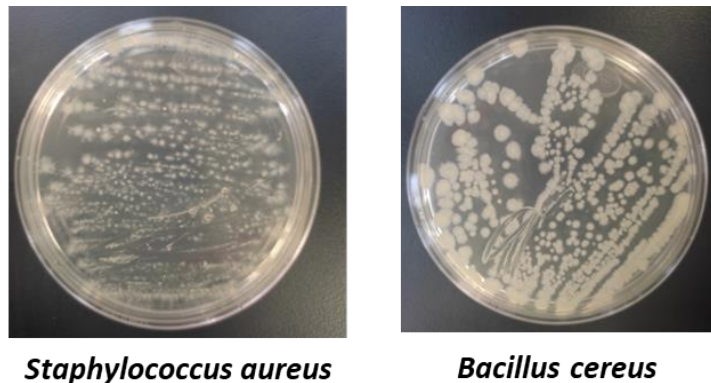


Figura 2.6. Bacterias Gram positivas. *S. aureus* y *B. cereus*

Bacterias Gram negativas:

La bacteria *Escherichia coli* es un bacilo Gram negativo perteneciente a la familia Enterobacteriaceae, anaerobio facultativo que mide aproximadamente 0.5 μm de ancho y 3.0 μm de largo, se mueve gracias a flagelos peritricos, es poco exigente y participa en la producción de vitaminas B y K, reduciendo nitratos a nitritos. Además, fermentan glucosa y lactosa con producción de gas. Se encuentra principalmente en los intestinos de las personas y animales, en el medio ambiente, alimentos y aguas sin tratar. La mayoría de *E. coli* son inofensivos y hacen parte del tracto intestinal sano. Sin embargo, algunos son capaces de generar enfermedades graves como son: Diarrea, infecciones urinarias, infecciones sanguíneas y enfermedades respiratorias.

Los tipos de *E. coli* que generan enfermedades son la siguientes: *Escherichia coli* enteropatógeno, *Escherichia coli* enterotoxigénico, *Escherichia coli* enteroinvasivo, *Escherichia coli* enterohemorrágico y *Escherichia coli* enteroagregativo.[48]

La infección por este bacilo se puede dar de diversas maneras:

- Consumo de alimentos contaminados.
- Contaminación fecal del agua.
- Contaminación cruzada durante el proceso de elaboración o preparación de alimentos.
- Contacto persona a persona por vía oral.

De igual manera para evitar la infección por *E. coli* la organización mundial de la salud (OMS), recomienda cinco claves para la inocuidad de los alimentos y estos son:

1. Lavar los alimentos antes de consumir e implementar utensilios limpios.
2. Separar los alimentos crudos de los cocinados.
3. Cocinar completamente el alimento.
4. Mantener los alimentos a temperaturas seguras.
5. Usar agua y materias primas seguras.

Por otro lado, la bacteria *Salmonella typhi*, hace parte de la familia Enterobacteriaceae, a veces puede subsistir en ambientes con bajos niveles de oxígeno. Aunque no forman esporas, tienen la habilidad de desplazarse gracias a sus flagelos peritricos. Esta bacteria produce bacilos a partir de fuentes como glucosa, maltosa y sorbitol. No genera gas en el proceso, pero sí convierte nitrato en nitrito, además de producir ácido sulfúrico.

Este agente infeccioso es el causante de la fiebre tifoidea, la cual es una infección sistémica con fiebre, dolor de cabeza, aparición de manchas rosas en el tronco, estreñimiento y dolor severo en el abdomen. Además, puede llegar a producir hemorragias o perforaciones en el colon.

La transmisión de esta bacteria se puede dar de la siguiente manera:

- Transmisión fecal-oral: Se transmite por las heces y por la orina de personas que se encuentran infectadas.
- Transmisión de persona a persona: Puede ser vía oral o por mala higiene de una persona infectada con *Salmonella typhi*.
- Transmisión por contaminación cruzada: Se puede contraer la infección si se ingiere agua o alimentos contaminados.

Algunas prevenciones para evitar la fiebre tifoidea son: Lavarse las manos antes de ingerir alimentos, beber agua embotellada, tener una buena higiene bucal, lavar los alimentos antes de su preparación e ingesta, evitar alimentos crudos, marinados o ahumados ya que esta bacteria es resistente a múltiples fármacos y antibióticos.

Como método de prevención existen dos opciones disponibles, en donde se utiliza como principio activo generalmente el antígeno Vi polisacárido capsular *Salmonella typhi*; la primera de ellas se inyecta como única dosis antes de viajar a zonas donde se presente la infección en donde el principio activo puede ser él o la administración de cuatro cápsulas por vía oral.[49]

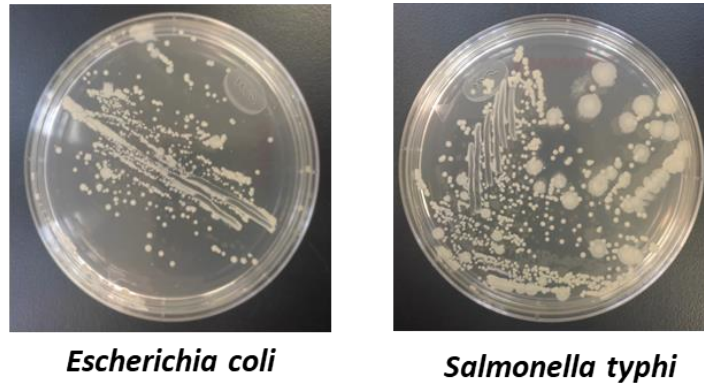


Figura 2.7. Bacterias Gram negativas *E. coli* y *S. typhi*

2.5 Tratamientos convencionales para la remoción de microorganismos patógenos en el agua

La calidad del recurso hídrico depende de la protección de la fuente de agua, del sistema de distribución y del uso final de la misma. Sin embargo, lo usual es que se requiera de un tratamiento para la eliminación o destrucción de microorganismos. (Tabla 2.9). En muchas ocasiones cuando el agua cuenta con una mala calidad se requieren múltiples etapas de tratamiento incluidas: Pretratamiento, coagulación, floculación, sedimentación, filtración y desinfección.[50]

Tabla 2.9. Tratamientos convencionales para la remoción de microorganismos [51-53]

Tratamiento	Microorganismos	Tasa de remoción	Tasa de remoción máxima
Pretratamiento			
Pre-filtros	Bacterias	50%	95% si se protegen contra picos de turbidez mediante flujo dinámico
Filtros gruesos	Bacterias	70%	95% depende el medio filtrante o coagulante
Filtración en la orilla	Bacterias	70%	Depende de la distancia del viaje, tipo de suelo, tasa de bombeo, pH y de la fuerza iónica
Coagulación, floculación, sedimentación			
Sedimentación convencional	Bacterias	30%	90% en función del coagulante, pH, temperatura, alcalinidad y turbidez

Ablandamiento con cal	Bacterias	20% a un pH 9.5 por un periodo de 6h entre 2-8°C	99% a pH 11.5 por un periodo de 6h entre 2-8°C
Flotación por aire disuelto	Protozoos	30%	Depende de la dosis del coagulante
Clarificación de alta tasa	Protozoos	40%	Depende del uso apropiado de la capa de polímeros
Filtración			
Filtración lenta en arena	Bacterias	50%	99.5% en condiciones óptimas de maduración, limpieza y rellenos
Filtración granular de caudal alto	Bacterias	70%	99% en condiciones de coagulación optima
Filtración de membrana: microfiltración	Bacterias	99.9%	99.999% con un pretratamiento adecuado y si se conserva en óptimas condiciones de la membrana
Filtración de membrana: ultrafiltración	Bacterias	99.9%	99.999% con un pretratamiento adecuado y si se conserva en óptimas condiciones de la membrana
Filtración de membrana: nanofiltración	Bacterias	99.9%	99.999% con un pretratamiento adecuado y si se conserva en óptimas condiciones de la membrana
Filtración de membrana: osmosis inversa	Bacterias	99.9%	99.999% con un pretratamiento adecuado y si se conserva en óptimas condiciones de la membrana
Desinfección			
Cloraminas	Bacterias Virus Protozoos	(Ct99 94 mg.min/L; 1-2 °C; pH 7) (Ct99 1240 mg.min/L; 15 °C; pH 6-9) Giardia (Ct99 2550 mg.min/L; 1 °C; 1000 mg.min/L pH 6-9)	

Dióxido de cloro	Bacterias	(Ct99 0.1 mg.min/L; 1–2 °C; pH 7; 0.19 mg.min/L pH 8.5)
	Virus	(Ct99 8.4 mg.min/L; 1 °C; 2.819 mg.min/L a 15°C; ambos a pH 6-9)
	Protozoos	<i>Giardia</i> (Ct99 42 mg.min/L; 1 °C; 15 mg.min/L a 10°C; 7.3 mg.min/L a 25°C; todos a pH 6-9) <i>Cryptosporidium</i> (Ct99 40 mg.min/L; 22 °C; pH 8)
Cloro	Virus	(Ct99 2–30 mg.min/L; 0–10 °C; pH 7–9)
	Bacterias	(Ct99 0.04–0.08 mg.min/L; 5 °C; pH 6-7)
	Protozoos	(Ct99 25–245 mg.min/L; 0–25 °C; pH 7–8)
Ozono	Virus	(Ct99 0.006–0.2 mg.min /L)
	Bacterias	(Ct99 0.02 mg.min /L)
	Protozoos	(Ct99 0.5–40 mg.min / mg.min /L)
Radiación UV	Virus	(7–186 mJ/cm ²)
	Bacterias	(0.65–230 mJ/cm ²)
	Protozoos	(< 1–60 mJ/cm ²)

*Ct es el producto de la concentración del desinfectante por el tiempo de contacto.

La desinfección tiene como objetivo obtener agua de forma continua libre de bacterias y de gérmenes patógenos, conforme a las normas y ensayos oficiales, para esto, es posible llevar a cabo distintos tratamientos como:

- **Cloración:** Es la aplicación de cloro en agua para la inactivación de microorganismos que pueden ser nocivos para la salud. Generalmente tiene un tiempo de contacto entre 20 a 30 minutos como mínimo, siendo deseable que sea de 1 a 2 horas, con una dosis de cloro o dióxido de cloro residual de 0.05 a 0.2 mg/L. El tiempo de contacto y el cloro residual deben ajustarse según el contenido del agua en nitrógeno amoniacal, la naturaleza del desinfectante utilizado y la aplicación eventual de una precloración.[54]
- **Ozono:** Este método consiste en diluir el ozono en agua. Esta molécula al ser la de mayor poder de oxidación e inestable reacciona rápidamente con compuestos orgánicos y en presencia de agua el ozono se descompone produciendo radicales hidroxilos, así como radicales superóxidos. Es decir, tiene la capacidad de afectar directamente las macromoléculas presentes en los seres vivos, por lo que, en consecuencia, al poner en contacto microorganismos con ozono se produce un ataque químico sobre las proteínas, los lípidos, las enzimas intracelulares y los ácidos nucleicos, así como sobre las proteínas presentes en las cubiertas de las esporas en las bacterias.[55]

- **Radiación UV:** La luz ultravioleta es empleada para la desinfección del agua sin la necesidad de utilizar reactivos químicos y su tiempo de contacto es demasiado corto del orden de segundos. Los microorganismos son destruidos por la radiación ultravioleta cuando la luz penetra a través de la célula y es absorbida por el ácido nucleico. La absorción de la luz por el ácido nucleico provoca una reordenación de la información genética, lo que interfiere con la capacidad reproductora de la célula. Por consiguiente, los microorganismos son inactivados por la luz UV como resultado del daño fotoquímico.[56]
- **Cloraminas:** El uso de cloraminas tiene como fundamento que la desinfección con cloro tiene dos fases: La primera de ellas, es que el cloro tiene la capacidad de oxidar una serie de sustancias presentes en el agua y la segunda es cuando se encuentra en presencia del amoníaco, en donde la actividad bactericida continua es independiente de que el cloro libre desaparezca debido a las cloraminas formadas.[57]
- **Dióxido de cloro:** Es un desinfectante de amplio espectro en bajas dosis de uso. Es empleado en la potabilización de agua, además ayuda a la eliminación de algas y biopelículas tiene la capacidad de trabajar en amplios rangos de pH (4-10) y tiene un tiempo de actuación menor que el cloro.

El poder o eficiencia bactericida para el tratamiento de agua dentro de los límites de pH más frecuentes (pH = 6 a pH = 9), se pueden determinar así: Ozono > Dióxido de cloro > Cloro libre > cloraminas, pero si hablamos en cuanto a estabilidad y persistencia en la red de distribución el orden es distinto, figurando en el primer término de la relación: Cloraminas > Dióxido de cloro > Cloro libre > Ozono.

2.5.1 Tratamiento de agua residual

Por agua residual se entiende a la acción y efecto en la que el hombre introduce materias contaminantes, formas de energía o inducir condiciones en el agua de modo directo o indirecto, lo cual implica alteraciones perjudiciales de su calidad con relación a los usos posteriores o con su función ecológica. El agua residual agua proviene del sistema de abastecimiento de agua de una población, después de haber sido modificada por diversos usos en actividades domésticas, industriales y comunitarias. Está compuesta de componentes físicos, químicos y biológicos; es una mezcla de materiales orgánicos e inorgánicos, suspendidos o disueltos.[58]

El tratamiento de agua residual inició a finales de 1800 debido al incremento de la contaminación en los cuerpos de agua y las enfermedades de origen hídrico; en un comienzo se realizaba el vertido de las aguas en el suelo, pero la superficie de los terrenos no era suficiente para de absorber todo el

volumen de agua y con la finalidad de evitar estos problemas se estudió la precipitación química, digestión de lodos, filtración intermitente en arena, filtración en lechos de contacto, aeración de agua residual y hasta el año 1912 se desarrolló el proceso de lodos activados.[59]

El nivel de tratamiento requerido para un agua residual depende de los límites de vertido para el efluente; se estima que regresa al sistema de alcantarillado entre un 70-75% del volumen suministrado.[60] Sin embargo, se puede decir que existe una clasificación convencional para el tratamiento de agua residual iniciando con el pretratamiento que tiene como objetivo remover, reducir y modificar sólidos gruesos, medios y finos, arenas de ciertos tamaños y peso específico. Esto se logra con operaciones físicas o mecánicas; posteriormente el tratamiento primario reduce la carga orgánica mediante la eliminación de sólidos en suspensión y materiales flotantes donde generalmente se hace uso de desarenadores y tanques de sedimentación. El tratamiento secundario incluye una serie de procesos de naturaleza biológica que emplean microorganismos para llevar a cabo la eliminación de materia orgánica biodegradable; en algunas ocasiones es requerido un tratamiento avanzado o terciario el cual tiene como objetivo lograr efluentes de mayor calidad, con una menor carga de contaminantes y que puede ser empleado en diferentes usos; las sustancias o compuestos que generalmente son removidos son: fosfatos, nitratos sustancias tensoactivas, algas, virus y bacterias (Figura 2.8). Con el fin de alcanzar la meta de purificación de agua residual además de las técnicas de tratamiento convencional fisicoquímicas y biológicas para la reducción de contaminantes orgánicos, se utilizan técnicas avanzadas con la finalidad de remover contaminantes microbiológicos, entre ellas las siguientes: cloración, sistemas de membranas y procesos de oxidación avanzada.[61]

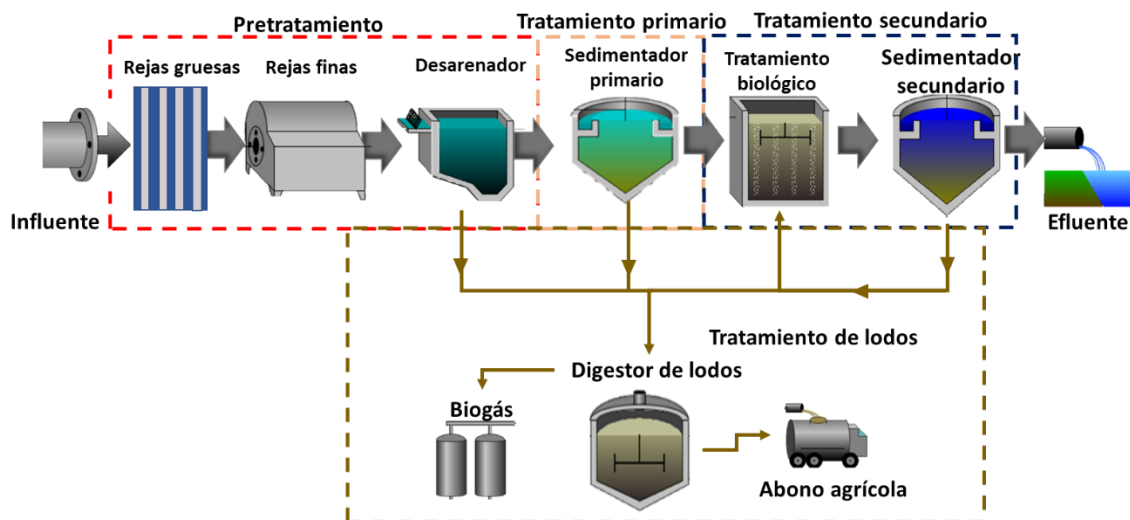


Figura 2.8. Tratamiento convencional de aguas residuales

En la Figura 2.8 se explica el proceso para eliminar contaminantes y proteger el medio ambiente; se comienza con la captación de las aguas residuales en plantas de tratamiento. En esta etapa, se instalan rejillas gruesas para eliminar grandes objetos y sólidos flotantes que pueden dañar equipos. Luego, las aguas pasan por el desarenador, donde la velocidad del flujo se reduce para permitir que la arena y otros sedimentos se asienten y se retiren del agua. Después de estas etapas preliminares, el agua se somete a un tratamiento secundario, que generalmente incluye procesos biológicos. En estos procesos se aprovecha la presencia de microorganismos naturales o cultivados para descomponer y eliminar materia orgánica disuelta y suspendida en el agua. Finalmente, el agua tratada fluye hacia un sedimentador secundario donde los microorganismos y otras partículas en suspensión se separan del agua, y luego el agua tratada se descarga de manera segura en cuerpos receptores o se somete a tratamientos adicionales si es necesario.

2.5.2 Tratamientos biológicos

Los tratamientos biológicos aprovechan la acción de las bacterias y de otros microorganismos para limpiar el agua y son considerados sistemas con grandes variaciones en sus caudales y concentraciones de alimentación. [62] Generalmente son preferidos siempre que sea posible ya que tienen mayores rendimientos y su costo de mantenimiento y explotación es mucho menor destruyendo completamente los contaminantes y transformándolos en sustancias inocuas como el dióxido de carbono, metano y nitrógeno molecular.[63]

Su función principal es la reducción de la demanda bioquímica de oxígeno (DBO) empleando microorganismos que se alimentan de la materia orgánica disuelta en condiciones aerobias o anaerobias, convirtiéndola en biomasa la cual, se precipita en un tanque sedimentador o se retiene como lodo activado en superficies sólidas del sistema.[64]

- **Tratamientos aerobios:** Es una de las alternativas ampliamente utilizada; el proceso de lodos activados es uno de los más comunes. Los microorganismos en presencia de oxígeno son responsables de la conversión de la materia orgánica y otros constituyentes del agua residual se mantienen en suspensión en el líquido[65]. Esta respiración es típica de eucariotas y de bacterias en las que el aceptor final de electrones es el oxígeno. Generalmente son empleadas bacterias con diferentes capacidades exo y endoenzimáticas. Algunos ejemplos de estas bacterias son: *Bacillus*, *Alcaligenes*, *Moraxella*, *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, *Arthrobacter*; *Aeromonas*, *Haliscomenobacter* y *Gordona*.
- **Tratamiento anaerobio:** La biodegradación anaerobia consiste en la transformación, por medio de microorganismos, de la materia orgánica de agua residual en compuestos gaseosos reducidos como son: metano, amoníaco y ácido sulfúrico, además de dióxido de carbono en

ausencia de oxígeno. La degradación anaerobia de la materia orgánica tiene lugar en tres etapas fundamentales: Fase de hidrólisis y acidogénesis, fase acetogénica y fase metanogénica.

2.5.3 Tratamiento de agua potable

Se denomina agua potable al agua que puede ser consumida por personas y animales sin riesgo de contraer enfermedades. El término se aplica al agua que cumple las condiciones establecidas por las autoridades locales e internacionales. Al proceso que transforma el agua común en agua potable se le denomina potabilización[66]; en donde se inicia con la eliminación de compuestos volátiles, seguido de una precipitación de impurezas con floculantes, sedimentación, filtración y desinfección con ozono o cloro. La complejidad de los procesos que constituyen el tratamiento del agua va a depender de las características del agua que se vaya a tratar, por este motivo, es necesario preservar la calidad del agua desde la fuente para evitar no solo costos ecológicos y sociales sino también económicos.[67] Los parámetros de calidad se van evaluando en cada una de las fases: Fuente, tratamiento, almacenamiento y distribución a la población. El tratamiento de agua potable es un proceso complejo y costoso debido a que podemos encontrar gran cantidad de materia sólida, polvo, polen, bacterias, esporas, e incluso organismos mayores.

Los tratamientos para la potabilización del agua se pueden clasificar según los siguientes parámetros:

- Impurezas o componentes por eliminar
- Parámetros de calidad
- Grados de tratamiento del agua

Dependiendo del tipo de contaminante que se encuentre presente en el agua, podemos llevar a cabo una serie de procesos unitarios como los mencionados en la Tabla 2.10.

Tabla 2.10. Procesos unitarios para la eliminación de contaminantes en agua potable[68]

Tipo de contaminante	Operación unitaria
Sólidos gruesos	Desbaste
Partículas coloidales	Coagulación, floculación, decantación
Sólidos suspendidos	Filtración
Materia orgánica	Afino con carbón activado
Amoniaco	Cloración Breakpoint
Agentes patógenos	Desinfección
Metales no deseados (Fe, Mn)	Precipitación por oxidación
Sólidos disueltos (Cl ⁻ , Na ⁺ , K ⁺)	Osmosis inversa

En cuanto a los parámetros de calidad del agua destinado para el consumo humano (Tabla 2.11) se clasifican según el grado de tratamiento que deben incluir para su potabilización en tres grupos:

- Tipo A1: Tratamiento físico simple y desinfección
- Tipo A2: Tratamiento físico normal, tratamiento químico y desinfección
- Tipo A3: Tratamiento físico y químico intensivo, afino y desinfección

Tabla 2.11. Principales parámetros de clasificación según el tipo de agua[68]

Parámetro	Unidad	Tipo A1	Tipo A2	Tipo A3
pH	-	6.5-8.5	5.5-9	5.5-9
Color	Escala Pt	20	100	200
Sólidos en suspensión	mg/L	25	-	-
Conductividad 20°C	S/cm	1000	1000	1000
Detergentes	Lauril sulfato	0.2	0.2	0.5
Plaguicidas totales	mg/L	0.001	0.0025	0.005
DQO	mg/L	-	-	30
Oxígeno disuelto	% Saturación	70	50	30
DBO ₅	mg/L	3	5	7
Coliformes totales 37°C	100 mL	50	5000	50000
Coliformes fecales	100 mL	20	2000	20000

Finalmente, en cuanto al grado de tratamiento existen diversos procesos unitarios que pueden ser aplicados (Tabla 2.12):

Tabla 2.12. Procesos unitarios según el grado de tratamiento para el suministro de agua potable[67]

Grado de tratamiento	Composición del tratamiento	Descripción
Tipo A1	Tratamiento físico simple y desinfección	Filtración rápida + desinfección
Tipo A2	Tratamiento físico normal, tratamiento químico y desinfección	Precloración + coagulación / floculación + decantación + filtración + desinfección
Tipo A3	Tratamiento físico y químico intensivo, afino y desinfección	Cloración al Breakpoint+ coagulación / floculación + decantación + filtración + afino con carbón activado + desinfección

En resumen, el proceso general para el tratamiento de agua para consumo humano inicia con el cribado en donde se eliminan los sólidos de mayor tamaño presentes en el agua, posteriormente se da la coagulación con el fin de desestabilizar las partículas coloidales para que sean removidas una vez

hayan chocado entre sí y se aglomeren formando flóculos; el proceso de coagulación-floculación requiere ser controlado con mucho cuidado por ser una de las fases más importantes del tratamiento, ya que de este dependerá la eficiencia de los sedimentadores y filtros. En la sedimentación las partículas en suspensión presentes en el agua son removidas gracias al efecto de la gravedad, una vez realizada esta operación se continúa con la filtración, en donde se da la separación de partículas y pequeñas cantidades de microorganismos (bacterias, virus) a través de un medio poroso y finalmente, se da la desinfección que consiste en una destrucción selectiva de los organismos potencialmente infecciosos. Lo que significa que no todos los organismos patógenos son eliminados en este proceso, por lo que requieren procesos previos como la coagulación, sedimentación y filtración para su eliminación; algunos factores que influyen en esta etapa son los siguientes:

- Microorganismos presentes y su comportamiento
- Naturaleza y concentración del agente desinfectante
- Temperatura del agua
- Naturaleza y calidad del agua
- pH del agua
- Tiempo de contacto

La efectividad de la desinfección se mide por el porcentaje de organismos inactivos dentro de un tiempo, una temperatura y un pH prefijados. La resistencia de estos microorganismos varía, siendo las esporas bacterianas las más resistentes, le siguen en resistencia los quistes de protozoarios, virus entéricos y por último las bacterias vegetativas.[69]

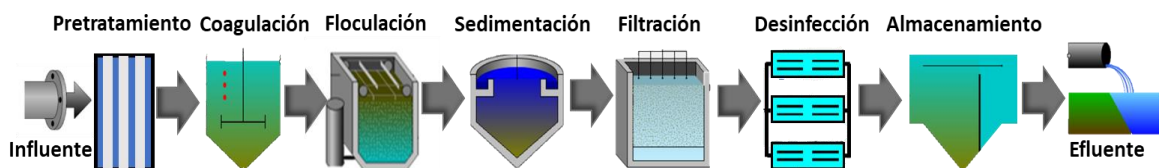


Figura 2.9. Tratamiento convencional de agua potable

2.6 Nanotecnología y nanomateriales

La nanotecnología estudia las diferentes estructuras de la materia con dimensiones del orden de una milmillonésima parte de un metro (1×10^{-9} m); aunque el término es relativamente nuevo la existencia de dispositivos y estructuras funcionales de dimensiones nanométricas no lo es; ya que tales estructuras han existido en la Tierra desde el mismo origen de la vida.[70] De manera general la nanotecnología es la ciencia que elabora y manipula materiales y artefactos de escala atómica o molecular entre 1 a 100 nm.

Con el paso del tiempo se ha descubierto que la nanotecnología tiene diversas aplicaciones en la industria textil, alimenticia, farmacéutica, medioambiental, entre otras, debido a que a medida que el tamaño se reduce a una escala nanométrica, aumenta el área superficial expuesta lo que favorece una mayor interacción entre átomos y moléculas cercanos, dando lugar a diversas interacciones, atracciones y repulsiones que causan efectos superficiales, electrónicos y cuánticos que afectan al comportamiento óptico, eléctrico y magnético de los materiales; con una cantidad pequeña de nanomaterial se puedan modificar y mejorar de forma muy significativa las propiedades de otros materiales, proporcionándole un gran potencial y valor añadido.[71]

Los nanomateriales pueden agruparse en distintas clasificaciones, pero una de las más importantes es atendiendo a sus dimensiones en donde encontramos cuatro tipos:[72]

- Cero dimensionales (0D): Tamaños entre 1-50 nm, como las nanopartículas (NPs).
- Unidimensionales (1D): Tamaños entre 1-100 nm con las otras dos dimensiones en el orden de las micras, como los nanohilos, nanofibras, nanotubos, etc. (Figura 2.10)
- Bidimensionales (2D): En la escala nanométrica y con la otra dimensión en la escala de las micras, como las películas delgadas con estructura nanométrica, multicapas en película delgada, donde el área de los nanomateriales 2D puede ser de varios micrómetros cuadrados pero un con espesor siempre en el rango de la nanoescala.
- Tridimensionales (3D): No hay dimensiones a nanoescala ya que todas las dimensiones están a microescala. Los materiales en bulk son 3D ya que se componen de bloques individuales que pueden estar en una escala nanométrica entre 1 y 100 nm o más (Figura 2.11).

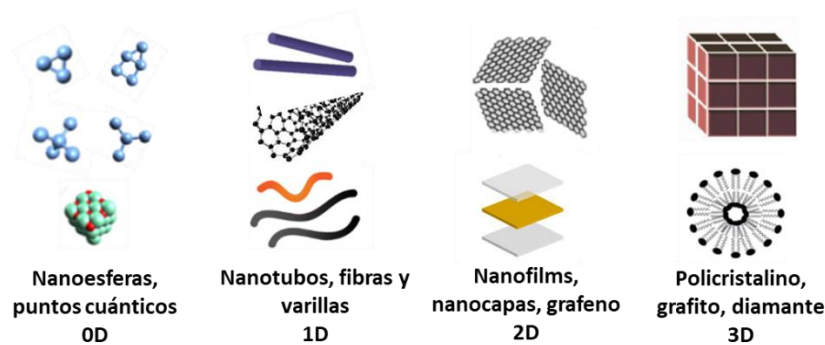


Figura 2.10. Dimensiones de los nanomateriales

La elaboración de nanomateriales (Figura 2.10) se puede llevar a cabo con diversas técnicas físicas, química, biológicas o híbridas; podemos obtener diferentes dimensiones como lo son nanopartículas coloidales, nanopolvos, nanotubos, películas delgadas. Dentro de las técnicas físicas las más

utilizadas son: pulverización catódica, arco eléctrico, deposición de vapores, molienda; por métodos químicos se encuentra el método sol-gel, coprecipitación, solvotermal, reducción y en los métodos biológicos se emplean precursores biológicos por bioreducción.[73]

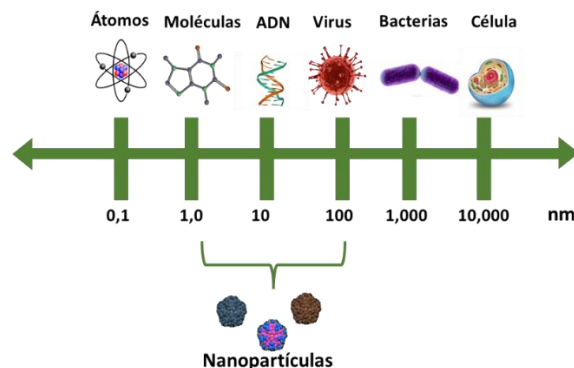


Figura 2.11. Escala nanométrica

En conclusión, los nanomateriales son la base de la nanociencia y pueden ser física y químicamente manipulados para aplicaciones específicas en diferentes campos de la ciencia y la tecnología. El campo de los nanomateriales presenta actualmente un rápido desarrollo debido a sus aplicaciones potenciales en la nanoelectrónica, como catalizadores, para almacenamiento de memoria de datos, componentes estructurales, recubrimientos protectores antidesgaste o de barrera térmica, como biomateriales, biosensores, etc.[74]

2.6.1 Nanopartículas metálicas

Las nanopartículas metálicas son iones metálicos divalentes y trivalentes que pueden obtenerse mediante métodos químicos o fotoquímicos.[75] Empleando agentes reductores, los iones metálicos se reducen a nanopartículas metálicas; son altamente utilizados en distintas áreas de investigación, estudios ambientales y bioimagen; además se pueden llegar a realizar mezclas de dos o más nanopartículas.[76, 77]

Es decir, al dopar diferentes metales pueden cambiar las características del elemento principal ya que, dependiendo del porcentaje sus propiedades varían. La propiedad electrónica de un metal se basa en su estructura de bandas (conducción y valencia) y esta va a depender del tamaño de partícula ya que, al disminuir el tamaño, aumenta la separación de los niveles de energía. El carácter metálico disminuye y cambia gradualmente a la naturaleza semiconductor.[78] Las nanopartículas de metal y óxido de metal son los nanomateriales más utilizados debido a las excelentes propiedades físicas y catalíticas de estos materiales. Por lo tanto, existe un requisito para el desarrollo de estas nanopartículas con propiedades ajustadas.[79]

A continuación, en la Tabla (2.13) se muestran algunas morfologías convencionales para diversas nanopartículas metálicas:

Tabla 2.13. Morfologías convencionales para diversas nanopartículas metálicas [80]

Estructura	Metales	Morfología
Cristal único	Pd, Ag, Au, Pt, Cu, Rh, Bi, Fe	Cúbicas
	Pd, Ag, Au, Pt	Octaédricas
	Ag, Au, Pt, Rh	Tetraédricas
	Pd, Ag, Pt	Barra rectangular
	Pd, Au, Fe, Co, Ni	Barra octagonal
	Pd, In, Sn, Sb, Fe, Co	Alambre octagonal o rectangular
Cristal individual	Pd, Ag	Bipirámide derecha
	Ag	Rayo
Cristal múltiple	Pd, Ag, Au, Cu	Decaedro
	Pd, Au	Icosaedro
	Pd, Ag, Au, Cu	Barra pentagonal
	Ag, Cu	Alambre pentagonal
	Pd, Ag, Au, Cu, Pb, Bi, Co, Ni	Plato triangular/ Hexagonal
	Sn, Co	Disco

2.7 Tratamiento de agua por medio de nanotecnología

La investigación y desarrollo de nanotecnología para la remediación del medio ambiente se ha ido incrementando, pues se considera que estas tecnologías emergentes son una opción para enfrentar la contaminación y lograr descontaminar el agua, aire y suelo.[81]

La nanotecnología es considerada como una solución potencial para la previsión de agua en el largo término con técnicas como la filtración, el empleo de nanopartículas en catálisis y la desalinización. Varios nanomateriales naturales y fabricados han demostrado contar con fuertes propiedades antimicrobianas como son: quitosano, dióxido de titanio, fullerol, nanotubos y nanopartículas de plata; ya que estos son nanomateriales antimicrobianos que no son fuertes oxidantes y son relativamente inertes en agua, así mismo no se espera que produzcan una desinfección dañina por sus coproductos. Por lo tanto, tienen el potencial de reemplazar o potenciar los métodos de desinfección convencionales, si son incorporados apropiadamente en los procesos de tratamiento convencional, y en tratamientos descentralizados de puntos de uso y reúso de sistemas.[82, 83]

Aunque existen ciertas limitaciones en la aplicación de nanomateriales en agua y la desinfección de aguas residuales como son las siguientes:

- Los procesos de desinfección requieren que el catalizador esté en contacto con la superficie de la membrana celular para la inactivación microbiana
- La recuperación del catalizador suele ser compleja
- No existen remanentes de acción antimicrobiana en el agua[84]

Hoy en día, existen diversas tecnologías que aplican la nanotecnología para el tratamiento de agua contaminada como se pueden observar en la Tabla 2.14:

Tabla 2.14. Nanomateriales y nanopartículas empleadas para el tratamiento de agua [85]

Nanomaterial	Ventajas	Desventajas	Aplicaciones
Membranas de nanocompuestos	Mayor hidrofobicidad, permeabilidad al agua, resistencia a ensuciarse.	Altamente dependiente del tipo de compuesto	Ósmosis inversa y eliminación de microcontaminantes
Nano absorbentes	Alta área de superficie específica, altas tasas de absorción, nanopartículas pequeñas	Alto costo de producción	Eliminación de sustancias orgánicas, metales pesados y bacterias
Nanometales y óxidos nano metálicos	Corta distancia de difusión intraarticular comprensible, resistente a la abrasión, magnética, actividad fotocatalítica	Poco reusable en la remoción de metales pesados	Remoción de metales pesados (arsénico), filtro de medios
Membranas de nanofiltración	Repulsión basada en carga, baja presión relativa y alta selectividad	Bloqueo de membrana	-Reducción de dureza, color, olor y metales pesados. -Desalinización de agua de mar
NPs de Ag y NPs de TiO₂	-Bactericida, baja toxicidad al ser humano. -NPs de TiO ₂ , químicamente estables, largo tiempo de vida	-NPs de TiO ₂ , requieren activación por luz UV -NPs de Ag, durabilidad limitada	Desinfección de agua, prevención de acumulación de microorganismos, descontaminación de componentes orgánicos.
Nanopartículas magnéticas	Recuperación por medio de campos magnéticos	Requieren de estabilización	-Remediación de agua subterránea. -Ósmosis inversa
Nano hierro cero Valente	Altamente reactivo	Requieren de estabilización (modificación de superficie)	Remediación de aguas subterráneas (hidrocarburos clorados y percloratos)

Membranas auto ensamblables	Nanoporos homogéneos y realizados a medidas	Pequeñas escalas disponibles	Ultrafiltración
------------------------------------	---	------------------------------	-----------------

2.8 Procesos avanzados de oxidación

En el agua se incorporan agentes contaminantes que evitan la implementación de tratamientos convencionales, debido a su toxicidad, estabilidad química o dificultad para su completa mineralización. Es por esta razón que surge la necesidad de implementar tecnologías efectivas para el tratamiento de agua en donde se destacan los procesos avanzados de oxidación (PAOs) los cuales se basan en cambios fisicoquímicos capaces de producir modificaciones en la estructura química de los contaminantes.[86]

La definición de PAOs se estableció en el 1987 por Glaze y colaboradores quienes la definen como un proceso que involucra la generación de especies oxidantes altamente reactivas capaces de atacar y degradar sustancias orgánicas, generando radicales libres oxidantes y no selectivos de tipo hidroxilo (OH•). Este radical se puede generar por medios fotoquímicos o por otras formas de energía. La mayoría de estos procesos puede aplicarse a la remediación y desoxidación de aguas especiales a pequeña o mediana escala de forma individual o combinada entre ellos o con métodos convencionales permitiendo incluso la desinfección por inactivación de virus y bacterias y pudiendo ser aplicados a contaminantes del aire y suelo.

Estos procesos se clasifican en procesos fotoquímicos y no fotoquímicos como se evidencia en la Tabla 2.15:

Tabla 2.15. Clasificación de los procesos avanzados de oxidación [87]

PROCESOS AVANZADOS DE OXIDACIÓN (PAOs)	
<i>Procesos fotoquímicos</i>	<i>Procesos no fotoquímicos</i>
Oxidación en agua subcrítica y supercrítica.	Oxidación en medio alcalino (O ₃ /OH ⁻)
Procesos fotoquímicos	Ozonización con peróxido de hidrógeno (O ₃ /H ₂ O ₂)
Fotólisis del agua en el ultravioleta de vacío (UV)	Procesos fenton (Fe ²⁺ / H ₂ O ₂)
UV/peróxido de hidrógeno	Oxidación electroquímica
UV/O ₃	Radiólisis γ y tratamiento con haces de electrones
Foto-Fenton y relacionadas	Plasma no térmico
Fotocatálisis heterogénea	Descarga electrohidráulica- Ultrasonido

En si, los procesos avanzados de oxidación son una serie de técnicas de tratamiento de aire, suelo y agua que se emplean para eliminar contaminantes persistentes y tóxicos del medio ambiente mediante la oxidación de compuestos orgánicos generando especies altamente reactivas; además de ser procesos versátiles y aplicarse a una amplia variedad de matrices ambientales.

2.8.1 Fotocatálisis

El término de fotocatálisis hace referencia a una reacción catalítica que involucra la absorción de luz por parte de un catalizador o sustrato; es decir, es necesaria la presencia de ambos elementos, la luz y el catalizador, para lograr acelerar la reacción química. Según la asociación ibérica de fotocatálisis este proceso es el principio natural de descontaminación de la propia naturaleza.

La fotocatálisis se fundamenta en la transferencia de cargas a través de la interfaz entre el material semiconductor y la solución acuosa contaminada. En la interfaz de estos dos componentes se da una redistribución, la cual se extiende por ambos lados. [88] La energía de la luz es utilizada para excitar los electrones en el fotocatalizador, lo que provoca la formación de pares de electrones y huecos en el material, estos pares tienen la capacidad de participar en reacciones químicas lo que puede producir la oxidación o reducción de las especies químicas del medio ambiente, teniendo una gran variedad de aplicaciones como la purificación de agua, la generación de hidrógeno, la síntesis de productos químicos y la eliminación de contaminantes atmosféricos.[89] (Figura 1.12)

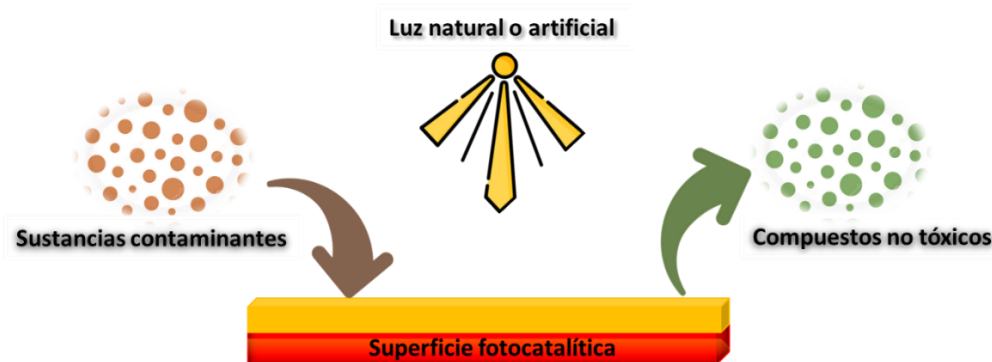


Figura 2.12. Principio de la fotocatálisis

2.8.2 Fotocatálisis heterogénea

La fotocatálisis heterogénea es un proceso que se basa en la adsorción directa o indirecta de energía, ya sea luz visible o luz ultravioleta por un sólido, el cual es denominado el fotocatalizador heterogéneo, que generalmente es de banda ancha, este proceso sucede en la región interfacial del sólido excitado y de la solución que es el lugar en donde se llevan a cabo las reacciones para la

remoción o destrucción de contaminantes, sin que el fotocatalizador experimente algún tipo de cambio químico (Figura 2.13).

El proceso de excitación del material semiconductor se puede llevar a cabo de dos formas:

- Excitación directa del semiconductor, en donde este adsorbe los fotones usados en el proceso.
- Excitación inicial de moléculas adsorbidas en la superficie del catalizador, las que a su vez tienen la capacidad de inyectar electrones en el material semiconductor.

Uno de los principales requisitos para el completo funcionamiento de la fotocatalisis heterogénea es que el semiconductor debe poseer la energía suficiente, igual o superior a la energía de banda prohibida; dicha energía se encuentra entre el mínimo de la banda de conducción y el máximo de la banda de valencia.[90]

Este proceso se divide en 3 etapas principales:

1. Adsorción de los reactivos en la superficie del semiconductor.
2. Reacciones de óxido/reducción en la superficie del material semiconductor.
3. Desorción de los productos finales.

En donde cada material semiconductor posee una apertura de banda, la cual determina la energía de cada sólido y por lo tanto permite establecer las propiedades específicas del mismo. Debido al abastecimiento de energía (óptica o térmica), los electrones en la banda de valencia pueden superar la apertura de banda característica y ser llevados a la banda energética superior (banda de conducción), adquiriendo ésta una carga negativa por el flujo de electrones y, por consiguiente, se genera una brecha energética de carga positiva (h^+) en la banda de valencia, por cada electrón que se libera.[91]

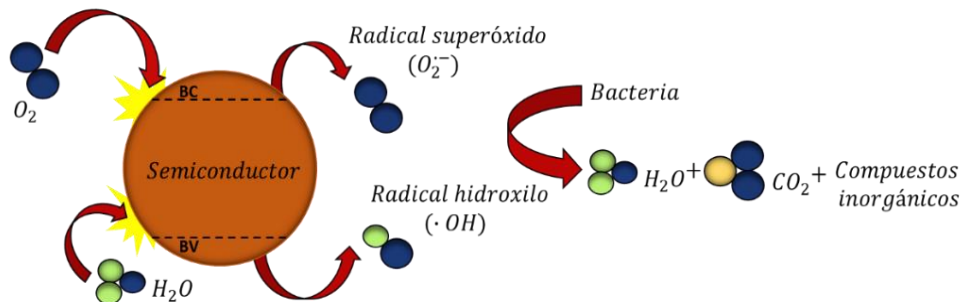


Figura 2.13. Mecanismo de fotocatalisis heterogénea

2.8.3 Banda prohibida

La banda prohibida es una propiedad fundamental de los materiales semiconductores, aislantes y conductores, hace referencia a la energía requerida para excitar un electrón desde el estado más bajo

de energía (estado fundamental) a un estado de energía superior donde el electrón puede moverse y conducir electricidad.[92] (Figura 2.14)

Consiste en un material aislante, la banda prohibida es grande y los electrones no tienen la capacidad de desplazarse fácilmente al nivel superior, lo que significa que el material no conduce electricidad cuando se encuentra en condiciones normales; mientras que en un material conductor la banda prohibida es más pequeña o incluso es inexistente, por lo que los electrones pueden moverse fácilmente de un nivel a otro y el material conduce la electricidad con facilidad. En el caso de los semiconductores, la banda prohibida es lo suficientemente grande como para evitar que los electrones se muevan fácilmente, pero lo suficientemente pequeña como para permitir la conducción cuando se aplica una pequeña cantidad de energía como una pequeña corriente eléctrica o un campo eléctrico externo.

El tamaño de la banda prohibida es una propiedad importante de los materiales semiconductores y es uno de los factores que determinan sus propiedades eléctricas y ópticas. Los materiales semiconductores con bandas prohibida más pequeñas se utilizan en la fabricación de dispositivos electrónicos como diodos de los transistores y de celulares solares.[93]

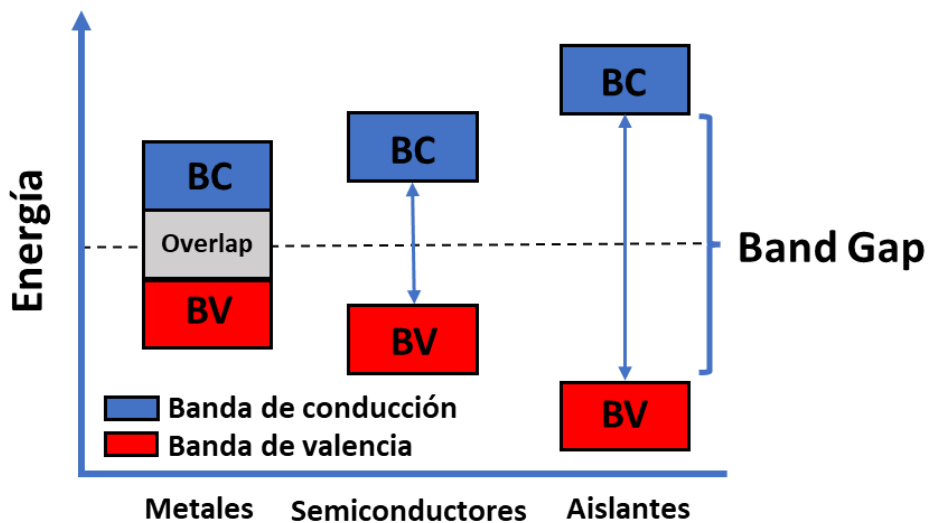


Figura 2.14. Representación de banda prohibida de materiales conductores, semiconductores y aislantes

2.9 Espectroscopía de impedancia electroquímica (EIS)

La espectroscopia de impedancia electroquímica (EIS, por sus siglas en inglés) es una técnica que permite deducir el comportamiento de la interfaz metal-solución dando como resultado una visión completa de los fenómenos corrosivos que se presentan.[94] Se trata de una herramienta empleada para estudiar y establecer estrategias contra los procesos de corrosión. Los datos obtenidos mediante

la impedancia se generan aplicando un potencial de corriente alterna que tiene como ventaja estar en función del tiempo y de la frecuencia; de esta manera se obtiene una onda de tipo senoidal en donde se registran los cambios de fases y los cambios de amplitud en un rango de frecuencias aplicadas. Es necesario para el análisis de un diagrama generado con datos de corriente alterna, conocer las respuestas de un elemento, sabiendo que una impedancia (Z) es una oposición al paso de la señal eléctrica siendo analogía con la corriente directa se da como un límite en que la frecuencia es cero.[95] Para entender la impedancia debemos entender el concepto de resistencia eléctrica mediante la ley de Ohm.

$$R = \frac{V}{I} \quad (\text{Ecuación 1})$$

Donde:

R=Resistencia eléctrica (Ω)

V=Diferencia de potencial (V)

I=Intensidad (A)

De esta manera, entre mayor sea el valor de la resistencia, el flujo de corriente será mucho menor al potencial establecido, ya que la resistencia es la oposición a la corriente que circula en el circuito eléctrico, así como lo define la ley de Ohm, en donde se aplica específicamente corriente directa, mientras que la impedancia es la resistencia que presenta un circuito cuando se aplica corriente eléctrica alterna. La corriente alterna a diferencia de la corriente directa no genera una señal estática sino una señal que oscila generando una onda sinusoidal a una frecuencia dada, siendo análogo a la Ley de Ohm y logrando obtener el valor de la impedancia.

$$Z(\omega) = \frac{V\omega}{I\omega} \quad (\text{Ecuación 2})$$

La impedancia, $V\omega$, es proporcional al potencial, mientras que la corriente, $I\omega$, está vinculada a la frecuencia angular, ω , de una onda sinusoidal predominante.

Los valores de impedancia generalmente se obtienen en un diagrama de Nyquist (Figura 2.15), en donde se obtiene un eje real (Z') y un eje imaginario (Z'') en donde ambos ejes deben ser iguales para no distorsionar la curvatura, los puntos más bajos al lado izquierdo corresponden a las frecuencias

más altas y los valores de la derecha a las frecuencias más bajas, de esta manera se pueden hacer interpretaciones cualitativas.

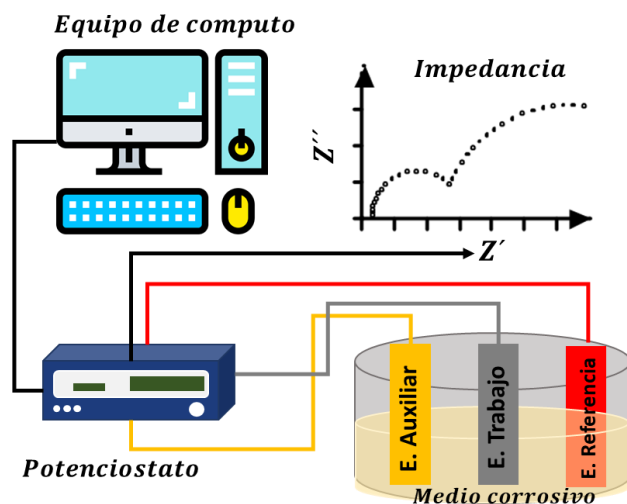


Figura 2.15. Representación de diagrama de Nyquist

2.10 Selección de nanomateriales con propiedades antibacterianas

Las nanopartículas y óxidos metálicos son investigadas frecuentemente debido a sus propiedades fotocatalíticas y antibacterianas ya que debido a sus dimensiones nanométricas cuentan con mayor facilidad de afectar a los microorganismos y por su alta relación área/volumen permite un mayor contacto e interacción con dichos microorganismos. Las nanopartículas de plata (NPs de plata) y de dióxido de titanio presentan propiedades antimicrobianas que han sido aprovechadas en numerosas aplicaciones.[96]

Entre estos materiales promisorios, las nanopartículas antibacterianas inorgánicas tales como la plata, el óxido de zinc, el dióxido de titanio y las de cobre han atraído una atención especial debido a su alta estabilidad al estar en contacto con sistemas biológicos.[97, 98]

Las NPs magnéticas poseen propiedades antibacterianas debido a tres mecanismos:

- i) La producción de ROS que dañan el ADN, ARN y proteínas lo que provoca inhibición y/o muerte celular en las bacterias
- ii) La liberación de iones metálicos y a veces, los metales pueden disolverse
- iii) Su tamaño, es inversamente proporcional a su propiedad antibacteriana

Es decir, mientras más pequeñas sean las NPs ,mejor actividad antibacteriana tendrán, sin embargo, esto sucede si las NPs están lo suficientemente cerca de las bacterias, entonces cuando este tipo de NPs se pueden funcionalizar con otro tipo de materiales, se mejora su afinidad a este microorganismo,

a su vez, mediante campos magnéticos se puede dirigir a las NPs a áreas donde se encuentren biopelículas de bacterias, haciendo así, más eficiente el uso de sus propiedades antibacterianas.[99] La selección de nanomateriales con propiedades antibacterianas depende de varios factores, como la eficiencia, la estabilidad, la seguridad, la disponibilidad y el costo, entre los nanomateriales más utilizados encontramos los siguientes:

- Nanopartículas de plata: La plata es un nanomaterial que se utiliza ampliamente como agente antibacteriano debido a su capacidad para inhibir el crecimiento bacteriano. La plata coloidal es efectiva contra una amplia variedad de bacterias, incluyendo *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. [100]
- Óxido de zinc: Es un nanomaterial con propiedades antibacterianas y antiinflamatorias. Se utiliza en una variedad de productos, como cremas solares y productos para el cuidado de la piel, debido a su capacidad para proteger la piel de las bacterias y otros microorganismos.
- Dióxido de titanio: presenta propiedades antibacterianas y fotocatalíticas. Se utiliza en una gran variedad de aplicaciones, como la purificación del agua y la eliminación de contaminantes del aire, debido a su capacidad para descomponer los contaminantes y las bacterias.
- Nanopartículas de oro: Presentan propiedades antibacterianas debido a su capacidad para interactuar con las proteínas de la pared celular bacteriana. [101] Las nanopartículas de oro también se utilizan en aplicaciones médicas, como la entrega de medicamentos y la terapia fototérmica.

2.10.1 Óxido de Zinc

El óxido de zinc (ZnO) es un compuesto semiconductor con una brecha de band gap de 3.37 eV, tiene una naturaleza no tóxica y es abundante como materia prima, su proceso de producción es de bajo costo y además presenta una amplia gama de propiedades ópticas, piezoeléctricas, mecánicas y fotocatalíticas que lo hacen útil para un gran número de aplicaciones tecnológicas. La diferencia de electronegatividad entre el zinc y el oxígeno produce un alto grado de ionicidad en su enlace. Además, es un material bastante versátil el cual tiene la capacidad de adoptar distintas morfologías y nanoestructuras, lo cual permite que sea ampliamente utilizado como fotocatalizador en la degradación de diferentes contaminantes orgánicos e inorgánicos; principalmente en disoluciones acuosas, en forma de polvos o nanopartículas. [102]

Las estructuras cristalinas del óxido de zinc (Figura 2.16) son: wurtzita, zincblenda y RockSalt, a condiciones ambientales el óxido de zinc posee una estructura hexagonal tipo wurtzita y es considerada la fase más estable debido a la diferencia de electronegatividades entre el zinc (1.65 eV)

y el oxígeno (3.34 eV), además cada ion Zn^{2+} se encuentra ligado a un tetraedro de cuatro iones O^{2-} . [103] Por otro lado, la estructura zincblenda se puede obtener creciendo el óxido de zinc sobre sustratos con estructura cristalina cúbica. En cuanto a la estructura RockSalt o halita es poco común encontrarla ya que se obtiene a presiones relativamente altas, aproximadamente 10 GPa.

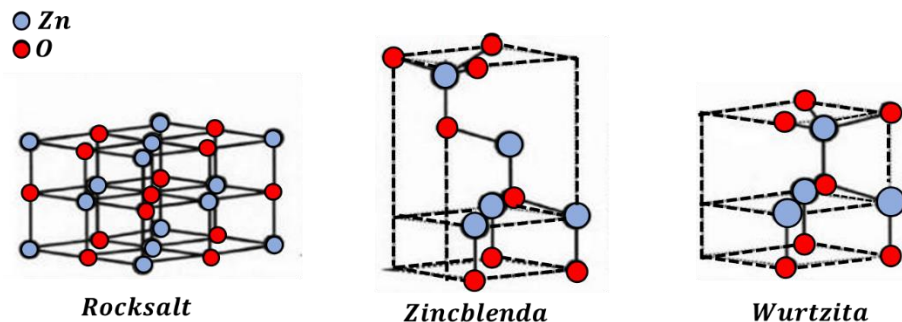


Figura 2.16. Estructuras cristalinas del óxido de zinc

Las nanopartículas más estudiadas y utilizadas son las de óxido de zinc (ZnO NPs) y óxido de titanio (TiO_2 NPs), ya que poseen una alta biocompatibilidad con microorganismos complejos y naturaleza antibacteriana, por tal motivo se aplican en distintas áreas de interés, como son en la inhibición de microorganismos. [104]. Lo anterior, gracias a su alta estabilidad y capacidad de carga, control de forma y tamaño de poros, además de que sus condiciones de preparación son relativamente sencillas. [105]

La propiedad más representativa de las nanopartículas de óxido de zinc es su aplicación en la fotocatalisis para la degradación de contaminantes en área de remediación ambiental; de igual manera existen diferentes métodos de síntesis en donde se puede hacer uso de precursores químicos y biológicos los cuales logran tener efectos antimicrobianos por mecanismos como: Relación área/superficie y tamaño pequeño, lo que favorece la unión a las células bacterianas por interacciones electrostáticas e irrumpiendo la membrana provocando una destrucción celular, la inhibición de la replicación del ADN y la inhibición de proteínas bacterianas, por la producción de especies reactivas de oxígeno en la superficie. [106, 107] (Tabla 2.16)

Tabla 2.16. Comparación de actividad antibacteriana de NPs de ZnO a partir de varios agentes

NPs	Agente	Bacteria	MIC ($\mu\text{g/mL}$)	ZDI (mm)	Ref.
	NaOH	<i>E. coli</i>	38		[108]
		<i>S. aureus</i>	36		
	NH_4OH	<i>S. aureus</i>		20	[109]
		<i>B. subtilis</i>		10	
		<i>B. cereus</i>	7 (mM)	35 ± 1.6	
		<i>E. coli</i>	16 (mM)	21 ± 1.3	

ZnO	Comercial	<i>P. aeruginosa</i>	26 (mM)	17 ±1.2	[110]
		<i>S. typhimurium</i>	22 (mM)	21 ±1.4	
		<i>S. aureus</i>	10 (mM)	31 ±1.4	
	Laurus nobilis	<i>S. aureus</i>	1.77 ± 0.3	23-26	[111]
		<i>P. aeruginosa</i>	1.99 ± 0.7	24-27	
	Aspergillus terreus	<i>B. subtilis</i>	250	11.0 ± 0.1	[112]
		<i>S. aureus</i>	250	10.5 ±0.2	
		<i>E. coli</i>	500	9.2±0.1	
	Brassica oleracea	<i>S. aureus</i>	50		[113]
<i>B. subtilis</i>		50			
<i>E. coli</i>		50			

*1 mM de ZnO =81 mg/mL

*MIC=Concentración mínima inhibitoria

*ZDI=Diámetros de la zona de inhibición

2.10.2 Óxido de cobre

El óxido de cobre (CuO) (Figura 2.17) es un compuesto semiconductor con una energía de banda prohibida de aproximadamente 1.2 eV de estructura cristalina centrada en las caras (FCC). La estructura del óxido de cobre también se le puede denominar tenorita y se caracteriza por un color café oscuro o negro dependiendo del tamaño de partícula.[114]

En los últimos años la investigación científica y tecnológica sobre la síntesis de nanopartículas ha incrementado notoriamente debido a las propiedades fisicoquímicas y sus diversas aplicaciones; específicamente se ha prestado atención en las nanopartículas de cobre por contar con propiedades únicas de carácter: catalítico, eléctrico, electrónico, térmico, magnéticas y antimicrobiana.[115] Por sus diversas características el óxido de cobre puede ser utilizado en diferentes campos a nivel industrial y laboratorio como lo son: elaboración de calcetines, fundas de almohadas, aparatos eléctricos, pigmento en cerámica para producir esmaltes, producción de pilas secas y húmedas, preparación de películas delgadas, catalizadores de área superficial alta en varios procesos químicos, aplicación en el tratamiento de células cancerígenas y materiales antibacterianos.

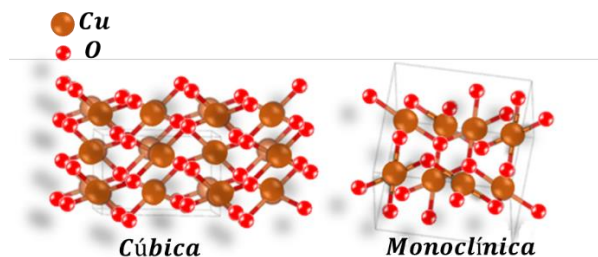


Figura 2.17. Estructuras cristalinas óxido del cobre

Las propiedades bactericidas de dichas nanopartículas dependen de su tamaño, estabilidad y concentración añadida al medio de cultivo, ya que este proporciona un mayor tiempo de retención para la interacción de las nanopartículas bacterianas. En general, las células bacterianas se encuentran en el rango de tamaño de micras. La mayoría de las células bacterianas tienen membranas celulares que contienen poros en el rango de nanómetros. Una propiedad única de atravesar la membrana celular puede atribuirse potencialmente a las nanopartículas sintetizadas a través de dichos poros bacterianos.[116] Sin embargo, para que esto sea posible, es importante superar los desafíos y preparar/diseñar nanopartículas que sean lo suficientemente estables para restringir significativamente el crecimiento bacteriano mientras cruzan la membrana celular.

En la actualidad se ha demostrado que las NPs de óxido de cobre demuestran efectividad frente a bacterias como *Escherichia coli*, *Pseudomona aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*, *Shigella flexneri*, *Salmonella typhimurium*, *Proteus vulgaris* y *Staphylococcus aureus*. [117] Otras investigaciones corroboran el efecto inhibitorio de las nanopartículas de óxido de cobre frente a bacterias Gram positivas y Gram negativas, donde el tamaño de partícula se encuentra correlacionado con su actividad antibacteriana.[118] Además de contar con un amplio espectro antimicrobiano; también se ha demostrado que posee propiedades antifúngicas en los hongos como: *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger* y *Candida albicans* (Tabla 2.17).

Tabla 2.17. Comparación de actividad antibacteriana de NPs de CuO a partir de varios agentes

NPs	Agente	Bacteria	MIC (ug/mL)	ZDI (mm)	Ref.	
CuO	Ácido cítrico	<i>E. coli</i>	20-65	14-20	[119]	
		<i>P. aeruginosa</i>	20-55	10-21		
		<i>B. subtilis</i>	30-70	15-24		
		<i>S. aureus</i>	25-75	12-22		
	Yoduro de potasio	de	<i>E. Coli</i>	0.1		[120]
			<i>S. aureus</i>	0.1		
			<i>S. dysentry</i>	0.1		
			<i>B. subtilis</i>	0.15		
	Comercial		<i>E. coli</i>	50		[121]
			<i>K. pneumoniae</i>	25		
			<i>P. vulgaris</i>	50		
			<i>P. aeruginosa</i>	25		
			<i>S. aureus</i>	50		
			<i>B. cereus</i>	12.5		
Antigonon leptopus		<i>B. subtilis</i>	200	23	[122]	
		<i>S. aureus</i>	200	23		
		<i>E. coli</i>	250	18		

	<i>P. aeruginosa</i>	400	15	
Capparis	<i>B. subtilis</i>	50		[123]
	<i>S. aureus</i>	100		
	<i>E.coli</i>	50		
Cascaras cítricas	<i>P. aeruginosa</i>		12-23	[124]
	<i>S. aureus</i>		2-14	
	<i>S. pneumoniae</i>		17-27	
	<i>C. jejuni</i>		0-32	
	<i>S. tyohimurium</i>		19-34	
SDS (dodecilsulfato de sodio)	<i>S. aureus</i>	4.6 ± 0.5		[125]
	<i>E.coli</i>	6.6 ± 0.5		

*MIC=Concentración mínima inhibitoria

*ZDI=Diámetros de la zona de inhibición

2.10.3 Óxido de níquel

El óxido de níquel (Figura 2.18) es un material semiconductor con fórmula molecular NiO; es considerado un mineral poco común en la naturaleza y se le conoce por el nombre de bunsenita. Se encuentra clasificado como un óxido metálico básico que posee propiedades electrocrómicas, ópticas y electrónicas lo cual lo hace un compuesto bastante prometedor debido a su largo rango dinámico, bajo costo y estabilidad.[126] Presenta una estructura cristalina cúbica centrada en las caras (FCC) con propiedades anti ferromagnéticas y está considerado como un aislante de transferencia de carga.[127]

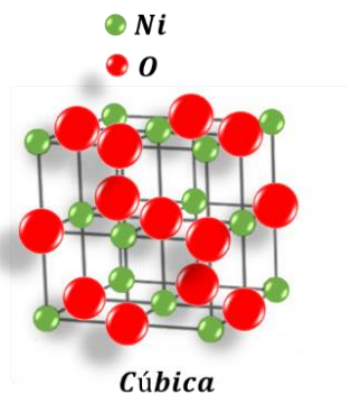


Figura 2.18. Estructura cristalina del óxido de níquel

Puede ser empleado para diversas aplicaciones especializadas por su calidad química y metalúrgica, como lo es la fabricación de supercapacitores electroquímicos, baterías, películas, sensores de gas,

capacitores electroquímicos y en la catálisis[128], en la industria cerámica para generar ferritas y esmaltes de porcelana.

Debido a las propiedades físicas y químicas de los óxidos metálicos se sabe que generan interacción con otros sistemas biológicos, lo cual ha sido de gran importancia debido a la creciente resistencia de bacterias. Las nanopartículas de este compuesto ayudarían a inhibir el crecimiento microbiano; se ha demostrado que el óxido de níquel posee propiedades antibacterianas en diversos estudios científicos para patógenos gram positivos y gram negativos.[129] Además, se ha comprobado que el óxido de níquel (Tabla 2.18) puede inhibir el crecimiento y la proliferación de una amplia gama de bacterias como: *E. coli*, *S. aureus* y *P. aeruginosa* ya que entre los semiconductores en nano régimen, las características únicas del NiO como son su bajo costo, que no toxicidad, posee cierto grado de fotoestabilidad y su fácil disponibilidad lo convierten en un fotocatalizador eficiente para la degradación de varios contaminantes orgánicos.[130]

Tabla 2.18. Comparación de actividad antibacteriana de NPs de NiO a partir de varios agentes

NPs	Agente	Bacteria	MIC (ug/mL)	ZDI (mm)	Ref.
NiO	<i>Cassia auriculata</i>	<i>S. aureus</i>		15-19	[129]
		<i>B. cereus</i>		13-16	
		<i>E. coli</i>		12-18	
		<i>S. typhi</i>		13-16	
		<i>K. pneumoniae</i>		23-32	
		<i>P. mirabilis</i>		21-28	
NiO	<i>Aegle marmelos</i>	<i>S. aureus</i>		16	[131]
		<i>S. pneumoniae</i>		12	
		<i>E. coli</i>		11	
		<i>E. hermannii</i>		6	
NiO	Cebolla roja	<i>S. aureus</i>		10-14	[132]
		<i>E. coli</i>		12-15	
NiO	<i>Ocimum Scanctum</i>	<i>E. coli</i>	25		[133]
		<i>K. pneumoniae</i>	25		
		<i>S. typhi</i>	25		
		<i>B. subtilis</i>	50		
		<i>S. epidermis</i>	50		

*MIC=Concentración mínima inhibitoria

*ZDI=Diámetros de la zona de inhibición

2.10.4 Nanopartículas de plata

La plata es un metal pesado y noble que ha sido utilizada desde la antigüedad, principalmente para la desinfección del agua. Sin embargo, a partir del siglo XVII se describe como producto medicinal con múltiples propósitos ya que era utilizado para el tratamiento de úlceras, uso en gotas oculares para recién nacidos, tratamiento para quemaduras y conservante de alimentos. El efecto antibacteriano de las sales de plata es conocido desde la antigüedad y actualmente está siendo utilizado para inhibir el crecimiento bacteriano en una variedad de aplicaciones.[134] Es decir, las nanopartículas de plata juegan un papel importante en el estudio de la biología y de la medicina debido a sus atractivas propiedades fisicoquímicas, ya que los productos de plata han sido reconocidos por presentar fuertes efectos inhibitorios y bactericidas, así como un amplio espectro de actividades antimicrobianas.[135, 136] Debido a sus propiedades antimicrobianas las nanopartículas de plata se incorporan a distintos productos como: vendajes, suplementos alimenticios, catéteres, implantes dentales, cosméticos, pinturas y bactericidas.[137]

La actividad bactericida de las nanopartículas de plata se debe a la alta afinidad por los grupos sulfuros o fosfóricos de la membrana celular, así, la plata se adhiere a la superficie de la membrana celular interfiriendo en las actividades de permeabilidad y respiración, lo que genera daños en el citoplasma e impide la replicación del ADN y por lo tanto las proteínas celulares se inactivan. Además, las nanopartículas cuentan con una gran área superficial, lo que genera que sea un excelente catalizador en reacciones catalíticas heterogéneas. La actividad antimicrobiana de las NPs de plata ha sido descrita en numerosos estudios. Se ha descubierto que las NPs de plata actúan frente a numerosas especies de bacterias de interés clínico: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterococcus faecalis*, *Vibrio cholerae*, *Salmonella enterica*, *Salmonella typhimurium*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus* resistente a vancomicina y *S. aureus* resistente a meticilina.[138]

En muchas ocasiones se realiza el dopaje de nanopartículas, definido como la introducción de impurezas a un material con el fin de proporcionar nuevas propiedades al mismo, esto se debe realizar en cantidades controladas con el objetivo de que ocupen posiciones reticulares en el material receptor. Varios autores han determinado que el dopaje modifica las propiedades de las superredes de manera que es posible tener potenciales aplicaciones con el nuevo nanomaterial.

Al introducir átomos de plata en los catalizadores se producen estados localizados en el espacio de la banda prohibida, justo por encima de la banda de valencia, razón por la cual el ZnO, CuO y NiO dopado con Ag pueden llegar a tener la capacidad de ser expuestos a la luz visible debido a que los electrones son promovidos desde estos estados localizados a la banda de conducción.[139] De manera

particular los nanomateriales dopados con plata son utilizados ampliamente frente a agentes antimicrobianos, sensores de pH, electrodos, sensores de gas, electrocatalisis y procesos de desinfección de agua. (Figura 2.19)

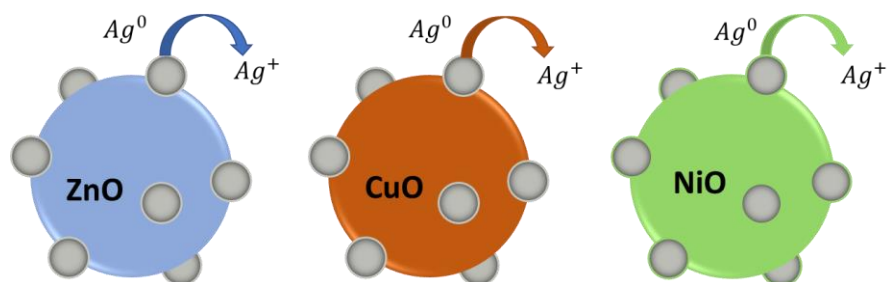


Figura 2.19. Dopaje de nanopartículas con plata

Además, se sabe que estas nanopartículas de plata no presentan riesgo para organismos complejos, es decir, son seguras y no tóxicas para las células humanas y animales debido a su concentración baja, por lo que resulta extremadamente bajo el riesgo de toxicidad para el ambiente. [140]

En la Tabla 2.19, se presentan algunos de los agentes con los que se pueden sintetizar nanopartículas de plata y sus respectivos resultados para la inhibición bacteriana.

Tabla 2.19. Comparación de actividad antibacteriana de NPs de Ag partir de varios agentes

NPs	Agente	Bacteria	MIC (ug/mL)	ZDI (mm)	Ref.	
Ag	Ácido ascórbico	<i>E. coli</i>	25		[141]	
	Comercial	<i>S. aureus</i>	50-100		[142]	
		<i>E. coli</i>	50-150			
	$NaBH_4$ y $Na_3C_6H_5O_7$	<i>S. aureus</i>	20-110		[143]	
		<i>E. coli</i>				
	<i>Azadirachta indica</i>	<i>S. aureus</i>			9	[144]
		<i>E. coli</i>			9	
	<i>Cepa P. putida</i>	<i>P. aeruginosa</i>			7.5-12.2	[145]
				5-20	6.8-12.1	
					6.7-11.2	
					6.5-11	
	<i>Bacillus flexus</i>	<i>E. coli</i>			6.7-11.55	[146]
				3-12	6.35-11.05	
					6.25-11.65	
				6.7-11.55		
<i>Origamun majorana</i>	<i>E. coli</i>		25-75	7-12.5	[147]	
		<i>B. cereus</i>				

<i>Citrus sinensis</i>		<i>E. coli</i>	25-75	13-19	[147]
		<i>B. cereus</i>			
Extracto de manzana	de	<i>E. coli</i>	125		[148]
		<i>S. aureus</i>	1000		
		<i>P. aeruginosa</i>	500		
Extracto de banana	de	<i>B. cereus</i>		16±0.016	[149]
		<i>E. coli</i>		14±0.02	

*MIC=Concentración mínima inhibitoria

*ZDI=Diámetros de la zona de inhibición

2.11 Especies reactivas de oxígeno

Las especies reactivas de oxígeno hacen referencia a un grupo de moléculas que contienen oxígeno con diferente reactividad química. Se les considera como metabolitos del oxígeno parcialmente reducidos que poseen una fuerte capacidad oxidante, aunque dicha capacidad varía entre las diferentes especies.[150]. Estos son generados en varios sistemas celulares localizados en la membrana plasmática, citosol, retículo endoplasmático y la mitocondria. A continuación, en la Tabla 2.20 se presentan las principales especies reactivas de oxígenos.

Tabla 2.20. Principales especies reactivas del oxígeno

Especies reactivas de oxígeno			
Radicales			
Superóxido	O ₂ •	Radical alcóxido	RO•
Hidroxilo	•OH	Radical peróxido	ROO•
No radicales			
Peróxido de hidrógeno	H ₂ O ₂	Ozono	O ₃
Oxígeno singlete	O ₂	Peróxido orgánico	ROOH
Ácido hipocloroso	HOCl	Ácido hipobromoso	HOBR

Asimismo, las ROS interfieren en la modulación de la señalización celular involucrada en la muerte, proliferación y diferenciación celular.[151] El mecanismo de fotoactividad en los óxidos metálicos y su actividad antibacteriana se basa en la reacción bajo luz ultravioleta de las nanopartículas en medio acuosa y en contacto con el aire se da la liberación de especies reactivas de oxígeno lo que causa daños letales a los microorganismos, ya que se genera un estrés oxidativo por el desbalance entre la generación de especies reactivas y la defensa antioxidante, encargada de la remoción de estas especies.[152] (Figura 2.20)

En el cuerpo, estas especies reactivas cumplen funciones como la señalización celular y la respuesta inmune contra patógenos invasores. Sin embargo, se dan casos de sobreproducción de ROS, llamado

estrés oxidativo, que se ve reflejado como daño a nivel celular, pudiendo oxidar el ADN o afectar negativamente a las proteínas; ya que a nivel celular, la liberación de cationes metálicos (M^{n+}) a partir de NPs, genera daño a la membrana celular, ya que diversos iones en un proceso redox, generan especies de superóxido que contribuyen a la degradación de biomoléculas.[153, 154]

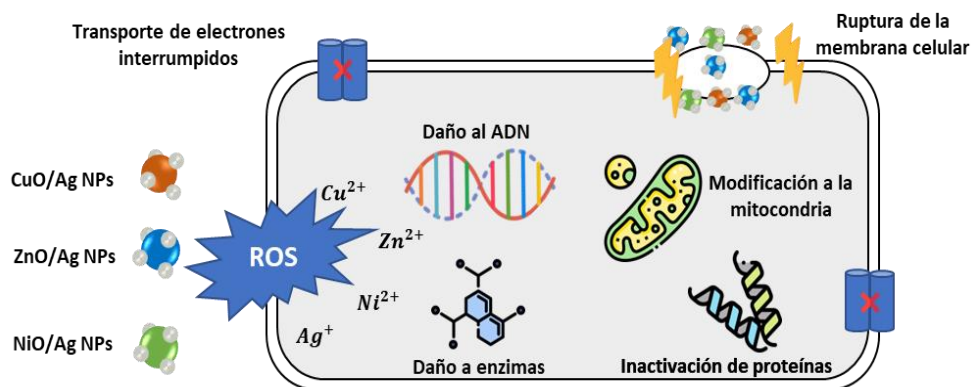


Figura 2.20. Liberación de ROS en bacterias

2.12 Técnicas de caracterización

La caracterización de materiales comprende el estudio de propiedades físicas, químicas y estructurales bajo condiciones determinadas, lo que permite la obtención de información cualitativa y cuantitativa del material, es decir, podemos llegar a conocer su composición química, estructura, morfología, topología, propiedades mecánicas y selectividad catalítica. Las técnicas que se van a trabajar en el presente trabajo de investigación son: Difracción de rayos X (XRD, por sus siglas en inglés), microscopía electrónica de barrido (SEM, por sus siglas en inglés), espectroscopia por dispersión de energía de rayos X (EDS, por sus siglas en inglés) y microscopía electrónica de transmisión (TEM, por sus siglas en inglés).

2.12.1 Difracción de rayos X (XRD)

Esta técnica se basa en las interferencias ópticas que se producen cuando se hace incidir un haz de rayos X sobre el sólido de estudio. La interacción que existe entre el vector eléctrico de la radiación y los electrones que atraviesan el sólido difractan con ángulos que dependen de las distancias interatómicas. El intervalo de longitudes de onda de los rayos X comprende desde 10^{-6} nm hasta 10 nm. Sin embargo, la espectroscopia de rayos X convencional se limita generalmente entre los 0.01

nm y 2.5 nm; el resultado obtenido da lugar a un patrón de intensidades que se puede interpretar a partir de la ley de Bragg.[155] (Figura 2.21)

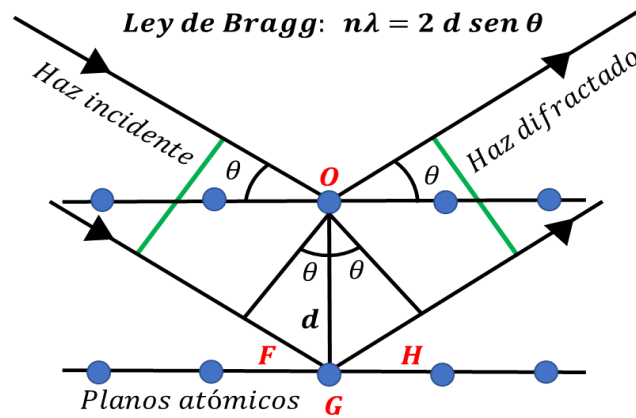


Figura 2.21. Representación Ley de Bragg

La ley de Bragg tiene como principio determinar la difracción como una reflexión de los rayos X originada por “espejos imaginarios” formados por planos de átomos de la red cristalina, en donde la intensidad de los rayos reflejados depende del orden de difracción (n), la distancia interplanar del cristal (d), el ángulo de incidencia (θ) y la longitud de onda de los rayos X (λ).

$$n * \lambda = 2 * d * \text{sen } \theta \quad (\text{Ecuación 3})$$

2.12.2 Microscopía electrónica de barrido (SEM)

La microscopía electrónica se basa en utilizar un haz de electrones acelerados que inciden sobre la muestra formando una imagen aumentada de la misma. Para lograr esto se emplean lentes electromagnéticas que son capaces de dirigir y enfocar el haz de electrones con un sistema de vacío en el interior del microscopio. Esta técnica aporta información sobre la morfología y estructura de la superficie. En el microscopio electrónico de barrido la muestra generalmente es recubierta con una capa de carbón o una capa delgada de un metal como el oro para darle propiedades conductoras a la muestra en caso de que la muestra presente propiedades conductoras, no es necesario recubirla.[156] Posteriormente es barrida con los electrones acelerados que viajan a través del cañón y el detector mide la cantidad de electrones enviados, siendo capaz de obtener imágenes que dan la apariencia en estar en 3D por la gran profundidad de campo, logrando resoluciones de hasta 0.7 nm en equipos de emisión de campo. (Figura 2.22). Existen dos señales para formar una imagen en un SEM: los electrones secundarios y los electrones retrodispersados. Los primeros se caracterizan por ser de baja

energía y se generan al momento en que el haz de electrones incidente choca con los átomos de la muestra; mientras que los electrones retrodispersados son electrones del haz incidente que han colisionado con átomos de la muestra y han sido reflejados. Además de esto, el análisis de SEM se considera una técnica no destructiva, es decir, los electrones que llegan a la muestra no son capaces de causar pérdida de la muestra lo cual es una ventaja ya que permite analizar el mismo material varias veces.[157]

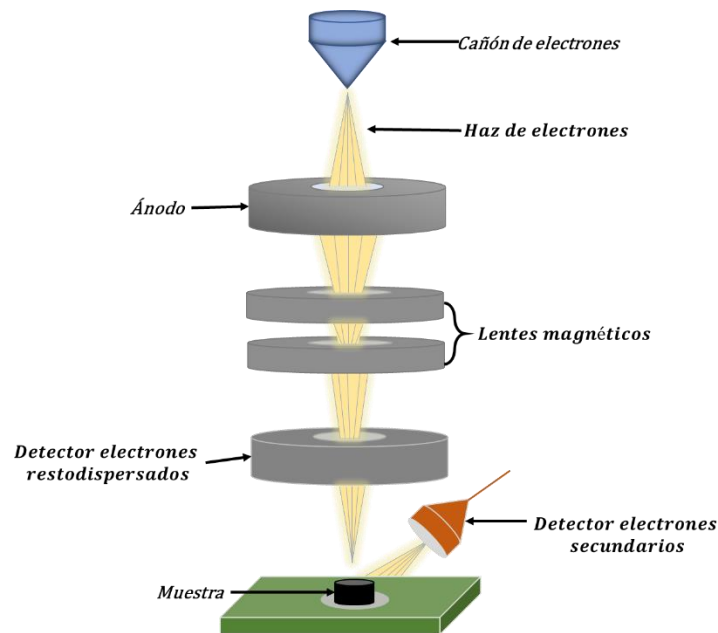


Figura 2.22. Esquema de microscopía electrónica de barrido

2.12.3 Espectroscopía por Dispersión de Energía de Rayos X (EDS)

Es considerada una de las técnicas semicuantitativas más versátiles a la hora de evaluar la composición química elemental de un sólido. Se basa en la separación de rayos X característicos producidos por la interacción entre el haz electrónico y la muestra de acuerdo con su energía, mediante el uso de un detector cristalino de estado sólido, proporcionando información de la composición química elemental de la muestra; la detección se puede emplear para cualquier elemento que tenga una masa igual o mayor al boro. Esquema de generación de rayos X característicos al interaccionar el haz de electrones con la muestra. (Figura 2.23).

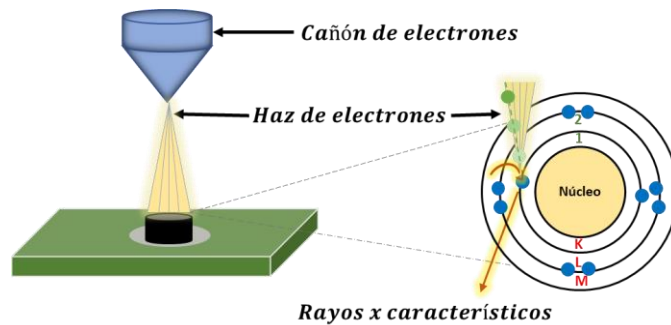


Figura 2.23. Esquema de generación de rayos X característicos al interaccionar el haz de electrones con la muestra

2.12.4 Microscopía electrónica de transmisión (TEM)

Se fundamenta en la proyección de un haz de electrones sobre una muestra delgada que se sitúa en una columna de alto vacío, los electrones que atraviesan la muestra y chocan con los átomos de la misma dan como resultado la proyección de planos en dos dimensiones con la capacidad de determinar los parámetros de cristalinidad de la muestra e información sobre el tamaño y estructura de las nanopartículas; logrando obtener miles de aumentos con distintas intensidades de gris que corresponden al grado de dispersión de los electrones incidentes. Con esta técnica es posible observar zonas de la muestra desde 10 hasta 3×10^6 aumentos con una resolución espacial de hasta 40 pm (1pm = 10^{-12} m), brindando información cualitativa y cuantitativa de los volúmenes de muestra en un rango de uno a un millón de micras cúbicas, se pueden obtener mapas de distribución de elementos químicos y se tiene la capacidad de observar la ultraestructura de células, virus y bacterias.

Sin embargo, la alta energía del haz de electrones limita su uso, ya que no todas las muestras lo resisten. Además, la preparación de la muestra es compleja, puesto que esta debe de ser lo suficientemente delgada para permitir el paso de los electrones, afectando lo más mínimo a su estructura original, otra desventaja es que las imágenes obtenidas son monocromáticas y planas, siendo necesario, en algunos casos, un tratamiento posterior mediante análisis de imágenes con un software especializado (Figura 2.24).

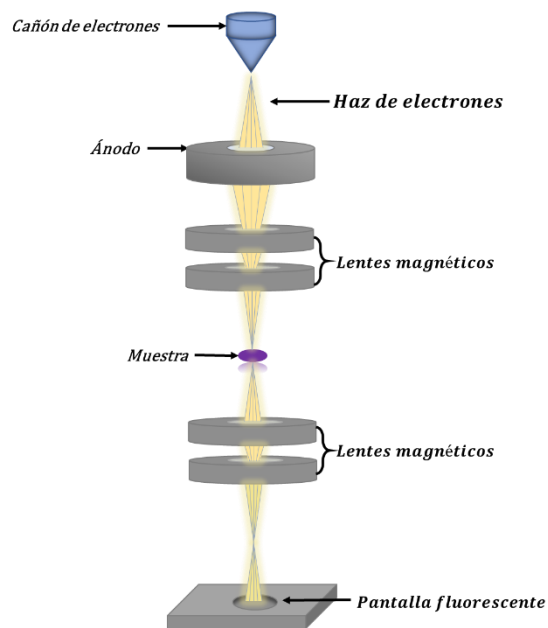


Figura 2.24. Esquema de microscopía electrónica de transmisión

2.13 Estudios antibacterianos

2.13.1 Método del antibiograma disco-placa

El método de antibiograma de disco-placa o también conocido como Kirby-Bauer (Figura 2.25) es empleado para determinar la sensibilidad bacteriana a los antimicrobianos. El proceso consiste en colocar discos de papel secante impregnados con diferentes antibióticos o sustancias inhibitorias en la superficie de agar en una caja Petri previamente inoculadas con el microorganismo de interés. Al entrar en contacto con el agar húmedo el antibiótico difunde radialmente a través del espesor del agar a partir del disco formándose un gradiente de concentración. Transcurridas de 18-24 horas de incubación los discos aparecen rodeados por una zona de inhibición.[158] Teniendo en cuenta que entre mayor sea el halo de inhibición, mayor será la sensibilidad de la bacteria al material que se está empleando como inhibidor. Al halo de inhibición generado entre las bacterias en crecimiento y las inhibidas se le conoce como la concentración crítica; la cual es empleada para determinar la concentración mínima inhibitoria (MIC) que se obtiene por los métodos de dilución.

A continuación, se presentan los pasos para determinar antibiograma de disco-placa en *Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Enterobacterias* y bacilos Gram-negativos no fermentadores:

- **Preparación del inóculo:** Es una técnica básica que consiste en aislar los microorganismos presentes, a través de la siembra e incubación en medios de cultivos artificiales. La selección del medio de cultivo utilizado para realizar el cultivo primario se basa en el conocimiento del diagnóstico presuntivo del paciente, sitio de recolección de la muestra y en la fisiología de

las bacterias u hongos que podrían estar causando la infección[159] esto puede llevar desde algunas horas 18 a 48 horas en la mayoría de las bacterias. Una vez que se tenga el inóculo se toman de 3-5 colonias y se siembran en 5 mL de medio líquido también conocido como caldo de cultivo. Se incuban a 37°C. Finalizado este tiempo se consigue superar una turbidez del 0.5 en la escala de McFarland.

- **Inoculación de las placas:** Una vez preparado el inóculo en cajas Petri con Agar Mueller Hinton se introduce un escobillón dentro de la suspensión y posteriormente se deslizan por la superficie del agar tres veces, rotando la placa unos 60° cada vez y finalmente se pasa por la periferia del agua para conseguir una siembra uniforme. Es recomendable dejar secar hasta 5 minutos antes de colocar los discos.
- **Dispensar los discos:** Una vez que los discos se encuentren impregnados con el inhibidor que se quiere evaluar se colocan sobre el agar asegurando que estén perfectamente adheridos a la superficie; no deben situarse a menos de 15 mm del borde de la placa y deben estar distribuidos de forma que no se produzca superposición de los halos de inhibición.[158] Una vez colocados los discos se incubará por un periodo de 24 horas a 37°C para asegurar la ausencia de resistencia.
- **Lectura de los resultados:** Finalizadas las 24 horas con una regla se mide el halo de inhibición por el reverso de la placa; cuando hay colonias dentro del halo de inhibición es indicativo de la presencia de mutantes resistentes y/o, contaminantes, poblaciones heterogéneas o cultivos mixtos; por lo que sería prudente volver a realizar la prueba de sensibilidad.

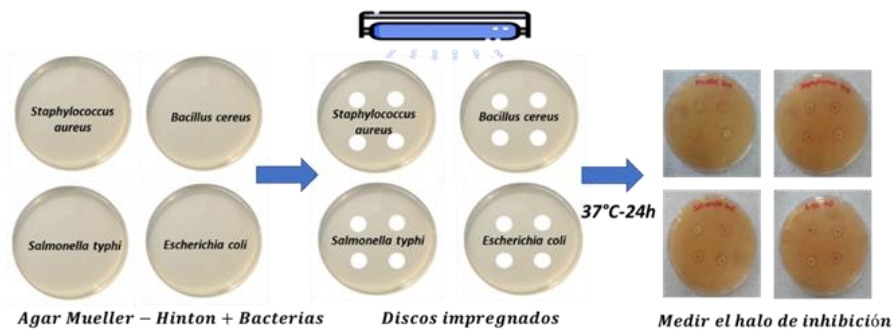


Figura 2.25. Método de antibiograma disco-placa

A partir de esta técnica es posible obtener una clasificación basada en la respuesta in vitro de un microorganismo frente a un agente antimicrobiano:

1. **Susceptibles:** Implica que los aislamientos son inhibidos por lo que generalmente se puede lograr concentraciones de agente antimicrobiano cuando la dosis recomendada para tratar el sitio de infección es usado.[160]
2. **Intermedio:** Hace referencia a los microorganismos que no se inhiben a concentraciones habitualmente alcanzadas en sangre/tejidos del correspondiente antimicrobiano, o a aquellos microorganismos en los que existen mecanismos de resistencias específicos para el agente estudiado en los que no ha habido una adecuada respuesta clínica cuando se ha usado como tratamiento el correspondiente antimicrobiano.[161]
3. **Resistente:** Una categoría que implica que los aislamientos no se ven inhibidos por lo que generalmente se pueden lograr concentraciones del agente con esquemas de dosificación normales y/o que demuestren diámetros de zona que caen en el rango de los mecanismos específicos de resistencia microbiana.[162]

2.13.2 Concentración mínima inhibitoria

La concentración mínima inhibitoria, es la concentración más baja en ($\mu\text{g}/\text{mL}$) a la cual se inhibe el crecimiento de una determinada cepa bacteriana. Es considerado un método cuantitativo en donde se prueba la sensibilidad y ayuda a determinar qué tipo o qué concentración de antibiótico es más eficaz; lo cual ayudará a la elección del mejor material y aumentará la probabilidad de éxito.

Según las normas de interpretación que ha establecido el Instituto de Estándares de Laboratorio Clínico (Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), por sus siglas en inglés); dependiendo de la reacción que se obtenga de la cepa bacteriana se puede interpretar como: Sensible (S), Intermedio (I) o Resistente (R), seguido del valor de la MIC; en donde "sensible" significa que el crecimiento del microorganismo está inhibido a la concentración sérica del fármaco que se alcanza utilizando la dosis habitual; "intermedia" significa que el crecimiento del microorganismo está inhibido solamente a la dosis máxima recomendada y "resistente" significa que el microorganismo es resistente a los niveles séricos que se alcanzan normalmente.

Para la determinación de la MIC generalmente se preparan una serie de tubos con medio de cultivo líquido y la bacteria de interés, los cuales van a contener diluciones seriadas al doble del material antibacteriano que se quiera evaluar; generalmente se utilizan 100 μL de medio de cultivo, 100 μL de inóculo y la dilución respectiva del material que se quiere evaluar. Una vez terminado este proceso se incuban por un periodo de 24 horas a 37°. [163] Finalizado el tiempo se adicionarán 10 μL de una solución 10 mM de cloruro de p-iodonitrotetrazolium en donde una coloración rojiza indica crecimiento celular; si permanece incoloro significa que el nanomaterial fue efectivo.

Se utiliza el caldo Mueller-Hilton ya que es el medio recomendado para las pruebas de sensibilidad de patógenos aerobios o facultativos de crecimiento rápido. La reproducibilidad de los resultados de las pruebas de sensibilidad utilizando diferentes lotes de este medio es buena; tienen bajo contenido de inhibidores de sulfonamidas, trimetoprima y tetraciclina y permite el crecimiento de la mayoría de los gérmenes patógenos. Además, se han acumulado un gran número de resultados y experiencias utilizando este medio para las pruebas de sensibilidad.[164] Adicionalmente es posible determinar que el método de microplaca es económico, tiene reproducibilidad y es 30 veces más sensible que otros métodos utilizados; por otro lado requiere una pequeña cantidad de muestra y deja un registro permanente.[165] (Figura 2.26)

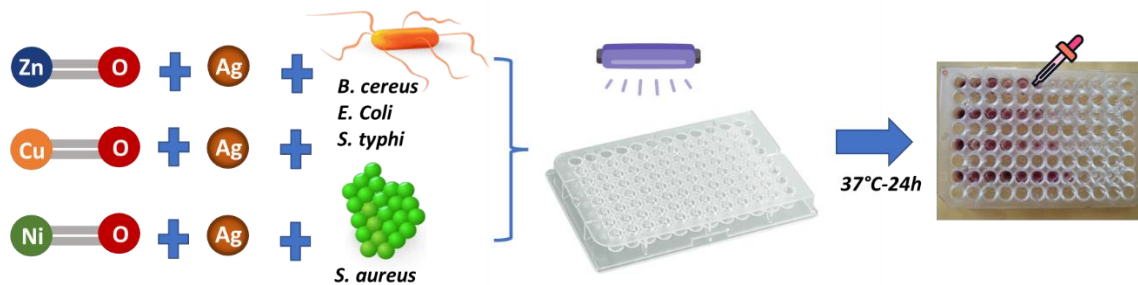


Figura 2.26. Esquema de la metodología para determinar la concentración mínima inhibitoria

2.13.3 Densidad óptica: Ley de Beer-Lambert

La densidad óptica es una técnica empleada en la química analítica para determinar la concentración de una sustancia en una solución; esta técnica se basa en la ley de Beer-Lambert, la cual determina que la cantidad de luz absorbida por una solución es proporcional a la concentración de la sustancia en la solución y a la longitud del trayecto recorrido por la luz a través de la solución.[166] En general, cuanto mayor sea la densidad de población bacteriana en una muestra, mayor será la absorción de luz y, por lo tanto, mayor será la densidad óptica. La DO se mide comúnmente en una longitud de onda de 500 a 600 nm utilizando un espectrofotómetro. (Figura 2.27)

La ley de Beer-Lambert se puede expresar matemáticamente como:

$$A = \varepsilon * c * b \quad (\text{Ecuación 4})$$

Donde:

A= Absorbancia de la luz por la solución

ϵ =Coeficiente de extinción molar

c =Concentración de la sustancia en la solución

b =Trayecto recorrido por la luz a través de la solución

La densidad óptica es simplemente el logaritmo negativo de la transmitancia de la luz a través de la solución, y se define como:

$$DO = -\text{Log}(T) \quad (\text{Ecuación 5})$$

Donde T es la transmitancia de la luz a través de la solución.

En la práctica la densidad óptica es utilizada para medir la cantidad de luz absorbida por una solución a una longitud de onda específica y se compara con la cantidad de luz adsorbida por una solución de referencia o concentración conocida. La diferencia entre estas dos absorbancias se emplea para determinar la concentración de la sustancia en la muestra desconocida a partir de la ley de Beer-Lambert.[167]

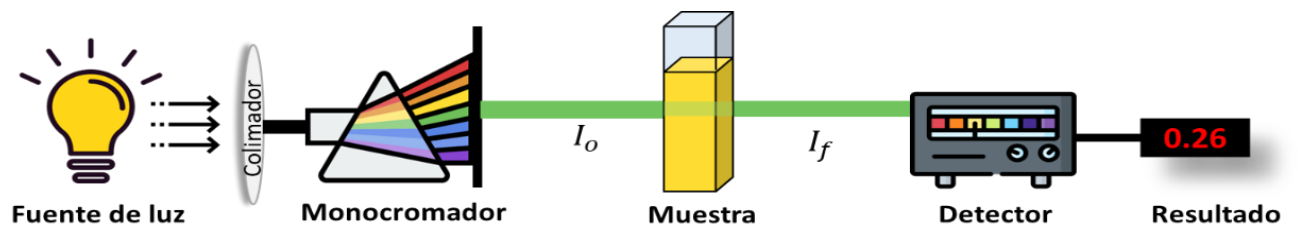


Figura 2.27. Esquema de densidad óptica

3 JUSTIFICACIÓN

Las características biológicas del agua son de gran importancia en el control de enfermedades causadas por microorganismos patógenos. Las consecuencias potenciales de la contaminación microbiana para la salud son tales que su control debe ser objetivo, primordial y nunca debe verse comprometido. La presencia o aumento de virus, bacterias, parásitos y hongos en el agua se da por efecto directo o indirecto de cambios en el medio ambiente y en la población como lo puede ser urbanización no controlada, pobreza, migración de personas, crecimiento industrial y disposición inadecuada de excretas.[168] Una vez en el agua, pueden representar un riesgo para la salud humana al causar enfermedades transmitidas como el cólera y la fiebre tifoidea.

Las plantas de tratamiento de agua utilizan productos químicos y filtración para eliminar la mayor cantidad posible de microorganismo. Sin embargo, muchos de estos patógenos son resistentes a varias clases de antimicrobianos, siendo resistentes a los métodos antibacterianos convencionales disponibles dejando escasas alternativas para el tratamiento de las infecciones causadas por ellos, la mayoría de las veces muy graves. Por tal motivo, la síntesis de nanopartículas metálicas es una opción para la destrucción de los contaminantes empleando la radiación y un catalizador con el objeto de formar radicales hidroxilos, los cuales posteriormente tendrán un efecto oxidante sobre los contaminantes químicos. En este proceso la oxidación tiene lugar directamente en la superficie de la partícula que se utiliza como catalizador o semiconductor.[169]

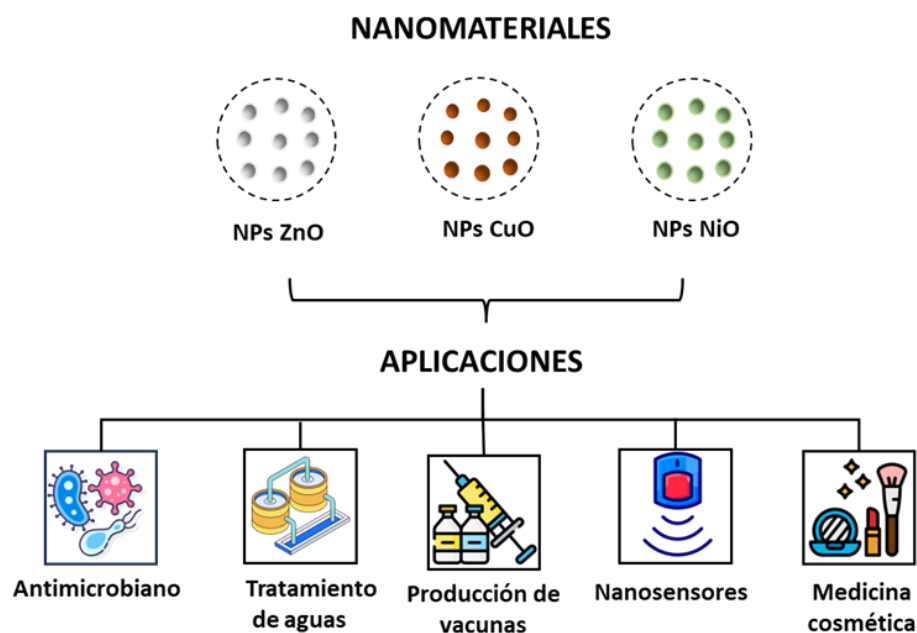


Figura 3.1. Aplicaciones de los nanomateriales

Al implementar los nanomateriales para la remediación ambiental, se pueden realizar NPs bimetálicas compuestas de dos elementos metálicos diferentes, las cuales, son de un mayor interés que las nanopartículas monometálicas, ya que la bimetalización puede mejorar las propiedades del metal individual y crear nuevas propiedades híbridas que pueden no alcanzarse con materiales monometálicos. La nanotecnología es una ciencia multidisciplinar que va incrementando su campo de aplicación con el paso de los años, ya que proporciona productos con nuevas propiedades fisicoquímicas que tienen diversas aplicaciones ambientales y en la agricultura. Con el transcurso del tiempo se ha profundizado en la investigación de nanomateriales que constituyen actuales y futuras aplicaciones de la nanotecnología en el sector industrial para la satisfacción de la demanda de bienestar y salubridad en recursos hídricos y alimenticios. Es así como surge la necesidad de dar solución a una de las principales problemáticas en México y Latinoamérica, la descontaminación de agua residual a partir de tecnologías de bajo costo y de fácil implementación en diferentes condiciones culturales y económicas. Es entonces pertinente realizar el estudio de nanomateriales basados en óxidos metálicos para la eliminación de bacterias patógenas. Ya que las nanopartículas de CuO, ZnO y NiO presentan propiedades antimicrobianas debido a la generación de ROS por las nanopartículas unidas a las células bacterianas, provocando un estrés oxidativo intracelular; lo anterior se corrobora en varios ensayos realizados como: peroxidación lipídica y la utilización de cepas indicadoras de un estrés oxidativo.[170]

Debido a las propiedades químicas y catalíticas de la plata metálica se ha comprobado que es efectiva para bacterias como *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* ya que bajo la presencia de luz reducen los iones de Ag^+ . [171] (Figura 3.2)

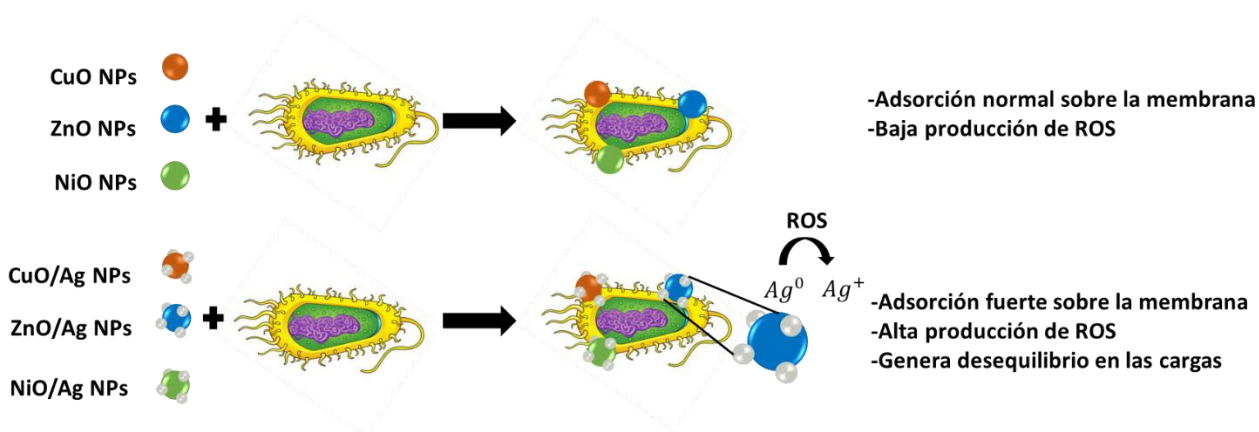


Figura 3.2. Interacción de las NPs para inhibir el crecimiento bacteriano

3.1 OBJETIVOS

Objetivo general

Desarrollar nanomateriales adecuados para la inhibición de *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* y *Salmonella typhi* presentes en agua, usando nanopartículas de ZnO, CuO y NiO dopadas con Ag activadas por luz UV.

Objetivos específicos

- Obtener nanomateriales de ZnO, CuO y NiO dopado con Ag y caracterizarlos por diferentes técnicas analíticas como XRD, TEM, HRTEM, SEM y EDS para inactivar agentes patógenos presentes en agua.
- Evaluar la energía de band gap del ZnO, CuO y NiO mediante su comportamiento espectroscópico y determinar la generación de especies reactivas de oxígeno.
- Estudiar la eficiencia antibacteriana del ZnO, CuO y NiO por medio del método de discos, concentración mínima inhibitoria y densidad óptica para determinar la eficiencia de los nanomateriales híbridos en estudios antibacterianos.
- Determinar la incidencia del dopaje de Ag sobre los nanomateriales en el tratamiento de las bacterias *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* y *Salmonella typhi*.
- Aplicar dichos nanomateriales para el tratamiento de agentes patógenos presentes en agua, mediante la optimización de las variables de un filtro.

3.2 HIPOTESIS

Es posible sintetizar nanopartículas de óxidos metálicos como el óxido de zinc, óxido de cobre y óxido de níquel para tener un efecto inhibitor significativo en el crecimiento bacteriano; en donde las nanopartículas puedan interactuar con las bacterias causando daños en su membrana celular, lo que causa disminución en la tasa de crecimiento bacteriano; además se espera que el dopaje con plata aumente la eficiencia antibacteriana y de esta manera poder aplicar a escala real.

4 METODOLOGÍA

En este capítulo se desglosa la metodología experimental empleada para la obtención de nanopartículas de óxido de zinc, óxido de cobre y óxido de níquel dopadas a diferentes porcentajes de plata (1.0,1.5,2.0,2.5 y 5.0 % w/w); utilizando como precursores metálicos el acetato de zinc ($Zn(CH_3COO)_2$), sulfato de cobre pentahidratado ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$), cloruro de níquel hexahidratado ($NiCl_2 \cdot 6H_2O$) y nitrato de plata ($AgNO_3$), una vez obtenidos los fotocatalizadores se emplearon diversas técnicas de caracterización las cuales permitieron identificar más a detalle las propiedades de los nanomateriales elaborados, tales como (XRD), (SEM), (EDS) y (TEM).

Posteriormente se determinan los diámetros de zona de inhibición (ZOI), concentración mínima inhibitoria (MIC) y la densidad óptica (OD) de las bacterias Gram positivas (*B. cereus* y *S. Aureus*) y Gram negativas (*E. coli* y *S. typhi*) como se aprecia en la Figura 4.1.

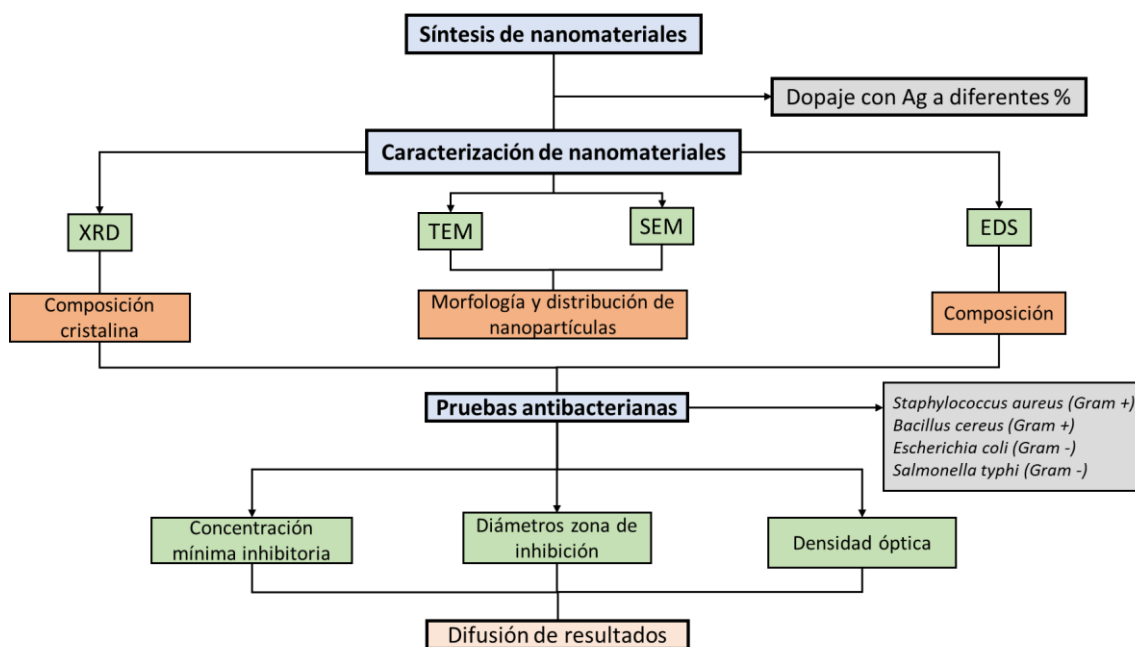


Figura 4.1. Diagrama de metodología experimental desarrollada en el proyecto

4.1 Síntesis de nanopartículas de óxido de zinc

La elaboración de nanopartículas de óxido de zinc se llevó a cabo siguiendo el procedimiento descrito por Wu[172], en donde como precursor se utilizó acetato de zinc ($Zn(CH_3COO)_2$) al 98% e hidróxido de sodio (NaOH) al 98% de calidad analítica. El proceso de síntesis por precipitación consistió en preparar una solución A de 0.1M (NaOH) y una solución B de 0.5M de ($Zn(CH_3COO)_2$); la cual se llevó a una temperatura de 50°C y posteriormente se agregó gota a gota a la solución B en la solución de hidróxido de sodio bajo agitación constante por un periodo de dos horas y media manteniendo la

temperatura de reacción en donde se dio la formación de una solución viscosa con un gran precipitado el cual se depositó al fondo del matraz. Una vez culminado el tiempo se realizó el lavado con agua destilada, se centrifugó y finalmente se filtró el precursor blanco, el material obtenido se secó a 70°C por un periodo de 8 h y se calcinó a 600°C durante 5 horas. El material se convirtió en un polvo fino con un mortero ágata el cual fue recuperado para su posterior caracterización. (Figura 4.2).

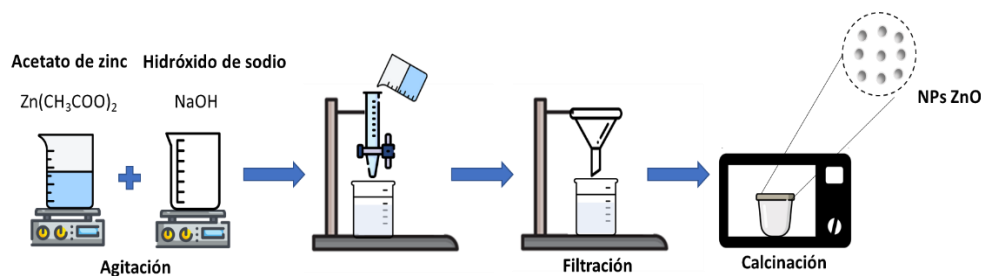
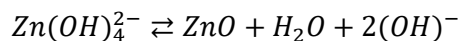
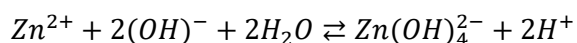
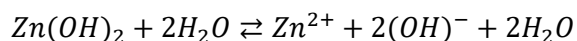
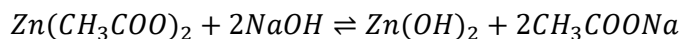


Figura 4.2. Esquema síntesis de nanopartículas de óxido de zinc

Las reacciones de síntesis que se llevan a cabo en el mecanismo de precipitación son las que se muestran a continuación, en donde el nitrato de zinc tiene la capacidad de convertirse en coloides de $Zn(OH)_2$ en presencia de una solución alcalina como lo es el hidróxido de sodio. Durante el proceso hidrotérmal el coloide formado anteriormente se disuelve en Zn^{2+} y $(OH)^-$ y, cuando estos alcanzan el grado de sobresaturación se da la formación del óxido de zinc.



4.2 Síntesis nanopartículas de óxido de cobre

Para la síntesis de óxido de cobre se utilizará como precursor el sulfato de cobre pentahidratado ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$), el cual se va a reducir con glucosa ($C_6H_{12}O_6$) en medio básico. La metodología se basó según lo propuesto por Cortez[173]. Para este procedimiento se elaboró una solución de sulfato

de cobre pentahidratado 0.44M, una solución de 0.47M de glucosa y 3.78M de una solución de hidróxido de sodio.

Una vez obtenidas las soluciones se agregó el hidróxido de sodio a la glucosa y se observó una solución ligeramente amarillenta, a la cual gota a gota se le fue adicionando la solución de sulfato de cobre pentahidratado en donde se observó que la solución pasó de un color aguamarina hasta una tonalidad negra. Finalizado el proceso de titulación, se llevó a una temperatura de 60°C por un periodo de 30 minutos. Terminado este tiempo se filtró y se secó a una temperatura de 50°C y se calcinó a una temperatura de 400°C por un periodo de 3 horas como se aprecia en la Figura 4.3

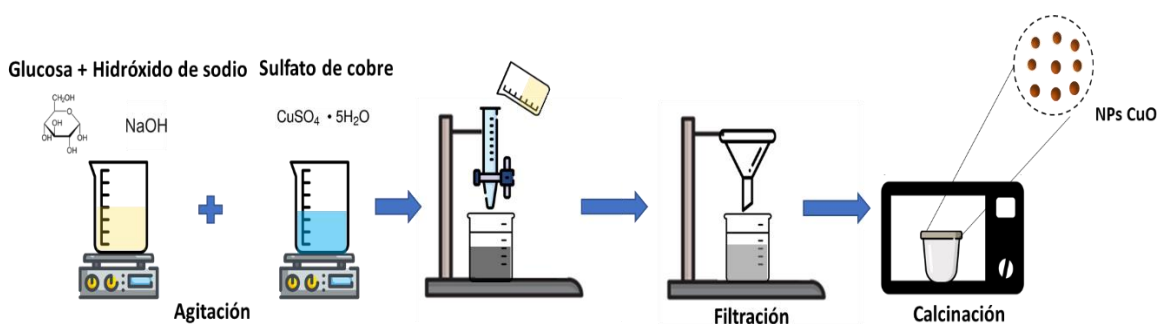
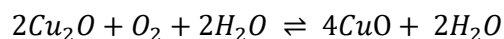
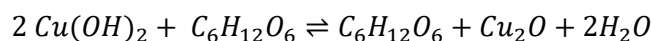
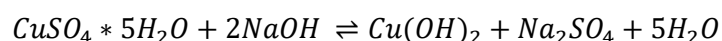


Figura 4.3. Esquema de síntesis de nanopartículas de óxido de cobre

La reacción de sulfato de cobre pentahidratado con hidróxido de sodio da como resultado el hidróxido de cobre, sulfato de sodio y agua, siendo una reacción de neutralización ácido-base. Posteriormente, la glucosa en presencia de hidróxido de cobre actúa como agente reductor y genera el óxido de cobre (I). Éste en presencia de oxígeno se oxida generando el óxido de cobre (II). Las reacciones que explican este proceso son las siguientes[174]:



4.3 Preparación nanopartículas de óxido de níquel

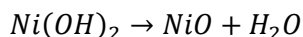
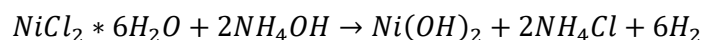
Las nanopartículas de óxido de níquel se obtuvieron por el método sónico descrito por Wang[175]. Como precursor del níquel se empleó el cloruro de níquel ($\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), para esto se preparó una solución 0.1M disuelta en etanol y agua en una proporción de 3:1. Posteriormente se adicionaron unas gotas de hidróxido de amonio (NH_4OH) hasta llegar a un pH entre 9-10. Esta solución se mantuvo

bajo agitación constante a una temperatura de a 50°C por 30 minutos, finalizado el tiempo, se llevó al ultrasonido por un periodo de 3 horas, posteriormente fue centrifugada y filtrada para finalmente ser sometida a un tratamiento térmico de 350°C durante 1 hora hasta la obtención de un polvo gris verdoso. (Figura 4.4)



Figura 4.4. Esquema de síntesis nanopartículas de óxido de níquel

La reacción del cloruro de níquel en presencia del hidróxido de amonio causa la precipitación del níquel formando un precipitado verde de sal básico de hidróxido de níquel, el cual, se disuelve en el exceso de amoníaco para que de esta manera, se genere el óxido de níquel, tal como se presenta en las siguientes reacciones químicas[176]:



4.4 Preparación nanopartículas de plata

Las nanopartículas de óxido de zinc, óxido de cobre y óxido de níquel se doparon empleando una solución de nitrato de plata $AgNO_3$ (0.1M) en 20 mL de agua desionizada como se presenta en la Tabla 4.1. Posteriormente se agitó durante 15 minutos para lograr una buena homogeneidad y finalmente se adicionó lentamente Na_2CO_3 (0.25 ml, 1,0 % w/v). La suspensión resultante fue filtrada y secada a temperatura ambiente. El producto resultante se transfirió a un crisol y se calcinó a 450°C durante 5 h.

Tabla 4.1. Dopaje de NPs con plata

Masa de NPs	Porcentaje de dopaje (%w/w)	Volumen de $AgNO_3$ mL (0.1M)
1 g	1	0.92
	1.5	1.38
	2	1.85

	2.5	2.31
	5	4.62

Cuando el nitrato de plata reacciona con el carbonato de sodio se forma carbonato de plata y nitrato de sodio; esta reacción se lleva a cabo gracias a que el carbonato de sodio es una base débil y el nitrato de plata es una sal ácida que se disocia en solución acuosa; generando la reducción de la plata en forma de precipitado como carbonato de plata (Figura 4.5).

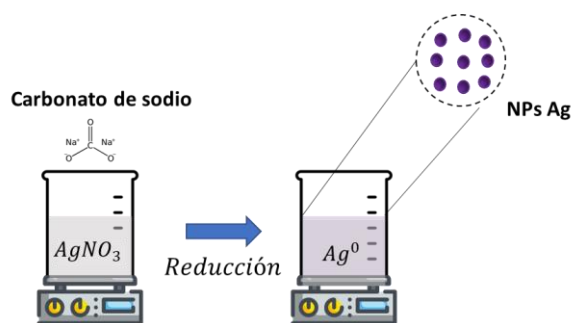


Figura 4.5. Esquema síntesis nanopartículas de plata por reducción

4.5 Caracterización

Difracción de rayos X: La estructura cristalina de los nanomateriales se estudió con la técnica de difracción de rayos X; en donde por medio de la ecuación de Debye-Scherrer se determinó el tamaño de cristal [177].

$$D = \frac{K\lambda}{\beta \cos\theta} \quad (\text{Ecuación 6})$$

Donde:

K es la constante de Scherrer que para partículas esféricas es de 0.89,

λ es la longitud de onda de los rayos X con un valor establecido de 0.154nm,

θ es el ángulo de difracción en radianes

β es el ancho completo medio máximo o FWHM por sus siglas en inglés; en este caso el ángulo de difracción en 2θ se evaluó en un rango de 10° a 80° con un voltaje de 40 kV a 30 mA.

Microscopía electrónica de barrido y espectrometría de energía dispersa: La microscopía electrónica de barrido (SEM, JEOL JSM-5900-LV), emplea un haz de electrones en vez de un haz de

luz para generar una imagen ampliada de la superficie de un material, lo que permite determinar las características superficiales de los sólidos; en cuanto a la composición química de cada uno de los nanomateriales se determina mediante un análisis químico elemental por espectroscopia de energía dispersa.

Microscopía electrónica de transmisión: Técnica empleada para determinar la estructura cristalina, así como dislocaciones y límites de grano. Se hace uso de esta técnica en donde un haz de electrones de alta energía se proyecta a través de la muestra y debido a las interacciones entre los electrones y los átomos se obtiene como resultado una imagen de alta resolución [178]. Para este proyecto se empleó el equipo (TEM, JEOL JEM-2010).

4.6 Propiedades eléctricas de los nanomateriales

Espectrofotómetro UV-Vis: Para la determinación de la banda prohibida se empleó un espectrofotómetro (Perkin Elmer, Lambda 2); en donde se mide la absorción de luz por un material sólido en diferentes longitudes de onda en donde se tienen fuentes de luz que emiten radiación en el rango visible y en el ultravioleta.[179]

El procedimiento empleado para medir la banda prohibida es el siguiente:

1. Se prepara una muestra sólida del material a analizar. La muestra debe ser lo suficientemente fina para que la luz pueda atravesarla.
2. Se coloca la muestra en el espectrofotómetro y se ajusta a la posición para que la luz pase a través de la muestra.
3. Seleccionar el rango de longitud de onda de interés en este caso fue de 200-900 nm
4. La fuente de luz emite radiación que pasa a través de la muestra y la cantidad de radiación absorbida por la muestra se mide con un detector.
5. Se registra la absorción de la radiación en función de la longitud de onda.
6. La banda prohibida se encuentra en la región donde hay una disminución significativa en la absorción de la radiación.

La amplitud y la posición de la banda prohibida se pueden calcular a partir del espectro de absorción. En general, una banda prohibida se puede determinar por una disminución abrupta en la absorción de la radiación que ocurre en un rango específico de longitudes de onda.

Espectroscopía de impedancia electroquímica (EIS): Es una técnica analítica empleada para determinar la conductividad iónica y electrónica de materiales en solución, películas delgadas o

superficies sólidas en contacto con un electrolito.[180] En esta investigación se empleó el espectrofotómetro ACM instruments de la siguientes manera:

1. Preparación de la muestra: Se preparó una muestra del material de interés para que tenga contacto con el electrolito (puede ser una película delgada depositada en un sustrato, una muestra sólida o una solución en un electrodo), en este caso fue una solución buffer Britton-Robinson.
2. Montaje del sistema. - Se coloca la muestra en una celda electroquímica y se conecta a un potencióstato para controlar el potencial y la corriente de la celda.
3. Pulir la muestra antes de realizar la medición. Este procedimiento se debe realizar varias veces para eliminar cualquier contaminante o adsorbato.
4. Medición de la impedancia: Se aplica un potencial o una corriente alterna en la muestra y se mide la respuesta de la corriente o del potencial. La frecuencia de la señal alterna varía de manera lineal o logarítmica entre un rango de frecuencias, y se registran los valores de impedancia en cada frecuencia.
5. Los datos de impedancia obtenidos se utilizan para determinar los parámetros electroquímicos de la muestra, como la resistencia iónica, la capacitancia y la constante dieléctrica. Esto se realiza mediante el ajuste de los datos de impedancia a un modelo matemático específico, como el modelo de circuito equivalente de Randles.

4.7 Estudios microbiológicos

La actividad antibacteriana de cada una de las nanopartículas fue evaluada en cuatro cepas bacterianas; dos Gram positivas (*Staphylococcus aureus* y *Bacillus cereus*) y dos Gram negativas (*Escherichia coli* y *Salmonella typhi*), las cuales se obtuvieron de la Universidad Nacional Autónoma de México y cada cepa fue sembrada en Caldo Mueller-Hinton (CMH) incubándose por un periodo de 24 h a 37 °C.

Método del antibiograma disco-placa: Esta técnica es empleada para evaluar la susceptibilidad de las bacterias Gram positivas (*S. aureus* y *B. cereus*) y Gram negativas (*S. typhi* y *E. coli*) frente a un agente antimicrobiano, en este caso las nanopartículas. Las placas de agar Mueller-Hinton fueron inoculadas con ayuda de un hisopo estéril con punta de algodón. Para ello, se dejó secar durante 3 minutos y posteriormente fueron colocados en discos de papel Whatman No. 1 de 6 mm impregnados en diferentes concentraciones (50, 100, 200 y 400 mg/mL). Una vez terminado el proceso cada una de las placas fue incubada por 24 horas a 37°C en presencia de luz UV, finalizado el tiempo se determinaron los halos de inhibición, registrándose el valor en mm (Figura 4.6)

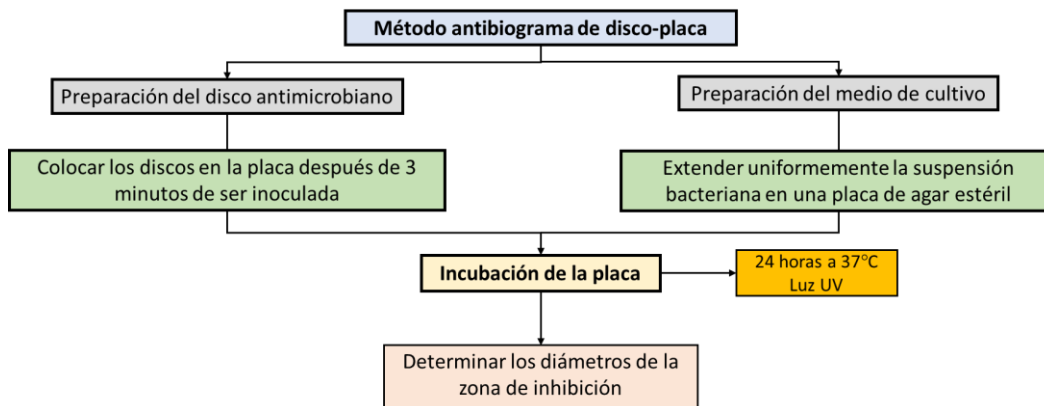


Figura 4.6. Diagrama para determinar la zona de inhibición

Concentración mínima inhibitoria (MIC): Para la determinación de la MIC, se empleó el método de dilución de caldo con modificaciones. Para ello, se utilizó una placa de microtitulación con 96 pocillos, en cada pocillo se agregaron 100 μL de CMH, 100 μL de inóculo y diferentes volúmenes de nanopartículas (1000, 750, 500, 250, 100, 50, 25 μL); cada una de ellas se incubaron durante 24 h a 37°C. Terminado el tiempo de incubación se adicionó 10 μL de una solución de 10 mM de cloruro de p-iodonitrotetrazolium en cada microplato, como indicador de crecimiento celular. Si se evidencia una coloración roja, indica un crecimiento celular de las bacterias de interés, mientras que si no se presentaba algún cambio indicaba muerte celular y de esta manera se podrá determinar la concentración mínima inhibitoria como se aprecia la Figura 4.7.

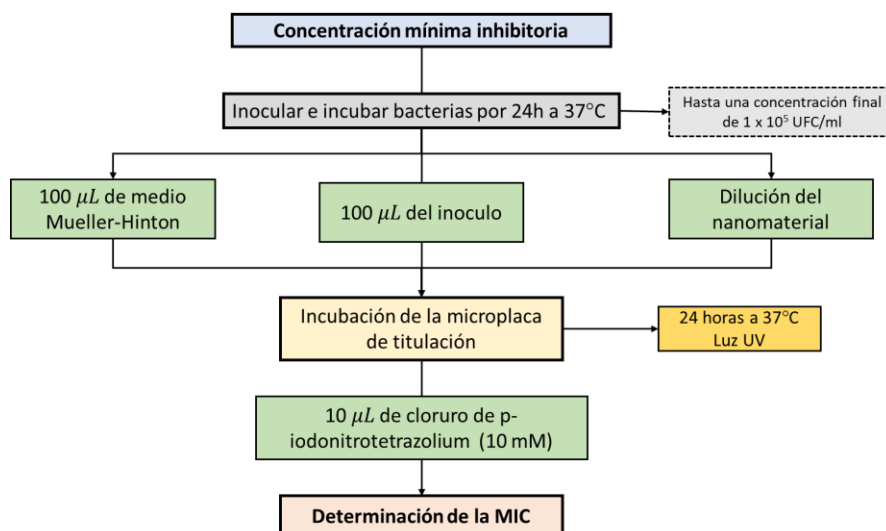


Figura 4.7. Diagrama para determinar la concentración mínima inhibitoria

Densidad óptica (DO): La densidad óptica brinda una medida de la cantidad de luz que una muestra de bacterias absorbe a una longitud de onda específica y se utiliza como una forma de estimar la

densidad de una población bacteriana en una muestra líquida. En este caso en la celda se adicionó 1 mL de caldo Mueller Hilton, 1 mL del inóculo y 1 mL del nanomaterial a una concentración de 1 mg/mL. Los resultados fueron monitoreados cada hora bajo la irradiación de luz UV por un periodo de 12 horas tomando una muestra cada hora a una absorbancia de 500 nm en un espectrofotómetro (Perkin Elmer UV/Vis Lambda 25) para cada nanomaterial. (Figura 4.8)

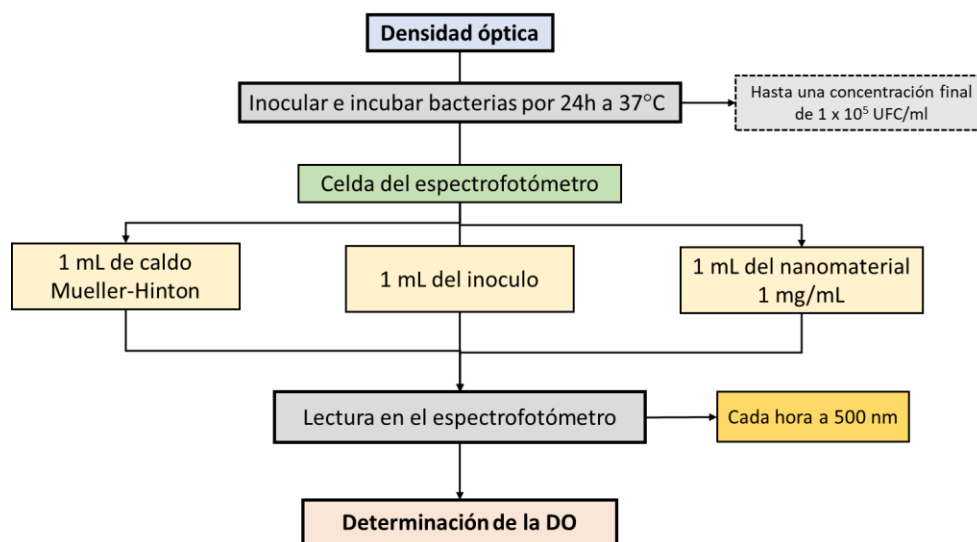


Figura 4.8. Diagrama para determinar la densidad óptica

4.8 Elaboración de un filtro con las nanopartículas metálicas

Para la elaboración del filtro se empleó una columna de vidrio de 10 cm de altura con los nanomateriales que presentaron una mayor eficiencia para inhibir el crecimiento bacteriano. Con el fin de evitar el desplazamiento del lecho en la parte inferior y superior se colocó un papel filtro Whatman No. 1. La alimentación de la columna se realizó por la parte superior con agua sintética contaminada con las bacterias que presentaron una mayor resistencia (*S. aureus* y *S. typhi*) y de esta manera poderse evaluar la variación entre las bacterias Gram positivas y Gram negativas.

En cuanto a la velocidad de filtración se llevó a cabo de dos maneras: La primera de ellas fue por caída libre en donde el caudal promedio fue de 0.0002 L/s y, con ayuda de una bomba de aire con una capacidad de hasta 20 L y 120 V en donde el caudal promedio fue de 0.4 L/s. Estos flujos se determinaron adicionando agua destilada en la columna de vidrio previamente acondicionada con el lecho y cronometrando el tiempo requerido para filtrar 0.5 L aplicando la siguiente ecuación:

$$Q = \frac{V}{t} \quad (\text{Ecuación 7})$$

Donde:

Q: Caudal filtrado (L/s)

V: Volumen de muestra filtrado (L)

t: Tiempo requerido para filtrar la muestra (s)

Este procedimiento se realizó empleando un soporte universal, se sujetó la columna para que se mantuviera estática y posteriormente, se adicionaron 2 gramos del nanomaterial para obtener un adecuado contacto entre el agua contaminada y el material a evaluar. Posteriormente fue colocado bajo la incidencia de luz UV evaluándose la remoción del contaminante. (Figura 4.9).

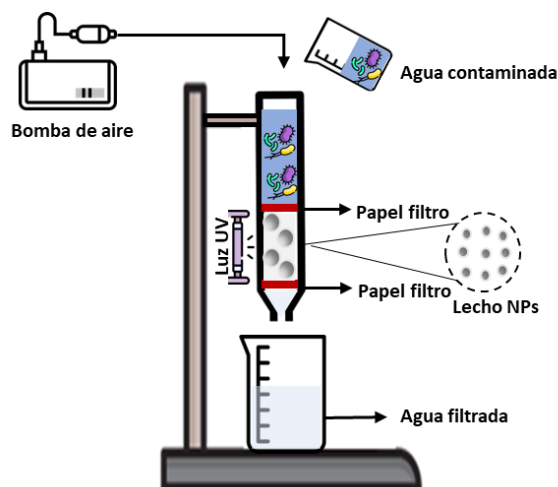


Figura 4.9. Esquema para la elaboración de un filtro con nanomateriales

Para determinar el porcentaje de remoción en un vaso de precipitado se adicionaron 0.5 L de agua destilada y se adicionó 1 mL de las bacterias previamente inoculadas. Posteriormente, se determinó la turbidez o densidad óptica a 500 nm en un equipo de UV-Vis Perkin Elmer Lambda 25. La medición fue realizada antes de que el agua ingresara al filtro y después de que saliera del filtro. Las dimensiones del filtro y lecho se presentan en la Tabla 4.2.

Tabla 4.2. Dimensiones del filtro y lecho empleando nanopartículas

Parámetro	Unidad	Dimensión
Filtro		
Diámetro interno		0.8
Diámetro externo	cm	1
Altura		10
Radio externo		0.5
Radio interno		0.4
Área Transversal	cm ²	0.50
Volumen	cm ³	5.02

Lecho		
Altura ZnOAg5%		0.9
Altura CuOAg5%	cm	1.2
Altura NiOAg5%		0.8
Volumen ZnOAg5%	cm ³	0.45
Volumen CuOAg5%		0.60
Volumen NiOAg5%		0.40

4.9 Diseño de experimentos para la optimización de variables de un filtro con nanopartículas metálicas

Para la optimización de variables del filtro se propone un diseño experimental 2^3 en donde se van a tener dos bloques y tres factores para poder evaluar de manera simultánea tres variables independientes, cada una con dos niveles diferentes obteniendo un total de 8 condiciones experimentales distintas para finalmente obtener una variable respuesta; esta variable es dependiente y se emplea para evaluar los efectos de las variables independientes en el experimento.

Los factores definidos para este modelo fueron los siguientes: dopaje de plata en el nanomaterial (A), tipo de bacteria (B) y caudal (C); mientras que los bloques se definieron como alto y bajo; en el caso del dopaje con plata se escogieron los nanomateriales que mejor eficiencia presentaron para inhibir el crecimiento; en cuanto a las bacterias se evaluó una Gram positiva (*S. aureus*) y una Gram negativa (*S. typhi*) siendo estas las que mayor resistencia presentaron y los caudales en caída libre y con ayuda de la bomba aire como se presenta en la Tabla 4.3:

Tabla 4.3. Factores experimentales para el diseño del filtro

Factor	Unidades	Tipo	Alto	Bajo
Dopaje con plata	%	Continuo	2.5	5
Tipo de bacteria	-	Continuo	Gram – (0)	Gram + (1)
Caudal	L/s	Continuo	0.0002	0.4

En cuanto a la representación gráfica del diseño 2^3 es una matriz de cubos que se utiliza para visualizar todas las posibles combinaciones de niveles de las tres variables independientes en el experimento (Figura 4.10). En donde se representan las ocho condiciones experimentales distintas que se estudian en el diseño. Cada cubo tiene tres caras, una para cada variable independiente, y cada

cara tiene dos niveles (alto y bajo). Por lo tanto, cada combinación única de niveles de las tres variables independientes se representa mediante un único cubo.

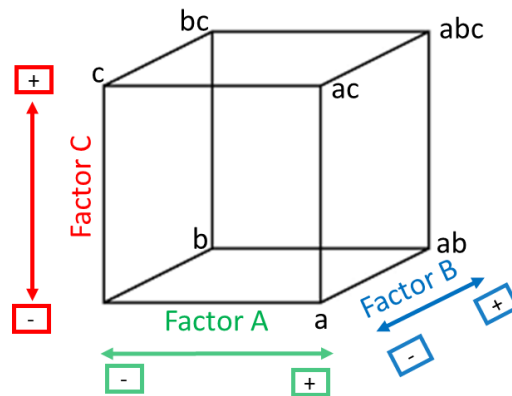


Figura 4.10. Representación gráfica del diseño factorial 2^3

Este diseño factorial se realizó para las nanopartículas de óxido de zinc, óxido de cobre y óxido de níquel empleando el software *Statgraphics Centurion XVI*; cada uno de los experimentos se realiza de manera aleatoria para reducir el sesgo experimental y aumentar la validez interna y externa de los resultados. Al asignar aleatoriamente las combinaciones se reduce la posibilidad de que los grupos difieran en características importantes que puedan influir en los resultados. De esta manera, los grupos son comparables y cualquier diferencia observada entre ellos se puede atribuir más confiablemente a la intervención experimental en lugar de otros factores. Es decir, la aleatorización aleja la influencia de estos factores y proporciona una base más sólida para inferir causalidad en los resultados del estudio; para este caso las combinaciones fueron las siguientes:

Tabla 4.4. Combinaciones experimentales del diseño factorial 2^3

Combinaciones	A	B	C	AB	AC	BC
(I)	-	-	-	+	+	+
A	+	-	-	-	-	+
B	-	+	-	-	+	-
Ab	+	+	-	+	-	-
C	-	-	+	+	-	-
Ac	+	-	+	-	+	-
Bc	-	+	+	-	-	+
Abc	+	+	+	+	+	+

5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 Síntesis de nanopartículas

Óxido de zinc: La obtención de nanopartículas de óxido de zinc se obtuvo como se describió en la metodología experimental por el método de precipitación empleando como precursor el acetato de zinc ($\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2$) al 98%, y para dopar el nanomaterial se utilizó una solución 0.1M de nitrato de plata AgNO_3 . Una vez obtenido el material, se calcinó a 450°C por un periodo de 5 horas obteniendo un polvo fino de color púrpura grisáceo.

Óxido de cobre: Para las nanopartículas de óxido de cobre se empleó como precursor sulfato de cobre pentahidratado ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), este se redujo con ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$) en medio básico; posteriormente se adiciono el hidróxido de sodio a la glucosa, de esta manera, el hidróxido de sodio se disocia en óxido de cobre y agua.

Óxido de níquel: Como precursor del níquel se empleó cloruro de níquel ($\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) en etanol. Para ello, se adicionaron unas gotas de hidróxido de amonio (NH_4OH) hasta llegar a un pH de 9 bajo agitación constante a 50°C durante 30 minutos. Posteriormente se sónico por un periodo de 3 horas. Finalizado este tiempo se centrifugó y se secó a 350°C por 1 hora para la obtención de las nanopartículas de níquel.

5.2 Técnicas de caracterización

5.2.1 Difracción de rayos X (XRD)

Para determinar las propiedades estructurales de los nanomateriales de óxido de zinc, óxido de cobre y óxido de níquel se caracterizaron mediante la técnica de XRD determinándose el tamaño promedio del cristal mediante la ecuación de Scherrer. Una vez obtenidos los resultados fueron comparados con los listados de tablas internacionales de Difracción de Polvo (PDF, por sus siglas en inglés).

Óxido de zinc

Las nanopartículas de óxido de zinc y óxido de zinc dopadas con plata se caracterizaron por medio de XRD, obteniendo los patrones de difracción de la Figura 5.1. Al compararlos con la carta cristalográfica de JCPDS No. 36-1451[181] como se evidencia en la Tabla 5.1 los resultados arrojados fueron congruentes, por tal motivo, fue posible determinar que los nanomateriales sintetizados son altamente cristalinos. Además, se pueden observar los planos cristalinos (100), (002), (101), (102), (110), (103), (200), (112), (201), (004) y (202). En cuanto al dopaje con plata se compararon los resultados obtenidos con el JCPDS No. 04-0783 [182] y los planos cristalinos que evidencia la

presencia de plata en el material fueron: (111), (200), (220), (311) y (222); los cuales se especifican en la Tabla 5.2.

Las nanopartículas de óxido de zinc sin dopar presentaron un pico dominante en $2\theta=36.93^\circ$ en el plano (101), los picos de intensidad media se pueden observar en $2\theta=31.74^\circ$ y 34.40° en los planos (100) y (002) respectivamente, los picos de baja intensidad se encuentran en $2\theta=47.53^\circ$, 56.59° , 62.86° , 66.37° , 67.95° , 69.09° , 72.18° y 76.98° los cuales surgen de los planos (102), (110), (103), (200), (112), (004) y (202); mientras que las nanopartículas de óxido de zinc dopadas con plata en las diversas relaciones presentaron picos similares al óxido de zinc sin dopar pero con la presencia de los planos cristalinos (111), (200) y (311); lo cual indica que su estructura cristalina es wurtzita hexagonal.

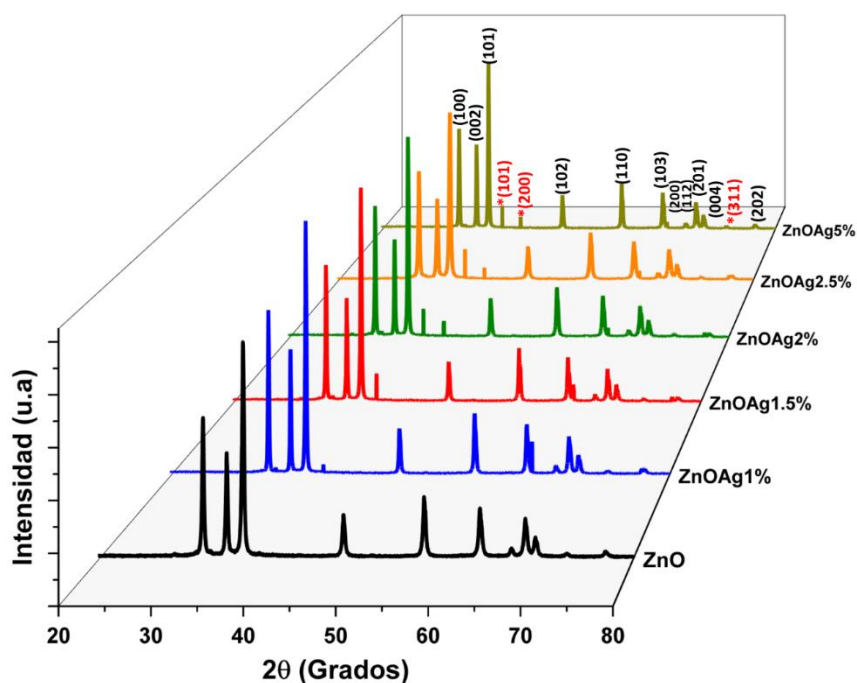


Figura 5.1. Difracción de rayos X. NPs de óxido de zinc y óxido de zinc dopado con plata

Tabla 5.1. Picos de difracción en 2θ y diferencia con el JCPDS estándar 36-1451

<i>hkl</i>	Pico de difracción 2θ [°]											
	ZnO	$\Delta 2\theta$	ZnOAg 1%	$\Delta 2\theta$	ZnOAg 1.5%	$\Delta 2\theta$	ZnOAg 2%	$\Delta 2\theta$	ZnOAg 2.5%	$\Delta 2\theta$	ZnOAg 5%	$\Delta 2\theta$
(100)	31.74	0.12	31.79	0.07	31.93	0.07	31.83	0.03	31.74	0.12	31.83	0.03
(200)	34.40	0.04	34.46	0.02	34.60	0.16	34.49	0.05	34.40	0.04	34.49	0.05
(101)	36.93	0.68	36.99	0.74	36.42	0.17	36.42	0.17	36.46	0.21	36.32	0.07

(102)	47.53	0.00	47.58	0.05	47.72	0.19	47.62	0.09	47.53	0.00	47.62	0.09
(110)	56.59	0.01	56.61	0.03	56.77	0.19	56.68	0.10	56.59	0.01	56.67	0.09
(103)	62.86	0.26	62.90	0.30	63.02	0.42	62.90	0.30	62.86	0.26	62.95	0.35
(200)	66.37	0.01	66.40	0.02	66.24	0.14	66.40	0.02	66.45	0.07	66.46	0.08
(112)	67.95	0.01	67.96	0.00	68.11	0.15	67.98	0.02	67.94	0.02	68.04	0.08
(201)	69.09	0.02	69.11	0.04	69.22	0.15	69.15	0.08	69.09	0.02	69.17	0.10
(004)	72.18	0.38	72.18	0.38	72.13	0.43	72.11	0.45	72.14	0.42	72.14	0.42
(202)	76.98	0.03	77.02	0.07	77.12	0.17	77.44	0.49	77.44	0.03	77.04	0.09

Tabla 5.2. Picos de difracción en 2θ para Ag en óxido de zinc y diferencia con el JCPDS 04-0783

<i>hkl</i>	Pico de difracción 2θ [°]									
	ZnOAg	$\Delta 2\theta$	ZnOAg	$\Delta 2\theta$	ZnOAg	$\Delta 2\theta$	ZnOAg	$\Delta 2\theta$	ZnOAg	$\Delta 2\theta$
	1%		1.5%		2%		2.5%		5%	
(111)	38.03	0.09	38.02	0.09	38.05	0.06	38.10	0.01	36.93	1.18
(200)	41.41	2.86	41.41	2.86	41.40	2.87	41.40	2.87	41.45	2.82
(311)	76.74	0.23	77.12	0.61	76.79	0.28	76.61	0.10	76.63	0.12

Óxido de cobre

Los difractogramas obtenidos para el óxido de cobre y sus correspondientes dopajes con plata, se compararon con el patrón estándar JCPDS No. 48-1548 [183] Figura 5.2 corresponde a la forma mineral del óxido de cobre tenorita monoclinica encontrándose en los planos cristalinos correspondientes como son: (-110), (002), (111), (-202), (020), (202), (-113), (-220), (311), (004) y (222); y para comprobar la presencia de plata dentro del nanomaterial se comparó con el JCPDS No. 04-0783 encontrando una correlación con los siguientes planos cristalinos (111), (200), (220), (311) y (222) al igual que en las nanopartículas de óxido de zinc.

Con los resultados de XRD del óxido de cobre sin dopar es posible determinar la presencia de dos picos dominantes en $2\theta=35.57^\circ$ y 38.79° correspondientes a los planos cristalinos (002) y (111). De igual manera se presentan otros picos, pero con una intensidad mucho más baja ubicados en $2\theta=32.51^\circ$, 48.32° , 53.57° , 58.39° , 61.60° , 68.12° , 72.45° , 75.01° y 75.27° en donde se encuentran los planos (-110), (-202), (020), (202), (-113), (-220), (311), (004) y (222); la presencia de plata dentro del nanomaterial de estudio se confirmó mediante la presencia de los picos (111), (200) y (311) como se describe en las Tablas 5.3 y 5.4.

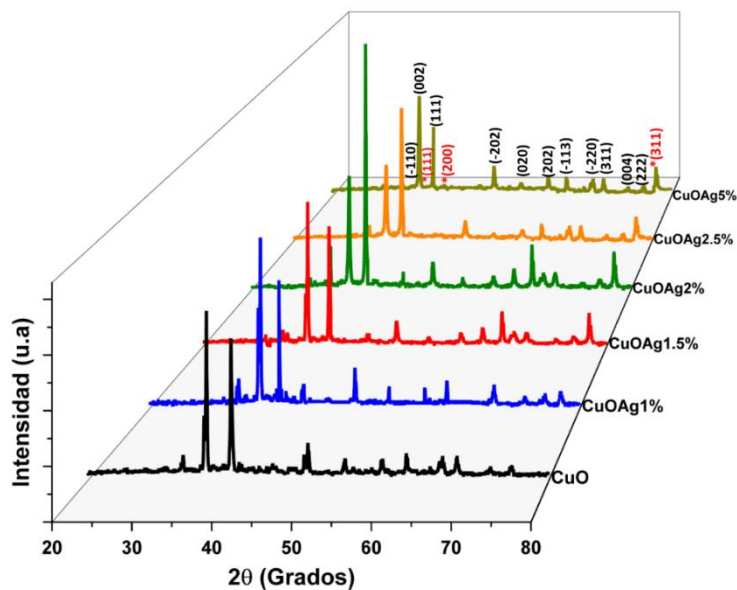


Figura 5.2. Difracción de rayos X NPs de óxido de cobre y óxido de cobre dopado con plata

Tabla 5.3. Picos de difracción en 2θ y diferencia con el JCPDS 48-1548

<i>hkl</i>	Pico de difracción 2θ [°]											
	CuOAg	$\Delta 2\theta$	CuOAg	$\Delta 2\theta$	CuOAg	$\Delta 2\theta$	CuOAg	$\Delta 2\theta$	CuOAg	$\Delta 2\theta$	CuOAg	$\Delta 2\theta$
			1%		1.5%		2%		2.5%		5%	
(-110)	32.52	0.16	32.54	0.18	31.91	0.45	32.62	0.26	32.71	0.35	32.55	0.19
(002)	35.58	0.19	35.27	0.12	35.28	0.11	35.55	0.16	35.55	0.16	35.55	0.16
(111)	38.80	0.21	38.19	0.40	38.79	0.20	38.75	0.16	38.64	0.05	38.32	0.27
(-202)	48.32	0.26	41.51	0.19	48.81	0.23	48.79	0.21	48.80	0.22	48.78	0.20
(020)	53.57	0.20	48.77	0.12	53.56	0.19	53.61	0.24	53.15	0.22	53.50	0.13
(202)	58.40	0.07	53.49	0.16	58.39	0.06	58.36	0.03	58.33	0.00	58.38	0.05
(-113)	61.60	0.22	58.49	0.17	61.61	0.23	61.61	0.23	61.61	0.23	61.60	0.22
(-220)	68.12	0.19	61.55	0.17	68.18	0.25	68.09	0.16	68.12	0.19	68.12	0.19
(311)	72.46	0.18	68.10	0.14	72.50	0.22	72.51	0.23	72.50	0.22	72.46	0.18
(004)	75.01	0.16	72.42	0.15	74.99	0.14	74.51	0.34	74.26	0.59	75.19	0.34
(222)	75.27	0.16	77.43	0.92	75.21	0.10	75.26	0.15	75.25	0.14	75.05	0.06

Tabla 5.4. Picos de difracción en 2θ para Ag en óxido de cobre y diferencia con el JCPDS 04-0783

<i>hkl</i>	Pico de difracción 2θ [°]									
	CuOAg 1%	$\Delta 2\theta$	CuOAg 1.5%	$\Delta 2\theta$	CuOAg 2%	$\Delta 2\theta$	CuOAg 2.5%	$\Delta 2\theta$	CuOAg 5%	$\Delta 2\theta$
(111)	37.57	0.54	37.58	0.53	37.56	0.55	37.59	0.52	37.41	0.70
(200)	41.51	2.76	41.53	2.74	41.07	3.20	41.13	3.14	41.35	2.92
(311)	77.43	0.92	77.40	0.89	77.39	0.88	77.35	0.84	77.43	0.92

Óxido de níquel

Para los nanomateriales de óxido de níquel y su correspondiente dopaje se determinó el difractograma obtenido corresponde a una estructura cúbica de óxido de níquel. En la Figura 5.3 se pueden observar los planos cristalinos (111), (200), (220) y (222) los cuales también pueden ser evidenciados en el patrón estándar JCPDS N°. 47-1049 [184] y de igual manera como en el óxido de zinc y cobre la presencia de plata correspondió a los picos correspondientes a los índices de Miller (111), (200) y (311), tal y como se muestra en la carta cristalográfica JCPDS No. 04-0783.

A partir de los difractogramas obtenidos en el óxido de níquel fue posible identificar dos picos dominantes en $2\theta=37.26^\circ$ y 43.29° correspondientes a los planos cristalinos (111) y (200), además un pico de intensidad media como lo es el plano (220) ubicado en $2\theta=62.88^\circ$ y finalmente uno de baja intensidad en $2\theta=79.17^\circ$ correspondiente al plano (222). De igual manera los picos correspondientes a la plata son (111), (200) y (311) como se especifica en la Tabla 5.5 y Tabla 5.6.

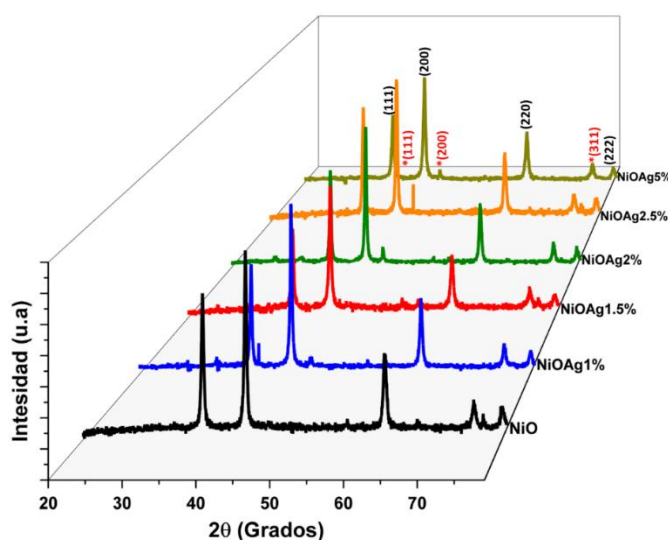


Figura 5.3. Difracción de rayos X NPs de óxido de níquel y óxido de níquel dopado con plata

Tabla 5.5. Picos de difracción en 2θ y diferencia con el JCPDS 04-0783

<i>hkl</i>	Pico de difracción 2θ [°]											
	NiOAg	$\Delta 2\theta$	NiOAg	$\Delta 2\theta$	NiOAg	$\Delta 2\theta$	NiOAg	$\Delta 2\theta$	NiOAg	$\Delta 2\theta$	NiOAg	$\Delta 2\theta$
	1%		1.5%		2%		2.5%		5%			
(111)	37.26	0.03	37.30	0.07	37.30	0.07	37.28	0.05	37.26	0.03	37.25	0.02
(200)	43.29	0.03	43.33	0.07	43.24	0.01	43.32	0.06	43.29	0.03	43.29	0.03
(220)	62.88	0.06	62.92	0.10	62.81	0.00	62.91	0.09	62.89	0.09	62.87	0.05
(222)	79.17	0.15	79.42	0.09	79.33	0.00	79.44	0.11	79.43	0.10	79.54	0.21

Tabla 5.6. Picos de difracción en 2θ para Ag en óxido de níquel y diferencia con el JCPDS 04-0783

<i>hkl</i>	Pico de difracción 2θ [°]									
	NiOAg	$\Delta 2\theta$	NiOAg	$\Delta 2\theta$	NiOAg	$\Delta 2\theta$	NiOAg	$\Delta 2\theta$	NiOAg	$\Delta 2\theta$
	1%		1.5%		2%		2.5%		5%	
(111)	38.05	0.05	38.32	0.21	38.09	0.01	38.12	0.01	38.15	0.04
(200)	46.93	2.66	46.91	2.64	46.27	2.00	46.30	2.03	46.25	1.98
(311)	76.45	0.05	76.72	0.21	76.43	0.07	76.37	0.13	76.38	0.12

5.2.2 Microscopía electrónica de barrido (SEM)

Esta técnica se utilizó con electrones secundarios para determinar la morfología de las nanopartículas. En el caso de las nanopartículas de óxido de zinc presentan formas esféricas y porosas altamente uniformes que se aglomeran en forma de racimos. Además, se detectó la presencia de puntos más claros en la superficie, lo que sugiere la posible presencia de plata en el material. Asimismo, se confirmó que la superficie de las partículas era continua y homogénea, lo cual, proporciona información valiosa sobre la estructura y composición de estas nanopartículas. En cuanto al óxido de cobre, es posible apreciar la morfología de las nanopartículas de óxido de cobre dopadas con plata al 1% en donde se observa que la forma característica de estos nanomateriales es esférica en forma de roseta, y presenta algunas irregularidades. Además de esto, se encuentran dispersas entre sí, pero se puede observar que cuentan con una alta porosidad. Las nanopartículas de óxido de níquel exhiben una estructura esférica uniforme y simétrica acompañada de una textura porosa que presenta canales. Estos canales desempeñan un papel crucial al posibilitar una interacción más amplia con el entorno y alentar las reacciones químicas en contextos fotocatalíticos como se aprecia en la Figura 5.4.

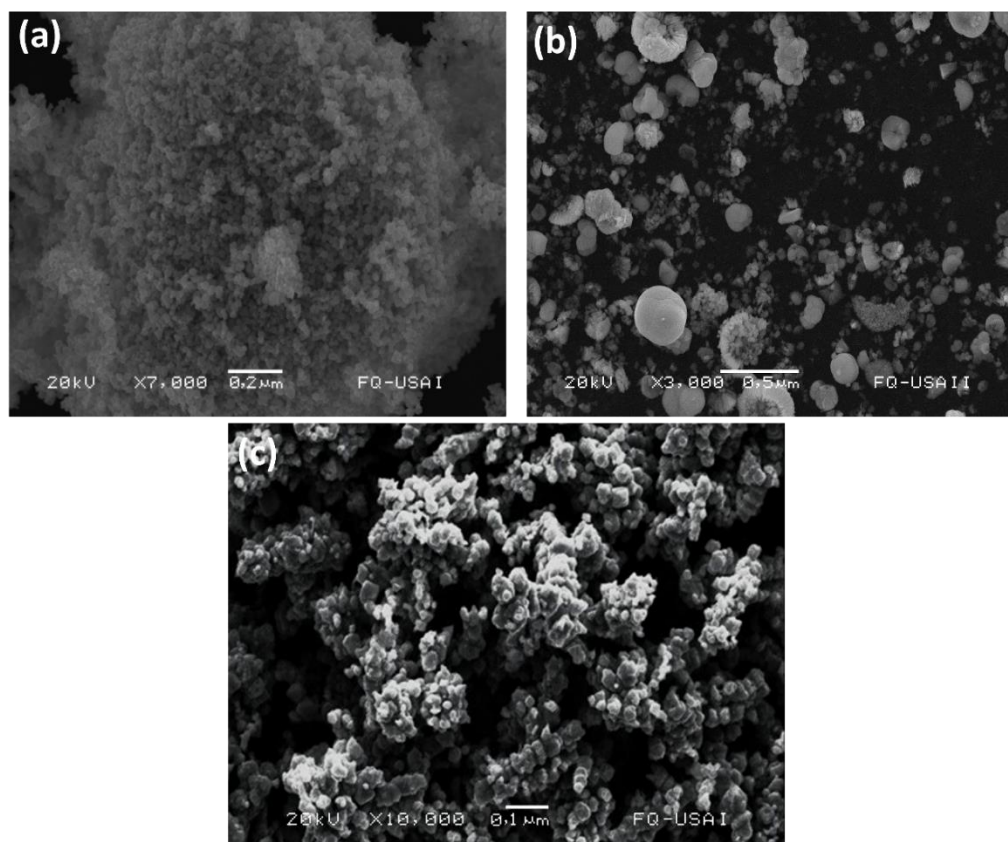


Figura 5.4. SEM a 20kV (a) ZnOAg1.5% a X7,000 (b) CuOAg1% a X3,000 (c) NiOAg2% a X10,000.

5.2.3 Espectroscopía por Dispersión de Energía de Rayos X (EDS)

En cuanto al análisis elemental del óxido de zinc, óxido de cobre y óxido de níquel fue posible corroborar la presencia de la plata en los diferentes nanomateriales sintetizados; los cuales se aproximan a los datos teóricos que se establecieron para el dopaje de los nanomateriales (1%, 1.5%, 2%, 2.5% y 5%). De igual manera con los resultados obtenidos en el mapeo de elementos evidenciamos la presencia de cada elemento dentro del nanomaterial como se aprecia en la Figura 5.5 y en la Tabla 5.7 se especifican los porcentajes de cada uno de los nanomateriales sintetizados.

Tabla 5.7. Resultados EDS nanopartículas de óxido de zinc, cobre y níquel.

NPs	Peso elemental (%)										
	Zn	O	Ag	NPs	Cu	O	Ag	NPs	Ni	O	Ag
ZnO	82.1	17.9	-	CuO	80.7	19.3	-	NiO	81.3	18.7	-
ZnOAg 1%	74.1	24.9	1.0	CuOAg 1%	79.3	19.9	0.7	NiOAg 1%	83.8	15.3	0.9
ZnOAg 1.5%	86.0	12.7	1.3	CuOAg 1.5%	75.2	23.2	1.6	NiOAg 1.5%	73.6	24.8	1.6
ZnOAg 2%	82.3	15.8	1.9	CuOAg 2%	76.7	23.3	2.1	NiOAg 2%	82.4	15.6	2.0
ZnOAg 2.5%	71.4	26.2	2.4	CuOAg 2.5%	73.1	24.6	2.3	NiOAg 2.5%	79.7	17.7	2.6
ZnOAg 5%	78.5	16.8	4.7	CuOAg 5%	74.1	21.1	4.8	NiOAg 5%	79.2	16.2	4.6

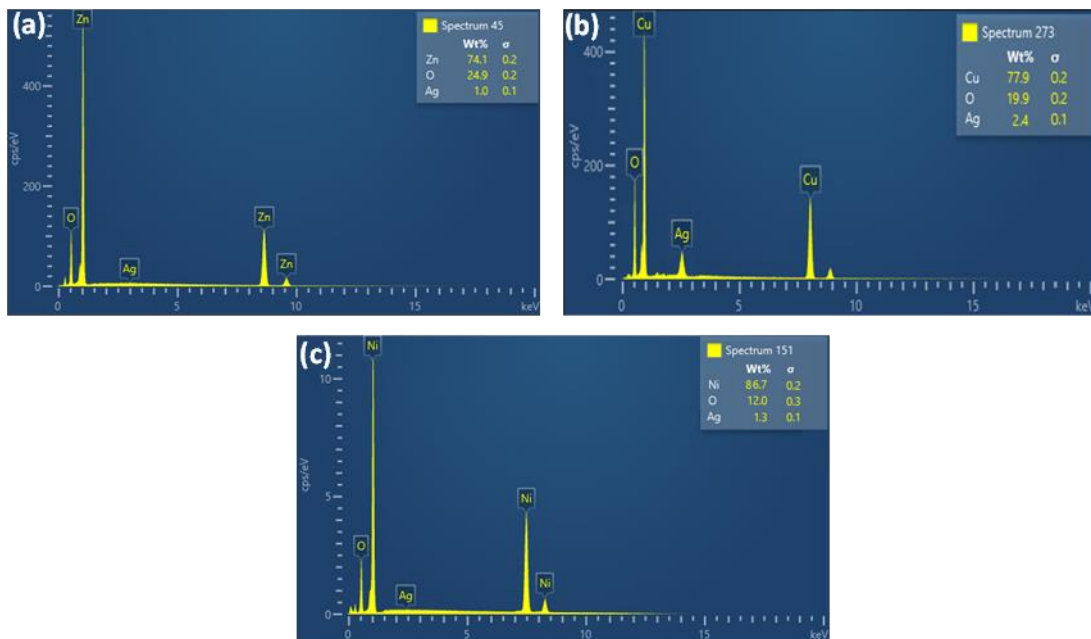


Figura 5.5. Análisis (EDS): (a) ZnOAg1%, (b) CuOAg2.5%, (c) NiOAg1.5%.

5.2.4 Microscopía electrónica de transmisión (TEM)

La microscopía electrónica de transmisión ayudó a determinar las fases y orientaciones cristalinas del material, así como en la morfología y cálculo del tamaño de partícula. El tamaño y forma obtenido en los nanomateriales depende del método de síntesis, en este caso se obtuvieron NPs de ZnO que se cristalizaron en wurtzita hexagonal. Es posible observar tamaños de partícula homogéneas aproximadamente de 60 nm. Para conocer un poco más sobre el nanomaterial se determinó el tamaño de partícula de todos los materiales sintetizados de óxido de zinc y su respectivo dopaje por medio de distribución normal gaussiana en donde se pudo establecer que existen partículas entre los 25-60 nm lo cual indica que efectivamente se encuentra trabajando con estructuras inferiores a los 100 nm.

En las nanopartículas de óxido de cobre se puede observar una superficie homogénea con formas ovaladas irregulares, con diámetros entre los 4-10 nm. Para determinar el tamaño promedio de los nanomateriales de óxido de cobre se recurrió a la distribución gaussiana normal, en donde se determinaron los tamaños de partícula entre los 4.5-7.5 nm; siendo las nanopartículas más pequeñas obtenidas en este trabajo.

Finalmente, la morfología del óxido de níquel dio como resultados aglomerados de forma irregular siendo algunos de tipo cúbicos, otros ovalados y otros esféricos. Las partes que se encuentran un poco

brillantes podemos decir que es la presencia de plata en el material, estableciéndose un tamaño de partícula del óxido de níquel para los 6 nanomateriales sintetizados y obteniéndose tamaños entre los 8-16 nm, en donde se puede observar que en promedio se tuvo un diámetro entre los 10 y 14 nm (Figura 5.6).

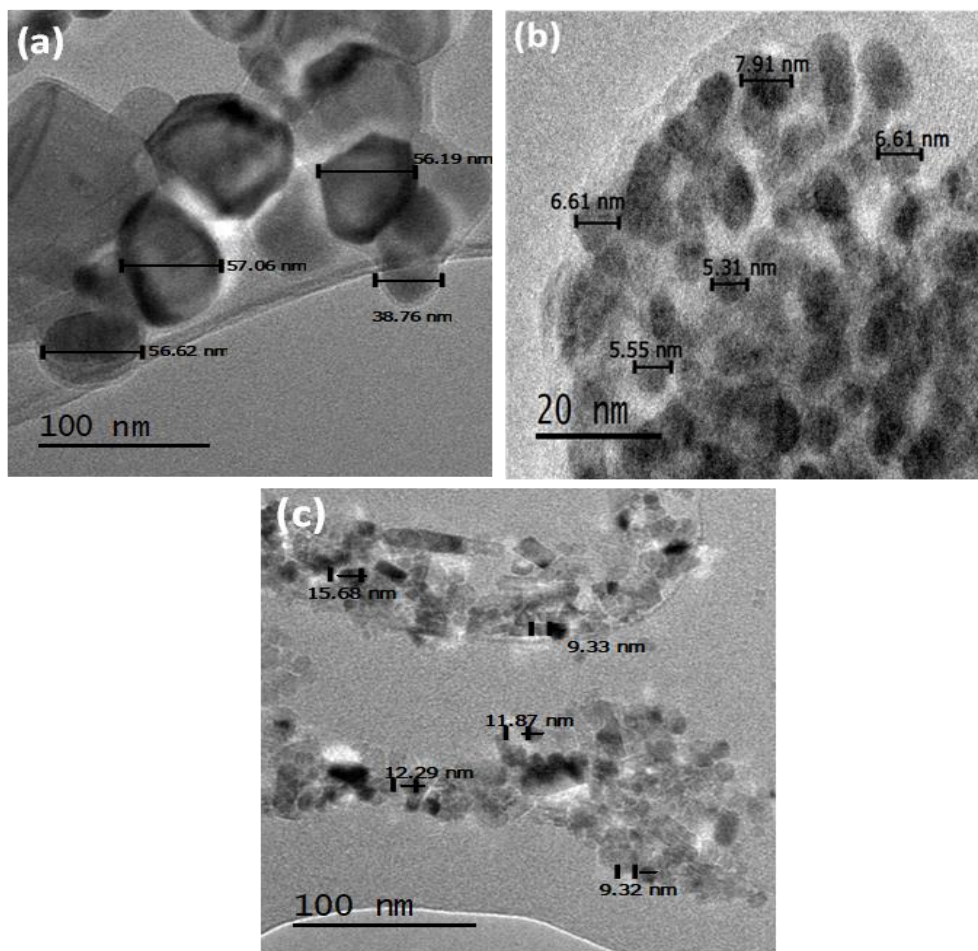


Figura 5.6. TEM: (a) ZnO (b) CuO (c) NiOAg1%

A continuación, en la Figura 5.7 se presentan las distribuciones gaussianas obtenidas para todos los nanomateriales sintetizados.

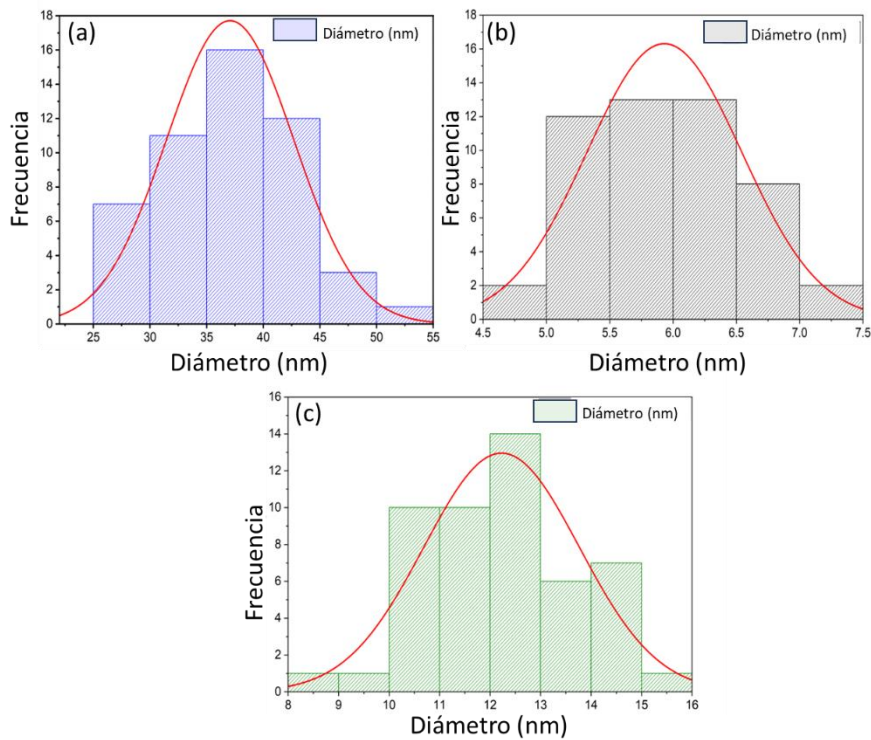


Figura 5.7. Histogramas de tamaño de partículas:(a) óxido de Zinc, (b) óxido de cobre, (c) óxido de níquel

5.2.5 Distancia interplanar

Las moléculas o átomos de un sólido cristalino se encuentran ubicadas en planos paralelos adyacentes y cada uno de estos planos tiene designado un índice de Miller. Estos índices están conformados por tres números los cuales indican las coordenadas de un vector en tres dimensiones (x, y, z), esta distancia entre planos paralelos cercanos es la distancia interplanar.

Para determinar esto se emplea la ley de Bragg dando como resultado la distancia interplanar en Armstrong Å , los valores calculados se presentan en las siguientes ecuaciones:

$$n * \lambda = 2 * d * \text{sen } \theta \quad (\text{Ecuación 8})$$

$$d = \frac{n * \lambda}{2 * \text{sen } \theta} \quad (\text{Ecuación 9})$$

Donde:

$$n=1$$

$$\lambda=1.541\text{\AA}$$

Con las imágenes obtenidas de HRTEM (Microscopía electrónica de transmisión de alta resolución) (Figura 5.8), se determinó la distancia interplanar de los nanomateriales de óxido de zinc sin dopar y dopados con plata, al comparar los resultados obtenidos con el patrón de difracción de L. Weber[185], se determinó la medida entre los planos es de 1.24\AA correspondiente a los índices de Miller (202) así como también se determina en la literatura. En cuanto al óxido de cobre se puede observar que la distancia interplanar de la estructura cristalina tenorita monoclinico correspondiente al plano (-202), lo cual si lo comparamos con lo establecido por P. Niggli[186], indica que la distancia entre cada plano es de 1.84\AA . Los resultados obtenidos al calcular la distancia interplanar de los nanomateriales de óxido de níquel indican que la distancia interplanar es de 1.19\AA así como lo establece Levi y Tacchini[187], esta distancia corresponde a los índices de Miller (222).

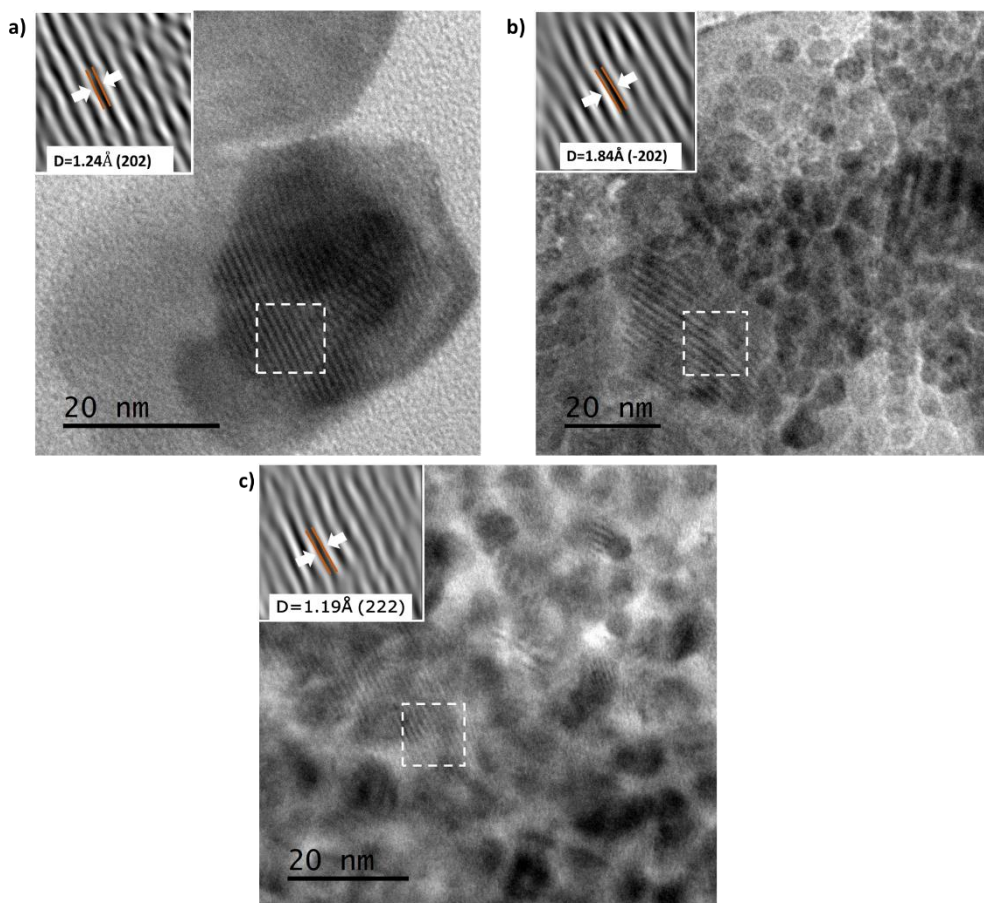


Figura 5.8. HRTM: (a) óxido de zinc, (b) óxido de cobre, (c) óxido de níquel

En la Tabla 5.8 se presentan los valores de la distancia interplanar de cada uno de los nanomateriales sintetizados:

Tabla 5.8. Distancia interplanar de nanomateriales de óxido de zinc, óxido de cobre y óxido de níquel.

Distancia interplanar (d)													
<i>hkl</i>	20 ZnO Å		20 ZnOAg1% Å		20 ZnOAg1.5% Å		20 ZnOAg2% Å		20 ZnOAg2.5% Å		20 ZnOAg5% Å		
(-100)	31.74	2.82	31.79	2.81	31.93	2.80	31.83	2.81	31.74	2.82	31.83	2.81	
(002)	34.40	2.60	34.46	2.60	34.60	2.59	34.49	2.60	34.40	2.60	34.49	2.6	
(101)	36.93	2.43	36.99	2.43	36.42	2.46	36.42	2.46	36.46	2.46	36.32	2.47	
(101)	-	-	38.03	2.36	38.02	2.36	38.05	2.36	38.10	2.36	36.93	2.43	
(200)	-	-	41.41	2.18	41.41	2.18	41.40	2.18	41.40	2.18	41.45	2.18	
(102)	47.53	1.91	47.58	1.91	47.72	1.90	47.62	1.91	47.53	1.91	47.62	1.91	
(110)	56.59	1.63	56.61	1.62	56.77	1.62	56.68	1.62	56.59	1.63	56.67	1.62	
(103)	62.86	1.48	62.9	1.48	63.02	1.47	62.9	1.48	62.86	1.48	62.95	1.48	
(200)	66.37	1.41	66.4	1.41	66.24	1.41	66.4	1.41	66.45	1.41	66.46	1.41	
(112)	67.95	1.38	67.96	1.38	68.11	1.38	67.98	1.38	67.94	1.38	68.04	1.38	
(201)	69.09	1.36	69.11	1.36	69.22	1.36	69.15	1.36	69.09	1.36	69.17	1.36	
(004)	72.18	1.31	72.18	1.31	72.13	1.31	72.11	1.31	72.14	1.31	72.14	1.31	
(311)	-	-	76.74	1.24	77.12	1.24	76.79	1.24	76.61	1.24	76.63	1.24	
(202)	76.98	1.24	77.02	1.24	77.12	1.24	77.44	1.23	76.92	1.24	77.04	1.24	
<i>hkl</i>	20 CuO Å		20 CuOAg1% Å		20 CuOAg1.5% Å		20 CuOAg2% Å		20 CuOAg2.5% Å		20 CuOAg5% Å		
(-110)	32.52	2.75	32.54	2.75	31.91	2.8	32.62	2.74	32.71	2.74	32.55	2.75	
(002)	35.58	2.52	35.27	2.54	35.28	2.54	35.55	2.52	35.55	2.52	35.55	2.52	
(111)	38.8	2.32	37.57	2.39	37.58	2.39	37.56	2.39	37.59	2.39	37.41	2.4	
(111)	-	-	38.19	2.35	38.79	2.32	38.75	2.32	38.64	2.33	38.32	2.35	
(200)	-	-	41.51	2.17	41.53	2.17	41.07	2.20	41.13	2.19	41.35	2.18	
(-202)	48.32	1.88	48.77	1.87	48.81	1.86	48.79	1.86	48.80	1.86	48.78	1.87	
(020)	53.57	1.71	53.49	1.71	53.56	1.71	53.61	1.71	53.15	1.72	53.5	1.71	
(202)	58.4	1.58	58.49	1.58	58.39	1.58	58.36	1.58	58.33	1.58	58.38	1.58	
(-113)	61.6	1.50	61.55	1.51	61.61	1.50	61.61	1.5	61.61	1.50	61.60	1.50	
(-220)	68.12	1.38	68.10	1.38	68.18	1.37	68.09	1.38	68.12	1.38	68.12	1.38	
(311)	72.46	1.30	72.42	1.30	72.50	1.30	72.51	1.30	72.50	1.3	72.46	1.30	
(004)	75.01	1.27	75.00	1.27	74.99	1.27	74.51	1.27	74.26	1.28	75.19	1.26	
(222)	75.27	1.26	75.24	1.26	75.21	1.26	75.26	1.26	75.25	1.26	75.05	1.26	
(311)	-	-	77.43	1.23	77.40	1.23	77.39	1.23	77.35	1.23	77.43	1.23	
<i>hkl</i>	20 NiO Å		20 NiOAg1% Å		20 NiOAg1.5% Å		20 NiOAg2% Å		20 NiOAg2.5% Å		20 NiOAg5% Å		
(111)	37.27	2.41	37.30	2.41	37.31	2.41	37.29	2.41	37.26	2.41	37.26	2.41	
(111)	-	-	38.05	2.36	38.32	2.35	38.1	2.36	38.13	2.36	38.15	2.36	
(200)	43.3	2.09	43.33	2.09	43.24	2.09	43.32	2.09	43.29	2.09	43.3	2.09	
(200)	-	-	46.93	1.93	46.91	1.94	46.28	1.96	46.31	1.96	46.26	1.96	
(220)	62.89	1.48	62.92	1.48	62.82	1.48	62.91	1.48	62.89	1.48	62.87	1.48	
(311)	-	-	76.46	1.24	76.73	1.24	76.44	1.25	76.37	1.25	76.39	1.25	
(222)	79.17	1.21	79.43	1.21	79.34	1.21	79.44	1.21	79.44	1.21	79.55	1.20	

5.2.6 Propiedades eléctricas de los nanomateriales

Banda prohibida

La banda prohibida o band gap determina la diferencia de energía que existe entre la banda de valencia y la banda de conducción de los nanomateriales semiconductores como es el caso de los nanomateriales de óxido de zinc, cobre y níquel. Para determinar este valor se realizaron estudios de fotoactividad en los nanomateriales empleando espectrofotometría UV-Vis de estado sólido, en donde por medio de los espectros de absorbancia se puede calcular la banda prohibida E_g mediante la ecuación de Einstein-Planck en donde la energía es producto de la constante de Planck ($h=6.626 \times 10^{-34} \text{J}\cdot\text{s}$) y la frecuencia del fotón ν ; siendo $\nu = \frac{c}{\lambda}$, donde c es la velocidad de la luz $c=2.997 \times 10^8 \text{ m/s}$ y λ es la longitud de onda en nanómetros nm obteniendo de esta manera las siguientes ecuaciones[188]:

$$E = h\nu \quad (\text{Ecuación 10})$$

$$E = \frac{hc}{\lambda} \quad (\text{Ecuación 11})$$

Para determinar la energía del fotón correspondiente a la longitud de onda se realiza una extrapolación de los datos del gráfico de Tauc en donde se puede obtener el valor de la banda prohibida con la siguiente ecuación:

$$(\alpha h\nu)^n = k(h\nu - E_g) \quad (\text{Ecuación 12})$$

En donde, α es el coeficiente de absorción, $h\nu$ es la energía correspondiente al fotón incidente, n representa la naturaleza de transición con un valor 2 si la transición es directa o de 0.5 si es de manera indirecta. En este caso se trabajó con transición directa, k es la constante de energía independiente y finalmente la energía de banda prohibida E_g se obtienen en [Jm] y debe ser convertido en electro Volts [eV].

Los resultados obtenidos de la banda prohibida de los nanomateriales de óxido de zinc dopado y sin dopar se presentan en la Tabla 5.9.

Tabla 5.9. Resumen de banda prohibida de las NPs de óxido de zinc, óxido de cobre y óxido de níquel

NPs	Óxido Zinc (eV)	Óxido de Cobre (eV)	Óxido de níquel (eV)
Sin dopar	3.38	2.43	3.62
1.0%	3.31	2.26	3.58
1.5%	3.24	2.03	3.55
2.0%	3.17	1.94	3.46
2.5%	3.09	1.92	3.38
5.0%	3.01	1.87	3.34

El valor de la banda prohibida de los nanomateriales de óxido de zinc sin dopar y dopados en diferentes relaciones de plata se presenta en la Figura 5.9, en donde se evidencia que a medida que se aumenta el porcentaje de plata la E_g disminuye, lo que indica que los iones de zinc Zn^{2+} fueron reemplazados por los iones de Ag^+ iniciando con un valor de 3.38 eV y terminando con 3.01 eV con un dopaje del 5% de plata.

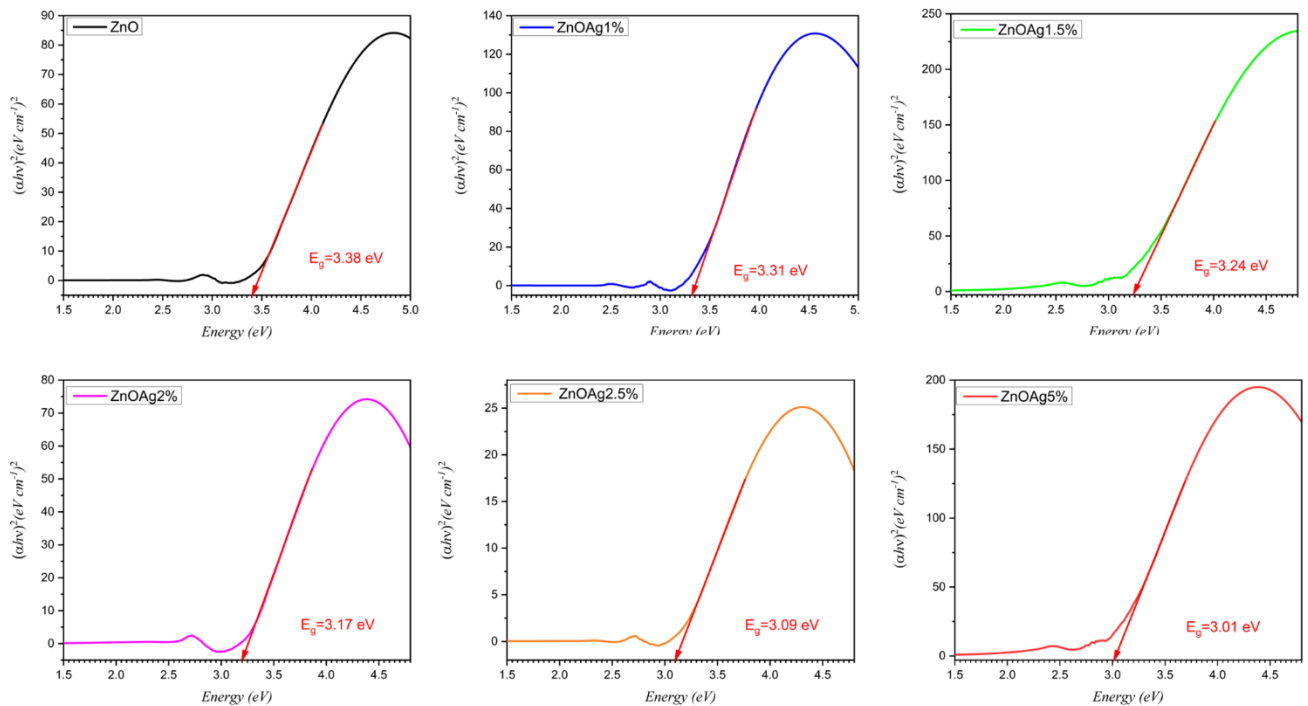


Figura 5.9. Banda gap para nanopartículas de óxido de zinc y óxido de zinc dopadas con plata

Los nanomateriales de óxido de cobre también presentaron una disminución en su banda prohibida con la presencia de plata en su red, esto quiere decir que los iones Cu^{2+} fueron desplazados y ocupados por los iones de plata Ag^+ en donde la plata se comporta como un donador de electrones y de esta manera la plata logra ubicarse en la superficie de red del óxido de cobre. Disminuyendo su valor de 2.43eV hasta 1.87eV con el valor de 5% en peso de plata Figura 5.10.

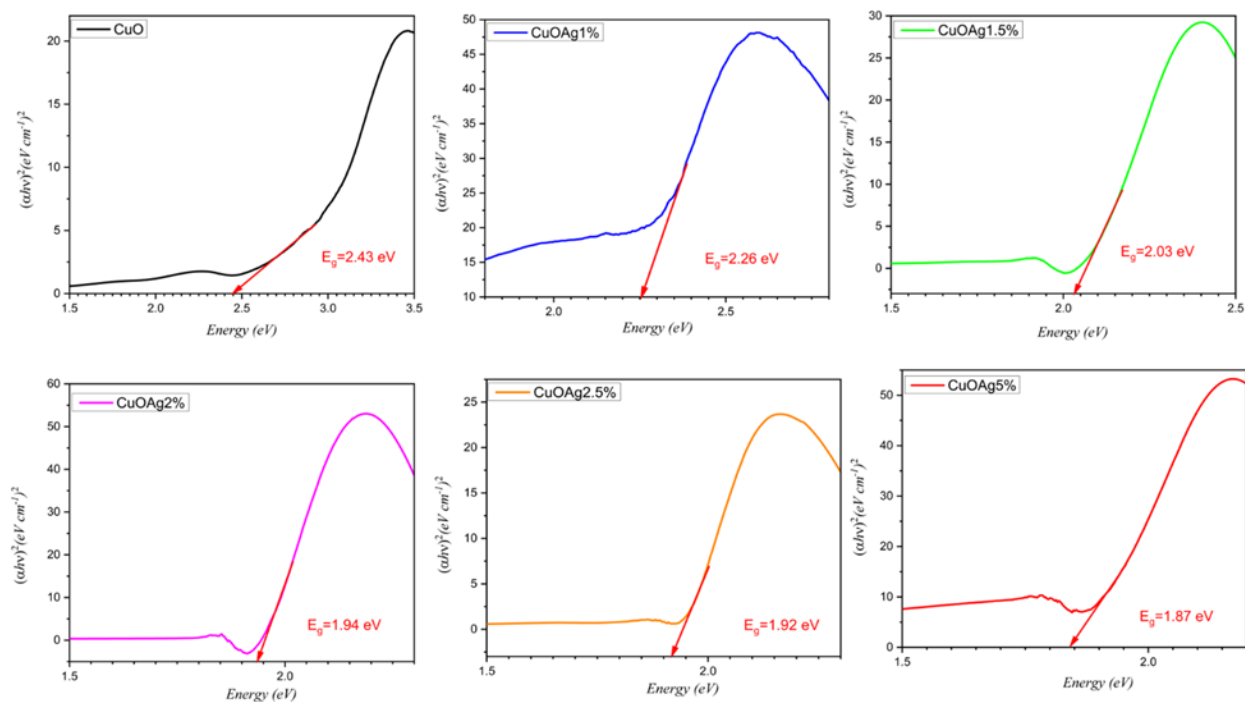


Figura 5.10. Banda gap para nanopartículas de óxido de cobre y óxido de cobre dopadas con plata

Como se ha evidenciado con el óxido de zinc y cobre a medida que se aumenta la relación de plata en el nanomaterial, la energía proveniente del band gap disminuyó. Lo mismo ocurre con el óxido de níquel; es decir existe una relación inversamente proporcional entre el band gap y el dopaje con plata lo cual indica que a medida que se aumenta la relación de la plata será necesaria una cantidad menor de energía para llevar a cabo el proceso de foto-excitación debido a que los iones de plata Ag^+ reemplazan a los de níquel Ni^{2+} (Figura 5.11)

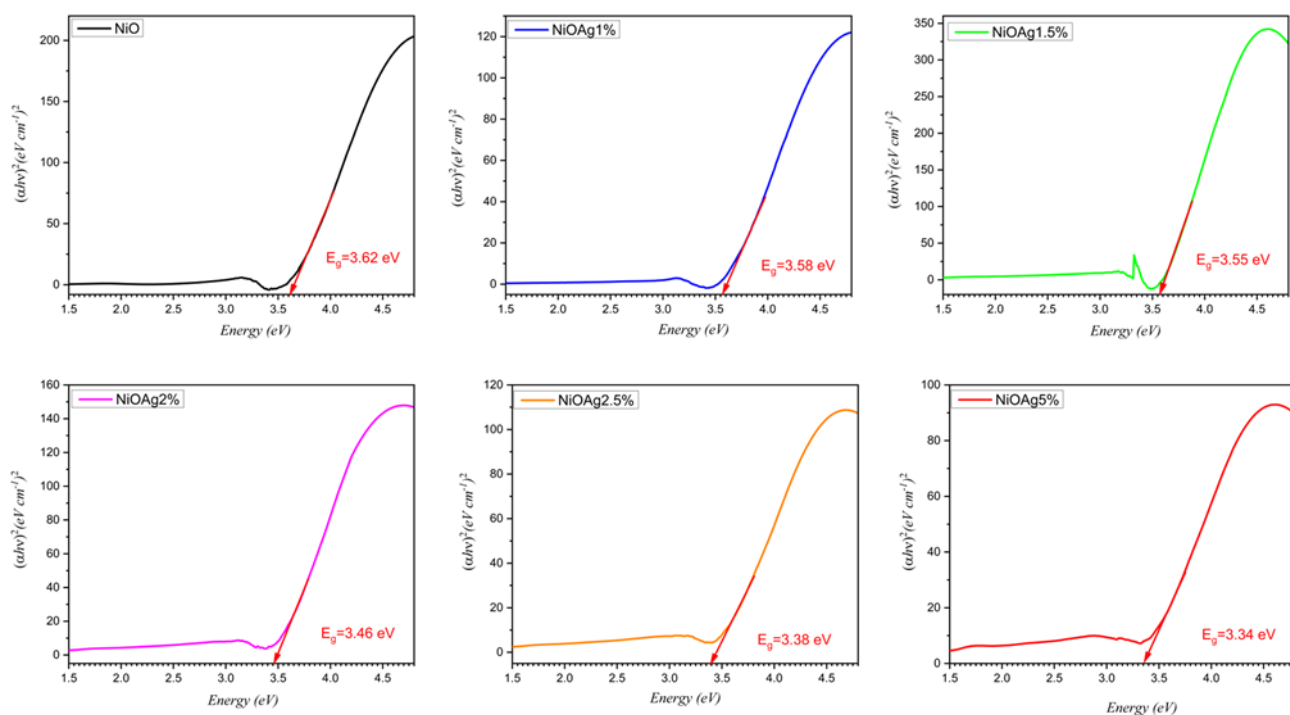


Figura 5.11. Banda gap para nanopartículas de óxido de níquel y óxido de níquel dopadas con plata. Con base en los resultados obtenidos se puede determinar que cuando se dopa un material semiconductor con impurezas, es posible cambiar el número de electrones disponibles para la conducción y así modificar la estructura de la banda de energía del material. Dependiendo del tipo de impureza introducida, la banda prohibida del material puede disminuir o aumentar. En este caso se proporcionan electrones adicionales al material semiconductor aumentando el número de portadores de carga negativa (electrones) en el material. Esto hace que la banda prohibida disminuya, lo que significa que los electrones necesitan menos energía para moverse desde la banda de valencia a la banda de conducción. En otras palabras, el material se vuelve más conductor.

La Tabla 5.10 se presenta una comparativa entre los valores obtenidos con la relación de Tauc y los valores de referencia:

Tabla 5.10. Valores de la banda prohibida mediante la relación de Tauc comparado con el valor de referencia.

NPs	Eg (eV) Obtenidos	Eg (eV) Referencia	Ref.
ZnO	3.38	~3.10-3.37	[189] [190]
ZnOAg1%	3.31	3.29	[191]
ZnOAg1.5%	3.24	3.21	[192]

ZnOAg2%	3.17	3.07	[193]
ZnOAg2.5%	3.09	~3.4-3.5	[194]
ZnOAg5%	3.01	~3.01-2.96	[195]
CuO	2.43	~1.2-2.6	[196]
CuOAg1%	2.26	2.02	[197]
CuOAg5%	1.87	1.98	[197]
NiO	3.62	~3.6-4.0	[198, 199]
NiOAg2%	3.58	3.43	[200]
NiOAg5%	3.34	~3.46-3.54	[200]

Impedancia

La impedancia es una medida de la resistencia total que ofrece un circuito eléctrico al flujo de la corriente alterna (AC). Esta se mide en ohmios y se representa con la letra Z. Su fundamento es similar a la resistencia eléctrica en los circuitos de corriente continua (DC). Sin embargo, esta no solo toma en cuenta la resistencia eléctrica, sino también la capacidad y la inductancia del circuito. Los resultados obtenidos para los nanomateriales de óxido de zinc, cobre y níquel sin dopar y dopados al 1%, 2.5% y 5% se pueden evidenciar en la Tabla 5.11.

Tabla 5.11. Datos electroquímicos para nanopartículas de óxido de zinc, óxido de cobre y óxido de níquel

NPs	Rs (Ω)	Rs/cm²	CPE	η	Rct (Ω)	Rct/cm²	τ (s)	ω₀
ZnO	126.9	1795.268	3.60E-06	0.8574	1278	18080.002	0.00460	552.6
ZnOAg1%	126.2	1785.365	2.45E-06	0.8518	1217	17217.028	0.00298	557.6
ZnOAg2.5%	134.4	1901.371	4.36E-06	0.8218	995.4	14082.029	0.00434	552.3
ZnOAg5%	107.2	1516.570	3.77E-06	0.8313	855.1	12097.190	0.00322	543.7
CuO	135.8	1921.18	3.404E-06	0.8195	1058	14967.638	0.00360	488.9
CuOAg1%	127.4	1802.34	4.128E-06	0.8369	848.2	11999.575	0.00350	443.1
CuOAg2.5%	170.7	2414.91	5.745E-06	0.8317	743.6	10519.788	0.00427	476.9
CuOAg5%	128.5	1817.90	5.756E-06	0.8224	536.3	7587.092	0.00309	484.6
NiO	145.2	2054.160	3.62E-06	0.8268	1441	20385.980	0.00522	727.2
NiOAg1%	151.9	2148.945	4.45E-06	0.8343	1108	15674.994	0.00493	770.1
NiOAg2.5%	156.1	2208.363	4.20E-06	0.8402	786.9	11132.358	0.00330	808.2

NiOAg5%	136.5	1931.080	1.49E-05	0.7133	611.1	8645.297	0.00908	598.7
----------------	-------	----------	----------	--------	-------	----------	---------	-------

Con el circuito de Randles, es posible calcular la energía disipada en forma de calor debido a la resistencia, la capacitancia y la inductancia. Variados estos parámetros es posible observar; que, el primero de ellos es la resistencia en serie R_s (Ω). Para el caso del aumento de óxido de zinc, se incrementa la oposición al flujo de corriente en el circuito, lo que, a su vez, reduce la cantidad de corriente que fluye por el sistema. Para el caso de las nanopartículas con mayor contenido de plata, esta oposición es menor, permitiendo un mayor flujo de corriente por unidad de área. En este proyecto, el área del electrodo es de 0.0706 cm^2 ; en relación con la capacitancia en paralelo constante (CPE), su valor cercano a cero indica que el material exhibe una respuesta capacitiva similar a la de un capacitor ideal. La eficiencia de intercambio de carga (η) representa la proporción de carga transferida de manera efectiva. En este proyecto, todos los nanomateriales superan el 80% de eficiencia en este aspecto. La resistencia de carga (R_{ct}) se refiere a la interfaz entre dos medios conductores, en este caso, el electrodo y el medio circundante. Si el valor de R_{ct} es elevado, esto indica que la transferencia de carga entre los medios es dificultada. Por último, la constante de tiempo del circuito (τ) ofrece una medida del tiempo necesario para que el sistema alcance el equilibrio.

El óxido de cobre, como material semiconductor, exhibe una disminución en su impedancia a medida que la frecuencia se incrementa. Esta tendencia se mantiene incluso al analizarlo en conjunción con la plata, donde un aumento en el contenido de plata resulta en una reducción adicional de la impedancia y, a su vez, en un aumento de la conductividad eléctrica. Al analizar los datos obtenidos en la impedancia con nanomateriales de óxido de cobre se puede observar una variación en la resistencia total del circuito. En este caso el nanomaterial que mayor resistencia al flujo presentó fue el óxido de cobre dopado al 2.5% con un valor de 170.7Ω ; mientras que el menor fue el óxido de cobre dopado al 1% con 127.4Ω . Estas variaciones pueden ser causadas por la variación de la sección transversal del conductor, la temperatura de la resistencia cuando se está llevando a cabo el análisis o algunas conexiones en el circuito que pueden aumentar o disminuir la resistencia total. Sin embargo, en la capacitancia en paralelo podemos ver que la respuesta al sistema es bastante buena con transferencia de carga óptima y un tiempo de equilibrio bastante rápido. En cuanto a la resistencia de transferencia de carga es posible notar que disminuye a medida que incrementa el porcentaje de plata, es decir, que dificulta la transferencia de carga entre los dos medios conductores. La impedancia de los nanomateriales depende de varios factores como lo son su estructura, espesor, y dopaje, entre otros. De manera general el óxido de níquel es un material con una alta resistividad eléctrica y su impedancia llega a ser significativa a bajas frecuencias.

Para los nanomateriales de óxido de níquel se determinó que la CPE fue cercana a cero ajustándose al circuito de Randels. Sin embargo, en este caso la eficiencia de intercambio de carga para las nanopartículas dopadas al 5% fue del 71.33% lo cual es un índice bajo comparado con los demás resultados obtenidos indicando una mayor proporción de carga disipada, sin embargo, aun así, logró que la resistencia de carga fuera baja lo que indica una transferencia de electrones con una mayor facilidad, lo cual se corrobora que a mayor porcentaje de plata el nanomaterial se vuelve más conductor. En cuanto a los tiempos de equilibrio fueron óptimos. (Figura 5.12)

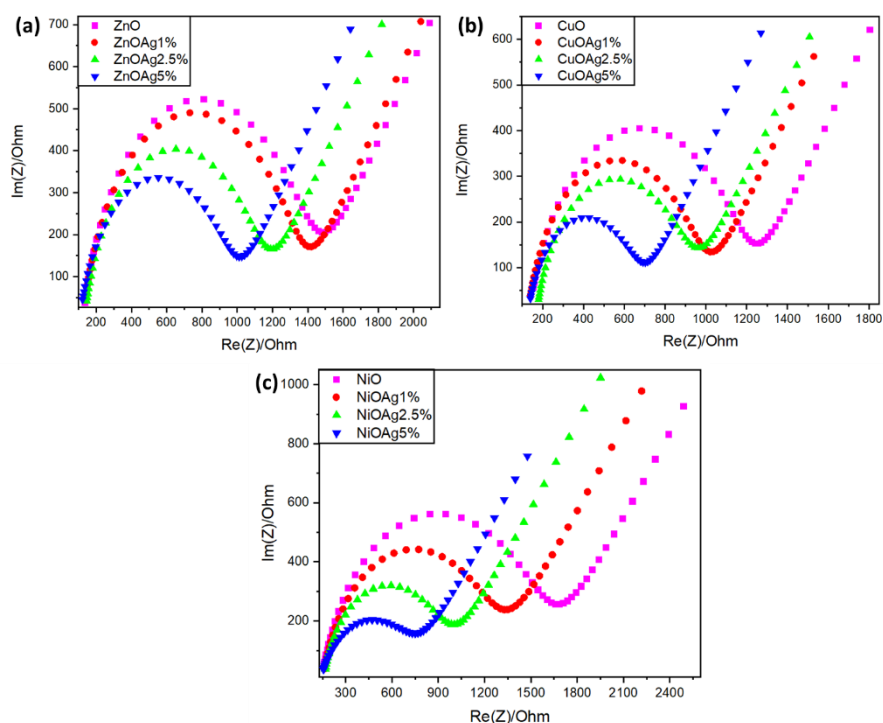


Figura 5.12. Resultados de impedancia: (a) óxido de zinc, (b) óxido de cobre, (c) óxido de níquel

5.3 Estudios antibacterianos

5.3.1 Método del antibiograma disco-placa

El método de antibiograma se empleó con cada uno de los nanomateriales sintetizados; se utilizaron cajas de Petri de 90 mm, donde se vertió agar nutritivo Mueller Hilton y se sembraron las bacterias Gram positivas (*S. aureus* y *B. cereus*) y Gram negativas (*S. typhi* y *E. coli*). Posteriormente se impregnaron a diferentes concentraciones de cada uno de los nanomateriales (50, 100, 200 y 400 mg/mL) los discos de papel utilizados fueron los Whatman No. 1 de 6 mm, obteniéndose los siguientes resultados mostrados en la Tabla 5.12:

Tabla 5.12. Zona de inhibición nanopartículas de óxido de zinc, óxido de cobre y óxido de níquel

Diámetros de la zona de inhibición (mm)					
NPs	Concentración (mg/mL)	Gram (+)		Gram (-)	
		<i>B. cereus</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. typhi</i>
ZnO	50	~6.5	~6.3	~6.2	~6.3
ZnOAg1%	50	~7.6	~7.1	~6.9	~6.5
ZnOAg1.5%	50	~7.9	~7.3	~7.3	~7.2
ZnOAg2%	50	~8.2	~8.2	~8.6	~8.4
ZnOAg2.5%	50	~9.3	~9.0	~9.2	~9.0
ZnOAg5%	50	~10.4	~9.8	~9.8	~9.4
CuO	50	~6.5	~6.8	~6.3	~6.2
CuOAg1%	50	~7.1	~7.3	~6.9	~6.8
CuOAg1.5%	50	~7.5	~7.6	~7.2	~7.0
CuOAg2%	50	~8.2	~8.0	~7.9	~7.3
CuOAg2.5%	50	~9.6	~8.7	~8.5	~7.8
CuOAg5%	50	~10.2	~9.8	~9.4	~8.3
NiO	50	~6.4	~6.3	~6.2	~6.1
NiOAg1%	50	~6.8	~6.6	~6.8	~6.5
NiOAg1.5%	50	~7.6	~7.5	~7.1	~7.3
NiOAg2%	50	~8.2	~7.9	~7.7	~7.5
NiOAg2.5%	50	~9.5	~8.3	~8.5	~7.9
NiOAg5%	50	~9.9	~9.1	~8.7	~8.2

A partir de la medición del diámetro se evidenció que desde los 50 (mg/mL NPs) se presentan propiedades antibacterianas. Las bacterias gram positivas *S. aureus* y *B. cereus* presentaron un comportamiento similar en los halos de inhibición; siendo menos resistentes que las bacterias Gram negativas *E. coli* y *S. typhi*. Al determinar los halos de inhibición en cada una de las bacterias es posible observar que las NPs de ZnOAg5% presentaron la mayor actividad bacteriana en todos los tipos de bacterias probadas. Es importante tener en cuenta que los resultados pueden variar según las condiciones de prueba y el método utilizado. En todas las bacterias el mayor diámetro se evidencia al tener un porcentaje de plata del 5% dando como resultado los siguientes valores: *B. cereus* (10.4 mm), *S. aureus* (9.8 mm), *E. coli* (9.8 mm) y *S. typhi* (9.4 mm). Para las nanopartículas de óxido de cobre, la zona de inhibición fue mayor para las bacterias Gram positivas que para las bacterias Gram negativas, lo que sugiere que el CuO resultó ser más efectivo contra las bacterias Gram positivas. Sin embargo, cuando se dopó este óxido con plata, la zona de inhibición aumentó significativamente para todas las bacterias, especialmente para las Gram negativas. Esto indica que el dopaje con Ag mejoró la actividad antimicrobiana de las nanopartículas de CuO contra una amplia gama de bacterias. Los rangos de inhibición de los nanomateriales sin dopar y dopados fueron los siguientes: *B. cereus* (~6.5-

10.2 mm), *S. aureus* (~6.8-9.8 mm), *E. coli* (~6.3-9.4 mm) y *S. typhi* (~6.2-8.3 mm). El efecto inhibitorio de las NPs también varió según la cepa bacteriana. Las bacterias Gram positivas (*B. cereus* y *S. aureus*) fueron generalmente más susceptibles a las NPs que las bacterias Gram negativas (*E. coli* y *S. typhi*). Al evaluar las nanopartículas de óxido de níquel para las bacterias Gram positivas, *S. aureus* y *B. cereus* sus diámetros de inhibición fueron prácticamente iguales. Sin embargo, entre las bacterias Gram negativas, *E. coli* parece ser menos resistente que *S. typhi* cuando se emplean nanopartículas de óxido de níquel sin dopar y dopadas con plata.

Al igual que con las nanopartículas de óxido de zinc y óxido de cobre al evaluar el crecimiento bacteriano con el óxido de níquel se evidencia que a medida que aumentó el porcentaje de plata el nanomaterial inhibió el crecimiento bacteriano. En este caso, no se presentaron halos de inhibición tan grandes como con los otros nanomateriales, pero si fue posible corroborar que el óxido de níquel presentó una actividad bactericida.

Según los resultados obtenidos fue posible determinar que las bacterias Gram negativas presentan una estructura celular única que las hace más resistentes a ciertos tratamientos antimicrobianos en comparación con las bacterias Gram positivas. La pared celular de las bacterias Gram negativas está compuesta de una capa delgada de peptidoglicano rodeada por una membrana externa que contiene lipopolisacáridos (LPS), porinas y proteínas de transporte. La membrana externa es menos permeable a muchos compuestos antimicrobianos en comparación con la pared celular más gruesa de las bacterias Gram positivas, lo que les permite resistir mejor a ciertos tratamientos antimicrobianos.

5.3.2 Concentración mínima inhibitoria

A partir de los diámetros obtenidos de la zona de inhibición se evidenció que las nanopartículas presentaron actividad antibacteriana y esta fue dependiente de la dosis que se suministra. Es decir, la relación que existe entre los diámetros de inhibición y la concentración de los nanomateriales. Para determinar la concentración mínima inhibitoria (MIC) empleó una placa de microtitulación con 96 pocillos en donde se adicionaron 100 µL de CMH, 100 µL de inóculo y los diferentes volúmenes correspondientes de nanomateriales. Estas se dejaron incubar durante 24 horas a 37°C. Finalmente se adicionaron 10 µL de una solución de 10 mM de cloruro de p-iodonitrotetrazolium en cada microplato, como indicador de crecimiento celular. Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 5.13.

Tabla 5.13. MIC de NPs óxido de zinc, óxido de cobre y óxido de níquel

Concentración mínima inhibitoria (mg/mL)		
NPs	Gram positivas (+)	Gram negativas (-)

	<i>B. cereus</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. typhi</i>
ZnO	~5.7	~6.5	~6.8	~7.2
ZnOAg1%	~4.3	~5.0	~6.0	~6.9
ZnOAg1.5%	~2.9	~4.4	~5.8	~6.4
ZnOAg2%	~2.3	~4.1	~5.2	~6.3
ZnOAg2.5%	~0.7	~2.2	~3.2	~5.2
ZnOAg5%	~0.3	~1.3	~1.3	~4.2
CuO	~6.7	~7.5	~9.1	~9.1
CuOAg1%	~5.7	~6.6	~7.8	~7.8
CuOAg1.5%	~4.7	~5.7	~6.8	~7.1
CuOAg2%	~3.5	~4.9	~6.1	~6.4
CuOAg2.5%	~2.2	~4.0	~4.7	~5.2
CuOAg5%	~1.3	~3.8	~3.8	~4.2
NiO	~9.5	~10.0	~10.7	~10.3
NiOAg1%	~8.1	~9.8	~9.8	~9.1
NiOAg1.5%	~7.5	~9.0	~9.5	~9.5
NiOAg2%	~7.2	~8.2	~8.6	~9.2
NiOAg2.5%	~6.5	~7.8	~7.8	~8.3
NiOAg5%	~5.6	~6.5	~6.5	~7.8

Respecto a los datos obtenidos se puede concluir que a medida que aumenta el dopaje con plata, el nanomaterial mejora sus propiedades antibacterianas. En el material sin dopar para inhibir el crecimiento de las bacterias *S. aureus* y *E. coli* fue necesario emplear ~6.5 y 6.8 mg/mL respectivamente de fotocatalizador. Mientras que *S. typhi* resultó ser más resistente requiriendo ~7.2 mg/mL, la bacteria Gram positiva *B. cereus* fue inhibida con ~5.7mg/mL; en cuanto a las nanopartículas de óxido de zinc dopadas con plata al 1% se evidenció que la más resistente fue la bacteria Gram negativa *S. typhi* con ~6.9 mg/mL, seguida de *E. coli* con ~6.0 mg/mL, mientras que las bacterias Gram positivas *S. aureus* y *B. cereus* no presentaron crecimiento con ~ 5.0 mg/mL y ~4.3 mg/mL ; el dopaje con 1.5% de plata se observa que para inhibir el crecimiento de la bacteria Gram positiva *B. cereus* fueron necesarios ~2.9 mg/mL presentando una reducción significativa con respecto al dopaje con 1%, además, se pudo determinar que no afectó de manera significativa el crecimiento celular de las bacterias comparadas con el porcentaje anterior donde las bacterias Gram negativas *S. typhi* y *E. coli* fueron inhibidas con ~6.4 mg/mL y ~5.8 mg/mL respectivamente y la bacteria Gram positiva *B. cereus* no presentó crecimiento celular con una concentración ~4.4 mg/mL. Continuando con los resultados obtenidos, el dopaje de óxido de zinc dopado al 2% dio como resultado que las bacterias Gram negativas de *S. typhi* y *E. coli* no continuaron su crecimiento a una concentración de ~6.3 mg/mL y ~5.2 mg/m. Mientras que las bacterias Gram positivas *B. cereus* y

S. aureus necesitaron ~ 2.3 mg/mL y ~ 4.1 mg/mL para inhibir el crecimiento. El dopaje correspondiente a 2.5% presentó una disminución significativa en el crecimiento de la bacteria Gram positiva *B. cereus* empleando ~ 0.7 mg/mL y *S. aureus*, en las que la bacteria Gram positiva *S. aureus* requirió de ~ 2.2 mg/mL. Las bacterias Gram negativas *E. coli* y *S. typhi* inhibieron su crecimiento a las siguientes concentraciones ~ 3.2 mg/mL y ~ 5.2 mg/mL respectivamente. Finalmente, el dopaje de 5% de plata dio como resultado que las bacterias Gram positivas *B. cereus* y *S. aureus*, no presentaron crecimiento a las siguientes concentraciones ~ 0.3 mg/mL y ~ 1.3 mg/mL respectivamente, mientras que las bacterias Gram negativas *E. coli* y *S. typhi* no crecieron a las siguientes concentraciones ~ 1.3 mg/mL y ~ 4.2 mg/mL respectivamente. Con los resultados obtenidos fue posible determinar que las bacterias Gram negativas resultaron más resistentes que las bacterias Gram positivas frente a las nanopartículas de óxido de zinc. De igual manera, a medida que aumentó la relación de plata, la concentración requerida fue mucho menor. Esto es causado por la composición de la pared celular de las bacterias Gram positivas, ya que para las NPs es fácil acceder y generar el daño mediante las especies reactivas de oxígeno (ROS) generadas por la irradiación UV.

Para las nanopartículas de óxido de cobre sin dopar ambas bacterias Gram negativas necesitaron ~ 9.1 mg/mL mientras que para las bacterias Gram positivas *B. cereus* y *S. aureus* necesitaron ~ 6.7 mg/mL y ~ 7.5 mg/mL respectivamente. Con el dopaje de plata al 1% las Gram negativas presentaron inhibición con ~ 7.8 mg/mL y las Gram positivas *B. cereus* y *S. aureus* no presentaron crecimiento en las siguientes concentraciones ~ 5.7 mg/mL y ~ 6.6 mg/mL. En las nanopartículas dopadas al 1.5% se empezó a evidenciar que la bacteria *S. aureus* fue más resistente que la *B. cereus* inhibiendo el crecimiento con las siguientes concentraciones ~ 5.7 mg/mL y ~ 4.7 mg/mL respectivamente, mientras que en las bacterias Gram negativas se siguió presentando una disminución paulatina con concentraciones de ~ 6.8 mg/mL y ~ 7.1 mg/mL para *E. coli* y *S. typhi*. Continuando con las nanopartículas dopadas al 2% la bacteria *B. cereus* se necesitó una concentración de ~ 3.5 mg/mL, mientras que *S. aureus* inhibió el crecimiento con ~ 4.9 mg/mL. En cuanto a las bacterias Gram negativas *E. coli* evitó el crecimiento bacteriano con ~ 6.1 mg/mL y la bacteria *S. typhi* a una concentración de ~ 6.4 mg/mL. Al dopar las nanopartículas al 2.5% de plata se observó que las bacterias Gram positivas *B. cereus* y *S. aureus* inhibieron el crecimiento de las bacterias a las siguientes concentraciones ~ 2.2 mg/mL y ~ 2.4 mg/mL respectivamente, mientras que las bacterias Gram negativas necesitaron las siguientes concentraciones *S. typhi* ~ 5.2 mg/mL y *E. coli* ~ 4.7 mg/mL. Finalmente, las nanopartículas dopadas al 5% presentaron las siguientes concentraciones para inhibir el crecimiento bacteriano *B. cereus* ~ 1.3 mg/mL, *S. aureus* ~ 3.8 mg/mL, *S. typhi* ~ 4.2 mg/mL y *E. coli* ~ 3.8 mg/mL al igual que el óxido de zinc a medida que se aumentó el porcentaje de

plata dentro de las nanopartículas disminuyó la concentración requerida para inhibir el crecimiento de las bacterias evidenciando que las bacterias Gram negativas son más resistentes que las Gram positivas. La inhibición del crecimiento bacteriano empleando las nanopartículas de óxido de níquel sin dopar requirió de las siguientes concentraciones ~ 9.5 mg/mL y ~ 10 mg/mL para las bacterias Gram positivas (*B. cereus* y *S. aureus*, respectivamente), mientras que para inhibir el crecimiento de las bacterias Gram negativas (*E. coli* y *S. typhi*) se requirieron de ~ 10.7 mg/mL y ~ 10.3 mg/mL. Se requirió de ~ 8.1 mg/mL, ~ 9.8 mg/mL, ~ 9.8 mg/mL y ~ 9.1 mg/mL de las NPs de NiOAg1% para inhibir el crecimiento de las bacterias *B. cereus*, *S. aureus*, *E. coli* y *S. typhi*, respectivamente. Las nanopartículas dopadas al 1.5% con plata no permitieron el crecimiento de las bacterias Gram negativas a una concentración de ~ 9.5 mg/mL, mientras que para la bacteria *B. cereus* fueron necesarios ~ 7.5 mg/mL y para *S. aureus* ~ 9.0 mg/mL; al dopar las nanopartículas a un 2% se establecieron las siguientes concentraciones para *B. cereus* ~ 7.2 mg/mL, *S. aureus* ~ 8.2 mg/mL, *E. coli* ~ 8.6 mg/mL y *S. typhi* ~ 9.2 mg/mL, mientras que para inhibir el crecimiento las nanopartículas dopadas al 2.5% requirieron las siguientes concentraciones: Para *E. coli* y *S. aureus* ~ 7.8 mg/mL y para las bacterias *S. typhi* y *B. cereus* inhibieron el crecimiento con ~ 8.3 mg/mL y con ~ 6.5 mg/mL respectivamente. Para las ultimas nanopartículas dopadas al 5% se requirieron las siguientes concentraciones: ~ 5.6 mg/mL, ~ 6.5 mg/mL, ~ 6.5 mg/mL y ~ 7.8 mg/mL para inhibir el crecimiento de las bacterias *B. cereus*, *S. aureus*, *E. coli* y *S. typhi*. Lo anterior puede apreciarse en la Figura 5.13.

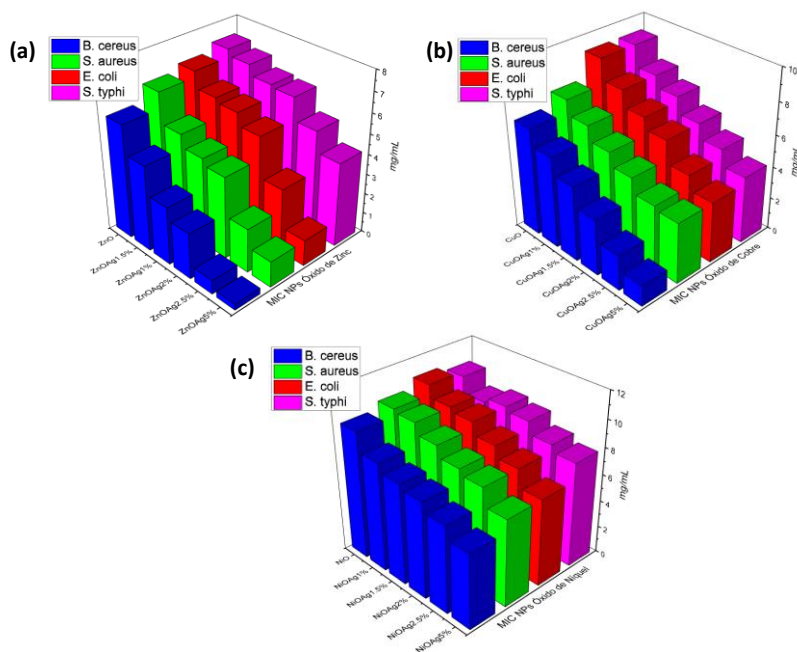


Figura 5.13. Concentración mínima inhibitoria: (a) óxido de zinc, (b) óxido de cobre, (c) óxido de níquel

5.3.3 Densidad óptica

Mediante la densidad óptica (Figura 5.14) se determinó el crecimiento de las bacterias a una absorbancia de 500 nm en el equipo de UV-Vis en presencia de los 18 nanomateriales en 1 mL de caldo Mueller Hilton, 1 mL del inóculo y 1 mL del nanomaterial a una concentración de 1 mg/mL. Los resultados fueron monitoreados cada hora bajo la irradiación de luz UV por un periodo de 12 horas. A continuación, se muestran los resultados obtenidos de las bacterias Gram positivas y Gram negativas.

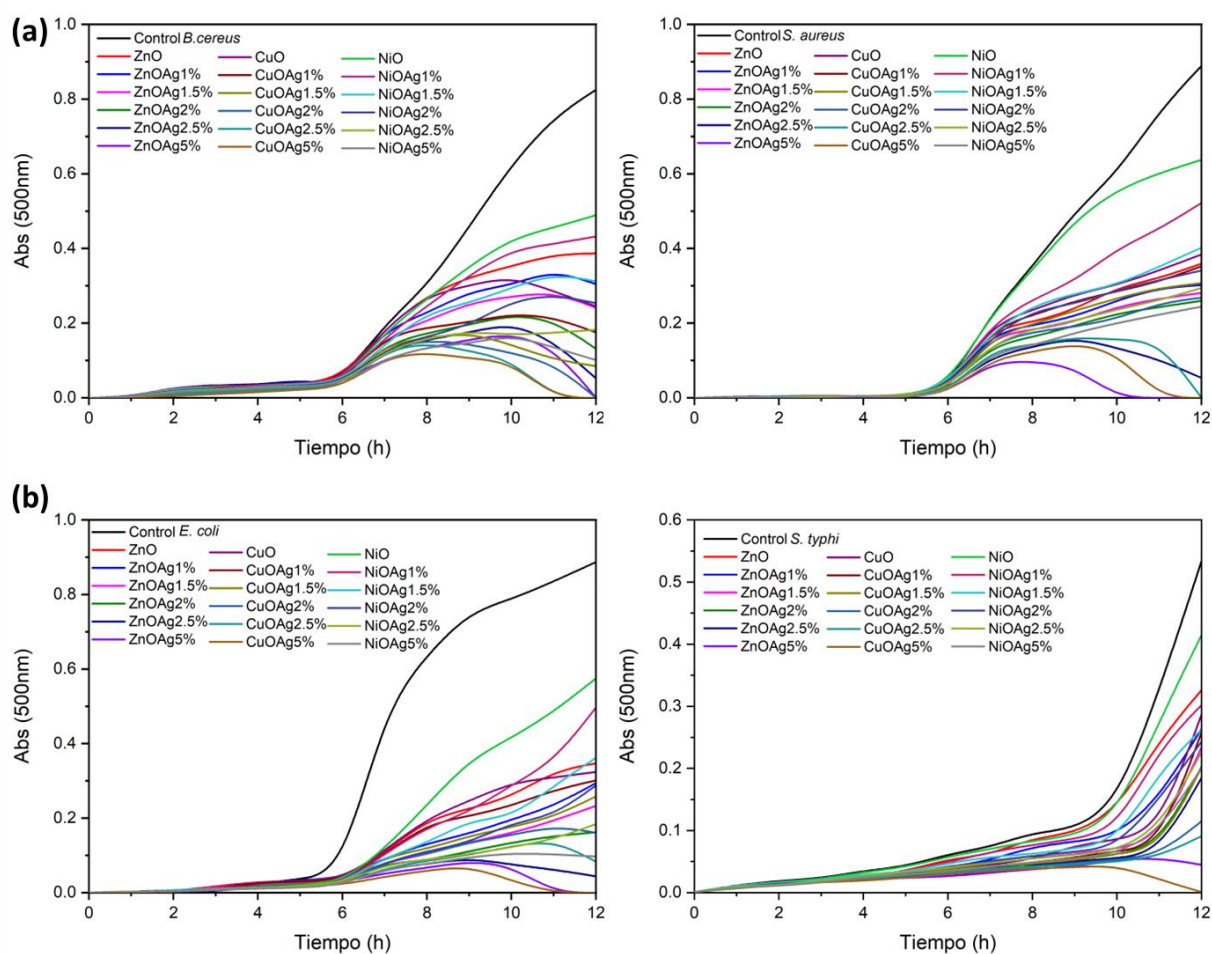


Figura 5.14. Densidad óptica: (a) Gram positivas *B. cereus* y *S. aureus* (b) Gram negativas *E. coli* y *S. typhi*

El comportamiento antibacteriano que se observó para la bacteria *B. cereus* por parte de los nanomateriales fue el siguiente: La menor inhibición se obtuvo con el nanomaterial de óxido de níquel con un 40.72%, seguido de los nanomateriales de NiOAg1% y ZnO con porcentajes del 47.63% y

53.09% respectivamente. El nanomaterial de óxido de níquel dopado al 1% de plata aumentó el porcentaje de inhibición en un 62.18% seguido del óxido de zinc dopado al 1% con una inhibición del 63.15%. El óxido de níquel dopado al 2% inhibió el crecimiento en un 69.33%, el nanomaterial de óxido de cobre no permitió el crecimiento de la bacteria con respecto al control en un 70.3%, seguido de los nanomateriales ZnOAg1.5%, NiOAg2.5%, CuOAg1%, ZnOAg2%, 87.75%, 89.69% y 93.69 con los respectivos porcentajes de inhibición 70.78%, 77.93%, 78.78%, 84.12%, 87.75%, 89.69% y 93.69%, finalmente los nanomateriales que lograron inhibir en un 100% el crecimiento bacteriano fueron el óxido de zinc dopado a un 5% y el óxido de cobre dopado a 2%, 2.5% y 5%.

La inhibición presentada por la bacteria *S. aureus* en presencia de los nanomateriales fue la siguiente: El nanomaterial de óxido de níquel inhibió el crecimiento en un 28.34%, seguido del NiOAg1% con un porcentaje de 41.28%. Los nanomateriales NiOAg1%, CuO y ZnO inhibieron el crecimiento en los siguientes porcentajes 54.78%, 56.8% y 59.61% respectivamente. Continuando con el nanomaterial de CuOAg1% que inhibió en un 60.40%, el NiOAg2% en un 61.64%, seguido del óxido de cobre dopado al 1.5% con un 65.46%. El ZnOAg1% logró inhibir el crecimiento en un 66.02% y el NiOAg2.5% en un 66.92%. Los nanomateriales de ZnOAg1.5%, CuOAg2%, ZnOAg2%, NiOAg5% y ZnOAg2.5% inhibieron en los siguientes porcentajes respectivamente 68.39%, 69.85%, 70.75%, 72.55% y 94.03%. Finalmente, los nanomateriales que inhibieron completamente el crecimiento fueron el óxido de cobre dopado al 2.5% y al 5% y el óxido de zinc dopado al 1%.

Para la bacteria Gram negativa *E. coli*, el nanomaterial con menor porcentaje de inhibición fue el óxido de níquel con un 35.1%, NiOAg1% inhibió con un 43.96 %, NiOAg1.5% 4 inhibió con un 59.18 %, el óxido de zinc inhibió con un 60.87%, el óxido de cobre inhibió con un 63.47 %, CuOAg1% inhibió con un 66.06%, ZnOAg1% inhibió con un 66.85%, NiOAg2% inhibió con un 67.53 %, CuOAg1.5% inhibió con un 70.91%, ZnOAg1.5% inhibió con un 73.73%, NiOAg2.5% inhibió con un 79.25%, seguido de ZnOAg2% que inhibió con un 81.73%, continuando con el óxido de cobre dopado al 2% que logró inhibir el crecimiento en un 81.84%. Los nanomateriales de NiOAg5%, CuOAg2.5% y ZnOAg2.5% inhibieron el crecimiento de esta bacteria en los siguientes porcentajes 89.06%, 90.64% y 95.03% respectiva y finalmente los nanomateriales óxido de zinc y óxido de cobre dopados al 5% inhibieron completamente el crecimiento bacteriano. Es decir, la bacteria Gram negativa *E. coli* fue más sensible a las nanopartículas de zinc y cobre.

Los hallazgos muestran una disminución significativa en el crecimiento celular si se encuentran en la presencia de nanomaterial incorporados en los medios de cultivo. Con la bacteria Gram negativa *S. typhi* se determinó que de las 4 bacterias empleadas fue la más resistente, ya que en las 12 horas ningún nanomaterial logró inhibirla al 100%. Sin embargo, el CuOAg5% logró un porcentaje de

inhibición del 99.81%, seguido del ZnOAg al 5% con un 91.57%, las nanopartículas de óxido de cobre dopadas al 2.5% inhibieron el crecimiento en un 82.95%, con un 78.46% el nanomaterial de óxido de cobre dopado con plata a un 2% logró una disminución del crecimiento bacteriano frente al control de un 65.35%. Los nanomateriales de óxido de níquel dopados al 5% y de óxido de cobre con 1.5% inhibieron el crecimiento en un 62.35%. El siguiente material de ZnOAg2% presentó una inhibición de 61.98%. Los nanomateriales de NiOAg2.5%, ZnOAg1.5%, NiOAg2%, CuOAg1%, NiOAg1.5% y ZnOAg1% presentaron los siguientes porcentajes de inhibición 57.67%, 56.17%, 54.49%, 51.68%, 50.74% y 50.76% respectivamente. El óxido de cobre presentó una inhibición con un porcentaje del 46.25% y los 3 nanomateriales que presentaron una menor inhibición fueron los siguientes: NiOAg1%, ZnO y NiO con un 43.44%, 38.95% y 22.28% respectivamente. A partir de estos resultados, fue posible determinar que el dopaje con plata ayuda a inhibir el crecimiento bacteriano y que las nanopartículas de cobre son las que logran atacar mejor a la bacteria, seguida de las nanopartículas de zinc y finalizando con las de níquel.

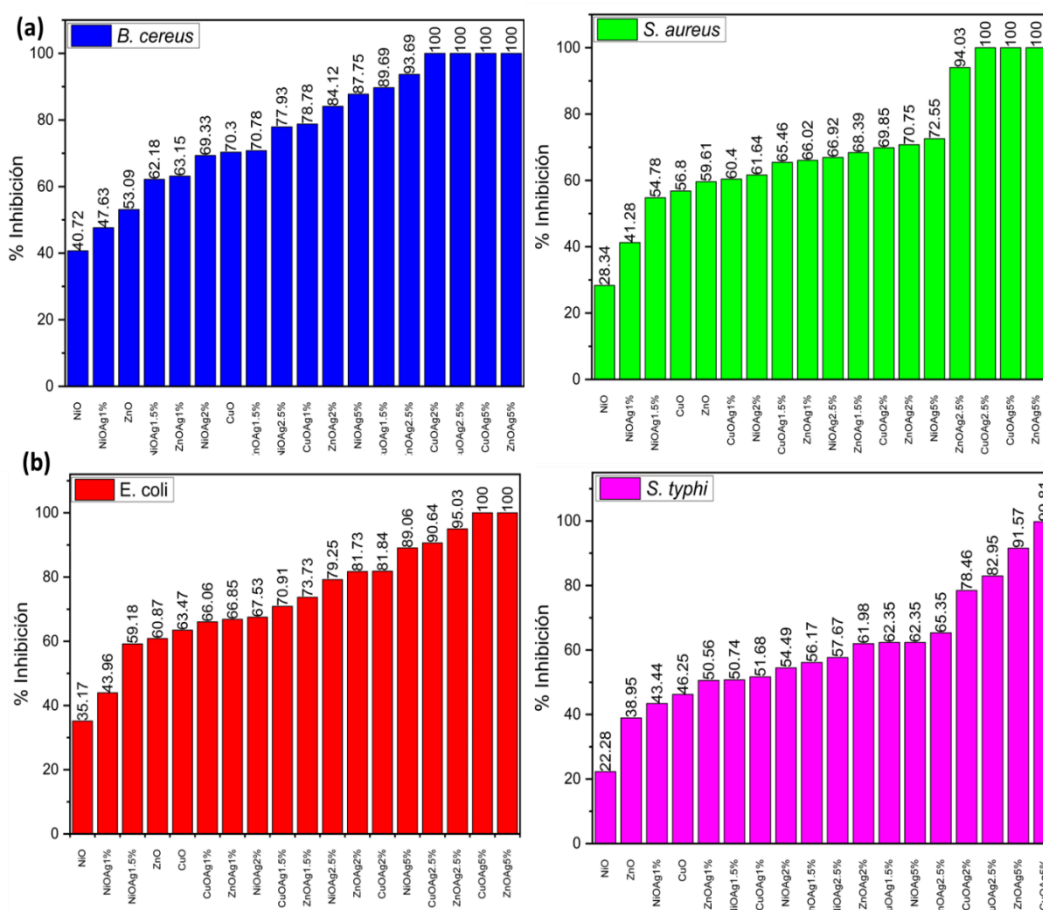


Figura 5.15. Porcentaje de inhibición: (a) Gram positivas *B. cereus* y *S. aureus* (b) Gram negativas *E. coli* y *S. typhi*

Una de las maneras de clasificar a las bacterias es con base en ciertas características en la composición de su pared celular. Partiendo de esto, las bacterias se dividen en dos categorías principales: Gram negativas y Gram positivas. La pared celular se encarga de proteger el interior de la bacteria ante impactos negativos que pudieran provocar factores externos (físicos, químicos y biológicos), más específicamente, se pueden mencionar tres principales funciones de la pared celular: a) el intercambio de sustancias en la célula, b) el aislamiento del contenido celular y c) el control de reacciones bioquímicas que suceden en la célula. Un componente clave en las células bacterianas es el polímero peptidoglicano. Las bacterias Gram positivas tienen paredes celulares gruesas, esto es, que existe una región multicapa de peptidoglicano. Las bacterias Gram negativas tienen una capa delgada de peptidoglicano que se ubica entre la célula y las membranas externas en una región llamada espacio periplásmico (característica en Gram negativas).[201]

Las nanopartículas de óxidos metálicos liberan iones de la superficie de las nanopartículas, que interactúan con grupos funcionales de macromoléculas biológicas, como lo son las proteínas presentes en la pared celular de las bacterias. También contribuyen en la generación de especies reactivas de oxígeno ROS, seguido de la peroxidación lipídica, estos efectos son los principales mecanismos antibacterianos. Además, gracias a su tamaño y forma, pueden dañar físicamente la membrana celular, entrar e interrumpir funciones metabólicas, inhibiendo así, el crecimiento celular de las bacterias. La inhibición causada por las nanopartículas se debió principalmente a sus propiedades fotocatalíticas que, con presencia de luz visible, presentaron una oxidación por radicales libres, o visto de una manera más apropiada, una acción de inhibición por la aparición de (ROS).[202]

5.4 Elaboración de un filtro con las nanopartículas metálicas

El objetivo principal de este filtro fue reducir la presencia de bacterias, virus y otros microorganismos en el agua, para garantizar que el agua sea segura para el consumo humano, siendo un proceso que involucra la selección adecuada de materiales y la optimización variables.

En este caso el medio filtrante empleado consistió en los nanomateriales que mejor rendimiento presentaron para inhibir el crecimiento bacteriano, en este caso fueron las nanopartículas de óxido de zinc, óxido de cobre y óxido de níquel dopadas con plata al 2.5 y 5%. Posteriormente se evaluaron dos velocidades de flujo para determinar cuál es la más adecuada y de esta manera garantizar una buena calidad del recurso hídrico. Sabiendo que este diseño puede llegar a implementarse a escala real.



Figura 5.16. Filtro con nanopartículas empleado para la remoción de microorganismo

Para este diseño se emplearon 2 gramos de cada nanomaterial y se varió el flujo de 0.4 L/s (con bomba de aire) a 0.0002 L/s (caída libre) para filtrar 0.5 L de agua sintética contaminada con los microorganismos a evaluar en este caso fue la bacteria Gram positiva *S. aureus* y la bacteria Gram negativa *S. typhi* que fueron las que mayor resistencia presentaron en los estudios antibacterianos.

5.4.1 Flujo laminar

En la Tabla 5.14 se muestran los datos obtenidos para el flujo de 0.0002 L/s empleados para disminuir la presencia de la bacteria Gram negativa *S. typhi* en donde la tasa de carga hidráulica indica la cantidad de agua que fluye a través de una sección transversal de un conducto. En este caso el filtro elaborado con cada uno de los nanomateriales. Este parámetro se obtiene empleando la ecuación de continuidad de Bernoulli que establece que la tasa de flujo del agua es igual al producto de la velocidad del agua sobre el área transversal en donde se evidencia que entre menor área el fluido fluye más rápido. En cuanto al número de Reynolds se determinó un flujo laminar ya que los valores no superaron los 2000 es decir que las partículas del fluido se mueven en capas ordenadas y paralelas entre si sin mezclarse; en donde la densidad del agua fue de 1.000 kg/m³ a 25°C y una de 0.000891 kg/m.s. El factor de fricción indica la resistencia que presenta un fluido al pasar por un conducto en este caso al ser un flujo laminar se emplea la ecuación de Poiseuille:

$$f = \frac{64}{Re} \quad (\text{Ecuación 13})$$

Siendo proporcional al inverso del número de Reynolds, lo que indica que a medida que el Reynolds aumente este disminuye ya que el factor de fricción está relacionado con la viscosidad del fluido y la velocidad del flujo siendo independiente del diámetro del tubo en este caso podemos ver que el lecho elaborado con nanopartículas presentó un factor de fricción de 1.791. En cuanto a la pérdida de presión se obtuvieron valores bastante bajos lo que indica que la caída de presión a lo largo de la tubería no varía significativamente con la presión con la cual ingresa el fluido para este parámetro se empleó la siguiente formula:

$$\Delta P_f = f \frac{L}{D} \frac{\rho V^2}{2} \quad (\text{Ecuación 14})$$

La pérdida de carga es la disminución de la energía del fluido a media que atraviesa la tubería debido a la fricción y la resistencia al flujo; siendo expresada en este caso en términos de altura mediante la ecuación de Darcy-Weisbach para este caso no existen pérdidas significativas de carga:

$$h_f = \frac{\Delta P_f}{\rho * g} \quad (\text{Ecuación 15})$$

Tabla 5.14. Parámetros hidráulicos con un flujo de 0.0002L/s.

Parámetro	Unidad	Resultado
Tasa de carga hidráulica (H_L)	m/s	3.98×10^{-3}
Número de Reynolds (Re)	-	35.725
Factor de fricción (f)	-	1.791
Pérdida de presión (ΔP_f)	Pa	1.59×10^{-2}
Pérdida de carga de la tubería (h_f)	M	1.62×10^{-6}

5.4.2 Flujo turbulento

El filtro empleado para disminuir la densidad óptica de la bacteria Gram positiva *S. aureus* con un caudal de 0.4 L/s arrojó los datos representados en la Tabla 5.15; en donde la tasa de carga hidráulica fue menor. Esto se debe a usó de la bomba de aire para impulsar el fluido, por tal motivo la cantidad de agua que pasó por unidad de tiempo fue mayor; lo que causa que el flujo sea turbulento es decir

que el fluido se mueve de manera caótica y aleatoria y por lo tanto el número de Reynolds fue mayor a 2000; en este caso fue de 71,450.03. En cuanto al factor de fricción se determinó mediante la ley de Colebrook-White, en donde se tomó en cuenta la rugosidad de la superficie. Para este caso se empleó el valor de 0.0015 mm correspondiente a vidrio de laboratorio.[203]

$$f = \frac{0.25}{\left[\log \left[\frac{\varepsilon}{3.71 * D} + \frac{5.74}{Re^{0.9}} \right] \right]^2} \quad (\text{Ecuación 16})$$

En este caso se observó un cambio significativo con el flujo laminar, lo que indica que con ayuda de la bomba el fluido pudo moverse más fácilmente por el filtro. Sin embargo, la pérdida de presión aumentó debido al aumento de la velocidad del fluido. Aunque, en otros casos se pudo ver afectada por la rugosidad, longitud y las dimensiones de la sección transversal de la tubería, así como la viscosidad del fluido, lo cual afectó directamente la pérdida de carga.

Tabla 5.15. Parámetros hidráulicos con un flujo de 0.4 L/s.

Parámetro	Unidad	Resultado
Tasa de carga hidráulica (H_L)	m/s	7.95
Número de Reynolds (Re)	-	71450.3
Factor de fricción (f)	-	0.0009
Pérdida de presión (ΔP_f)	Pa	31.90
Pérdida de carga de la tubería (h_f)	M	3.25×10^{-3}

5.4.3 Diseño de experimentos para la optimización de variables de un filtro con nanopartículas metálicas

Para obtener las condiciones más viables de operación y lograr un mayor porcentaje de remoción de microorganismos patógenos se evaluó un diseño experimental 2^3 como se describió en la metodología para los nanomateriales de óxido de zinc, óxido de cobre y óxido de níquel cada uno de estos experimentos se realizó de manera aleatoria como se presenta a continuación para asegurar que cualquier efecto observado se debiera únicamente al tratamiento que se está evaluando y no a otras variables que pudieran influir en los resultados; los datos aleatorios son los que se presentan a continuación determinados por el software *Statgraphics Centurion XVI*.

Tabla 5.16. Variables aleatorias del diseño de experimentos: Factor A: Dopaje, Factor B: Bacteria y Factor C: Flujo.

Factor A	Factor B	Factor C	(%) Remoción ZnO	(%) Remoción CuO	(%) Remoción NiO
5	1	0.4	66.01	63.15	40.74
5	0	0.0002	48.00	57.89	34.74
2.5	0	0.0002	44.86	54.55	30.56
2.5	1	0.0002	52.65	73.98	43.55
2.5	0	0.4	44.34	41.25	26.19
2.5	1	0.4	46.45	56.45	33.33
5	1	0.0002	72.11	78.43	47.87
5	0	0.4	49.02	52.00	34.25
5	1	0.4	63.46	60.17	44.16
5	0	0.0002	57.14	58.62	40.82
2.5	0	0.0002	45.71	50.00	34.62
2.5	1	0.0002	49.49	70.59	43.06
2.5	0	0.4	42.71	42.67	32.89
2.5	1	0.4	48.33	54.00	35.38
5	1	0.0002	76.69	73.21	54.55
5	0	0.4	46.00	54.17	37.35

En la Tabla 5.16 se muestran las diferentes combinaciones de los tres factores que se están evaluando: Porcentaje de dopaje con plata (Factor A), tipo de bacterias (Factor B) y tasa de flujo (Factor C) para disminuir la presencia de microorganismos patógenos en agua empleando los nanomateriales dopados con 2.5% y 5 % de plata. El porcentaje de remoción se midió para cada combinación de factores, los resultados mostraron que la mayor eficiencia con el óxido de zinc se logró cuando se dopó con plata al 5% en la bacteria Gram positiva con una tasa de flujo de 0.0002 L/s (76.69%). Por otro lado, el porcentaje de eliminación más bajo fue con el óxido de níquel dopado al 2.5% en la bacteria Gram negativa con una tasa de flujo era de 0.4 L/s (42.71%). Con el óxido de cobre se puede observar que el valor máximo de remoción fue de 78.43% con el valor máximo de dopaje bacterias Gram (+) con el flujo más bajo; mientras que la remoción más baja se dio con el valor mínimo de dopaje en las bacterias Gram (-) con el mayor flujo establecido. Sabiendo que en el diseño el factor A toma como valor máximo cinco (5) y valor mínimo (2.5), el factor B es binario en donde se hace referencia al tipo de bacteria Gram positiva (1) y Gram negativa (0) y el factor C es el flujo en (L/s); finalmente óxido de níquel se puede evidenciar que el porcentaje de remoción no es tan alto como con el óxido de zinc y el óxido de cobre; lo cual concuerda con los resultados obtenidos en los estudios antibacterianos. En este caso el mayor porcentaje de remoción fue 54.55% y el mejor fue 26.19% manteniendo las mismas condiciones que con los nanomateriales anteriores. En donde se pudo concluir que a medida que aumentó el dopaje de plata el porcentaje de remoción fue mayor;

presentando una mayor actividad en las bacterias Gram positivas y con un flujo bajo para que exista una mayor interacción entre el nanomaterial y el contaminante.

5.4.4 Análisis estadístico del diseño experimental

Para optimizar las condiciones de operación de cada uno de los filtros elaborados con los nanomateriales se realizó un ANOVA (Tabla 5.17). Esta es una técnica estadística utilizada para analizar si hay diferencias significativas entre las medias de tres o más grupos. El análisis de varianza descompone la variación total en los datos de dos componentes: La variación debida a las diferencias entre los grupos y la variación debida a las diferencias dentro de los grupos. Si la variación entre los grupos es significativamente mayor que la variación dentro de los grupos se concluye que existe una diferencia significativa entre las medias de los grupos. Se utiliza comúnmente en la investigación experimental y en estudios observacionales para comparar las medias de varios grupos y determinar si las diferencias observadas son estadísticamente significativas. También se puede utilizar para analizar el efecto de una o más variables independientes en una variable dependiente; en este caso se van a evaluar tres factores y dos bloques para determinar el porcentaje de remoción de bacterias en agua como se explicó en el capítulo de metodología.

Tabla 5.17. ANOVA para filtro con nanopartícula de óxido de zinc, óxido de cobre y óxido de níquel.

Óxido de zinc					
Fuente	Suma de cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:Dopaje	674.558	1	674.558	86.25	0
B:Bacteria	593.373	1	593.373	75.87	0
C:Flujo	101.652	1	101.652	13	0.0057
AB	216.288	1	216.288	27.65	0.0005
AC	21.583	1	21.583	2.76	0.131
BC	10.6455	1	10.6455	1.36	0.2733
Error total	70.3894	9	7.82105		
Total (corr.)	1688.49	15			

Óxido de cobre					
Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:Dopaje	183.101	1	183.101	39.29	0.0001
B:Bacteria	882.209	1	882.209	189.31	0
C:Flujo	545.9	1	545.9	117.14	0
AB	12.8092	1	12.8092	2.75	0.1317
AC	16.0761	1	16.0761	3.45	0.0962
BC	62.0314	1	62.0314	13.31	0.0053

Error total	41.9414	9	4.66016		
Total (corr.)	1744.07	15			
Óxido de níquel					
Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:Dopaje	188.376	1	188.376	20.05	0.0015
B:Bacteria	317.018	1	317.018	33.75	0.0003
C:Flujo	129.277	1	129.277	13.76	0.0048
AB	5.17562	1	5.17562	0.55	0.4769
AC	0.3969	1	0.3969	0.04	0.8417
BC	40.1956	1	40.1956	4.28	0.0685
Error total	84.5493	9	9.39437		
Total (corr.)	764.988	15			

Para el filtro realizado con nanopartículas de óxido de zinc dopado con plata al 2.5 y 5% se obtuvo el Análisis de Varianza, ANOVA por sus siglas en inglés, en donde se puede observar que los supuestos a evaluar se comportan de manera aleatoria independiente; la tabla particiona la variabilidad de remoción en piezas separadas para cada uno de los efectos, entonces prueba la significancia estadística de cada efecto comparando su cuadrado medio contra un estimado del error experimental. En este caso, 4 efectos tienen un valor-P menor que 0.05, indicando que son significativamente diferentes de cero con un nivel de confianza del 95.0%; en particular, la interacción A:Dopaje, B:Bacteria, C:Flujo y AB:Dopaje y Bacteria tienen valores p muy bajos, lo que sugiere que son importantes para explicar las diferencias en la variable de respuesta (% de remoción); mientras que la interacción AC y BC no son significativas, ya que sus valores p son mayores que 0.05. En este diseño, el R^2 es de 95.8312% en para la remoción de las bacterias evaluadas, esto significa que el modelo es bastante preciso en su capacidad para predecir la remoción; el error estándar del estimado indica que la desviación estándar de los errores residuales (diferencia entre el valor real y el valor predicho) es de 2.79661 y el error medio absoluto (MAE) de 1.67644 indica que, en promedio, los errores residuales empleando el modelo pueden estar desviadas por un valor de 1.67644 unidades.

Los resultados obtenidos para la remoción de las bacterias con el óxido de cobre dopado al 2.5% y 5% muestran porcentajes entre un 41.25% hasta 78.43%; el R^2 en este diseño es de 97.5952% de la variabilidad en el porcentaje de remoción, el error estándar del estimado muestra que la desviación estándar de los residuos es 2.15874 y el error medio absoluto (MAE) de 1.42913 es el valor promedio de los residuos; el error total representa la variabilidad no explicada por los factores o interacciones y se utiliza para calcular la significancia estadística de los factores. El total corregido es la suma de

los cuadrados total de los datos y se utiliza para calcular la cantidad de variabilidad total en los datos que es explicada por los factores.

En este caso los factores A, B, C y BC tienen un valor de P bajo lo que indica que hay una diferencia significativa entre los niveles en cuanto al efecto en la variable de respuesta. En este caso los factores AB y AC no son significativos ya que el valor es superior al 0.05. Con las nanopartículas de óxido de níquel se evidenció una menor eficiencia comparado con el óxido de zinc y el óxido de cobre con un R^2 de 88.9476% para la variable respuestas; el error estándar del estimado muestra que la desviación estándar de los residuos es 3.06502 y el error medio absoluto (MAE) de 2.03625. En este caso los factores que son significativos son el A, B y C, sin embargo, la interacción entre estos nos fue significativa.

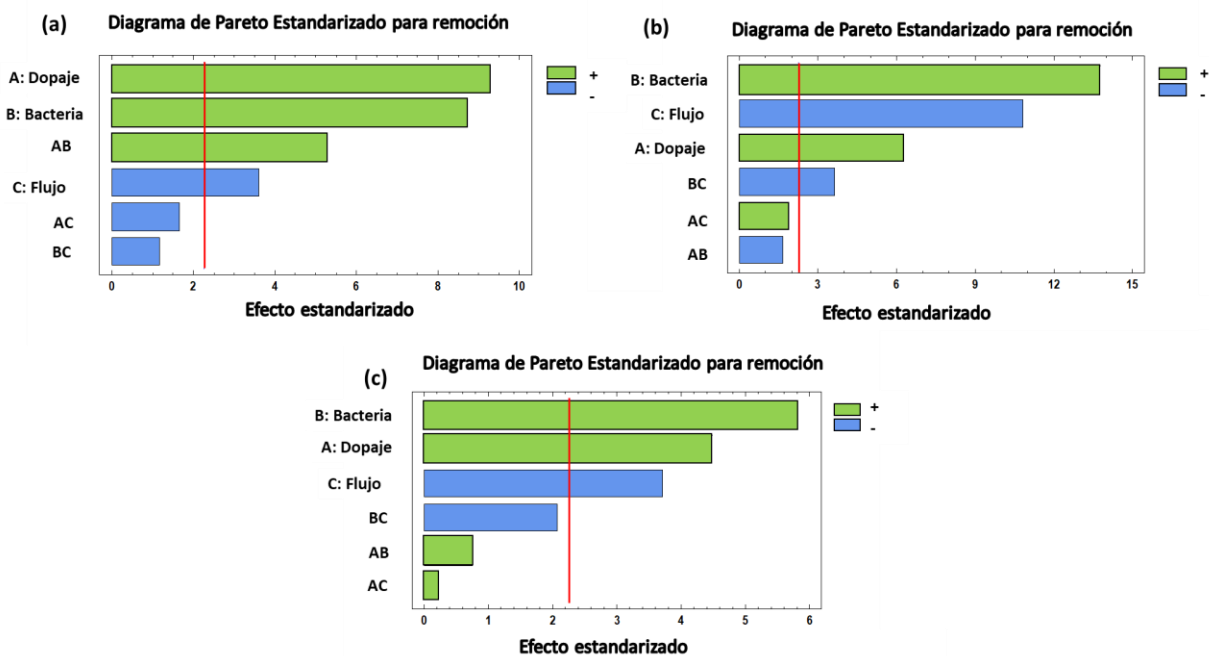


Figura 5.17. Diagrama de Pareto: (a) óxido de zinc, (b) óxido de cobre y (c) óxido de níquel

En el diagrama de Pareto del filtro empleado para el óxido de zinc se puede determinar que el dopaje con plata, el tipo de bacteria, el flujo y la interacción entre el factor AB superaron el valor crítico, es decir, que estas fuentes de variación son importantes para determinar los valores óptimos de remoción; mientras que la interacción entre los factores AC y BC no son relevantes para mejorar la eficiencia del proceso. Por otro lado, se puede determinar que los factores que impactan de manera negativa el proceso fueron: factor C, factor AC y factor BC, mientras que los demás: el dopaje, el tipo de bacteria y la interacción entre estos dos ayudaron a mejorar los resultados. Sin embargo, para el filtro con nanopartículas de cobre el factor que más influyó de manera positiva el filtro fue el factor

B; seguido del factor B. Por otro lado, el factor C y la interacción entre el factor BC superaron el valor crítico, pero afectaron de manera negativa el proceso, mientras que la interacción entre AC y AB no son significativas en el diseño; la primera de ellas afectando positivamente el proceso y la segunda de manera negativa. En el caso del óxido de níquel se puede identificar que el tipo de bacteria y el dopaje impactan de manera positiva el experimento mientras que el flujo lo impacta de manera negativa; además se puede determinar que todas las interacciones entre cada uno de los factores no presentan un cambio significativo en el filtro; sin embargo, la interacción entre la bacteria y el flujo (factor BC) no aporta mejoras en el proceso lo que sí ocurre con las demás interacciones AB y AC.

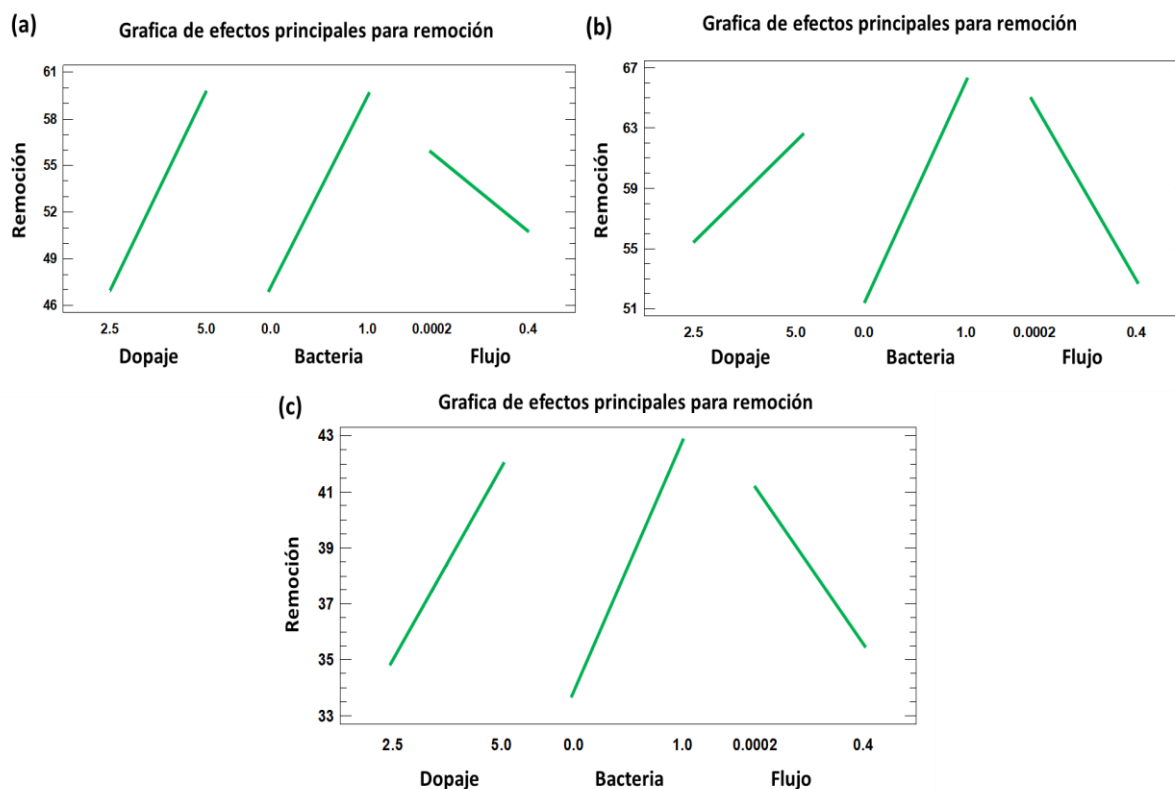


Figura 5.18. Gráfica de efectos principales para la remoción: (a) óxido de zinc, (b) óxido de cobre y (c) óxido de níquel

En la Figura 5.18 de efectos principales se presentan los tres factores que se están evaluando y sus correspondientes pendientes. Con base en el porcentaje de remoción en el caso del óxido de zinc para el factor A y B se observaron pendientes positivas, es decir, que aumentaron la variable respuesta cuando se tiene un mayor valor de estos.]En cuanto el factor C se observó una pendiente negativa ya que medida que aumentó el flujo el porcentaje de remoción fue menor y su efecto no fue tan impactante como los otros factores debido a la longitud de la línea. Con el óxido de cobre al evaluar la variable respuesta, se determina que tanto el porcentaje de dopaje y el tipo de bacteria presentan

efectos que ayudan a la optimización del diseño ya que cuentan con pendientes positivas; mientras que el flujo no aporta de manera positiva al diseño del filtro; en el caso del óxido de níquel se evidencia que cuando aumenta el dopaje del nanomaterial la remoción es mayor, siendo más eficiente para la bacteria Gram positiva con un flujo bajo.

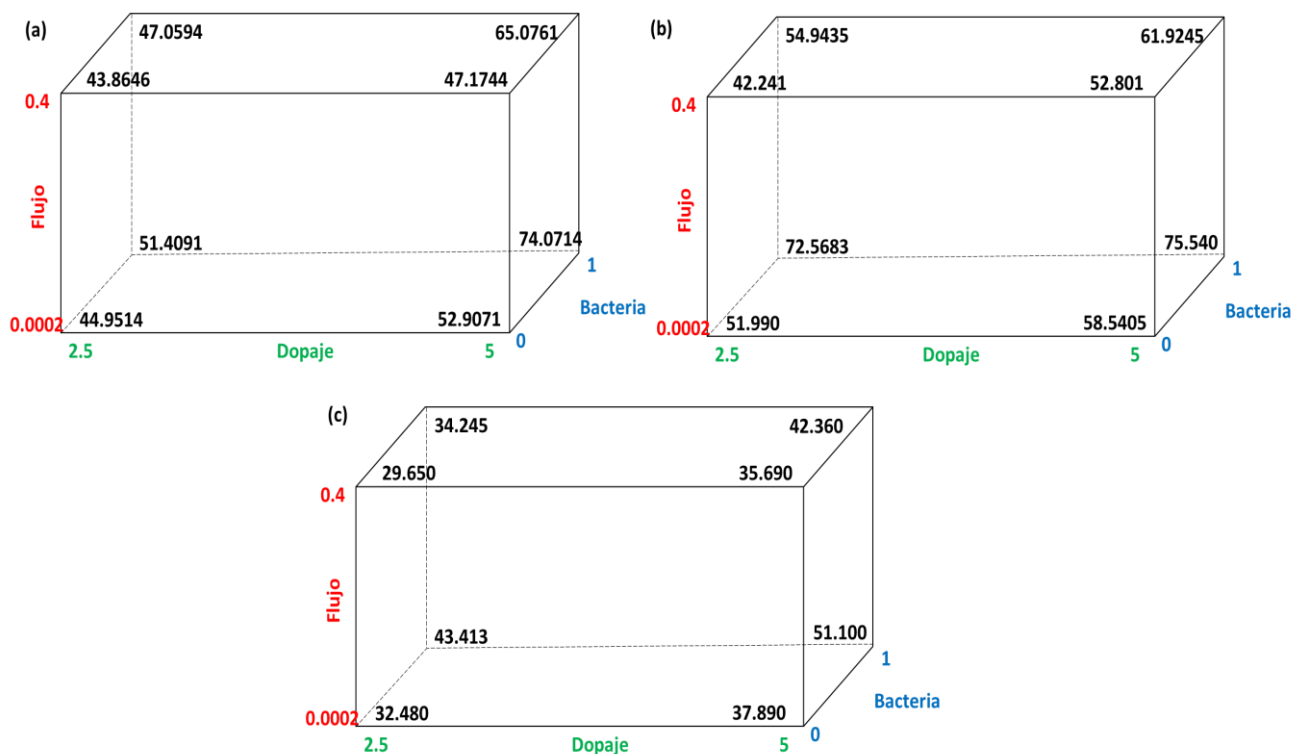


Figura 5.19. Cubo diseño experimental: óxido de zinc: (a) óxido de zinc, (b) óxido de cobre y (c) óxido de níquel

Una vez analizados los datos de óxido de zinc se obtuvieron los valores que optimizaron la remoción de microorganismos. Para este caso fueron los siguientes: Dopaje del nanomaterial al 5% empleando bacterias Gram positivas y con un flujo de 0.0002 L/s. El cubo experimental del óxido de cobre ilustra los valores máximos y mínimos que se pueden obtener con los diversos factores evaluados en donde se establecen los parámetros para optimizar. Para el caso de querer inhibir el crecimiento de la bacteria *S. typhi* y querer remover un porcentaje del 75.540% es necesario operar el filtro con el flujo más bajo y con el filtro de óxido de níquel si se quiere aumentar la efectividad del proceso de filtrado para microorganismos con las condiciones establecidas en este proyecto, se obtendría una remoción máxima del 51.10% de deseabilidad optimizada. Esto se dará con un dopaje de óxido de níquel con 5 % de plata, en bacterias Gram positivas y con un flujo bajo, tal como se muestra en el cubo del diseño experimental.

6 CONCLUSIONES

Con respecto a la hipótesis inicial del estudio, las nanopartículas de óxido de zinc, óxido de cobre y óxido de níquel sin dopar y dopadas con plata demostraron ser efectivas como agentes antibacterianos reduciendo la presencia de bacterias en el agua; en donde se puede destacar los siguiente:

- Se logró sintetizar nanopartículas de óxido de zinc, óxido de cobre y óxido de níquel sin dopar y dopadas con plata en diferentes relaciones. Para determinar sus propiedades física y químicas se emplearon técnicas de caracterización XRD, SEM, HRTEM, EDS y TEM lo que permitió identificar las diferentes propiedades asociadas a la distribución, estructura, morfología y peso elemental.
- El dopaje con plata disminuyó la banda prohibida de los nanomateriales, lo cual permitió que los electrones se movilizaron más fácilmente produciendo una mayor liberación de especies reactivas de oxígeno. Esta disminución se corroboró mediante la determinación de la impedancia en donde a mayor porcentaje de plata la transferencia de electrones fue más rápida y se requiere de una menor cantidad de energía.
- Las bacterias Gram negativas (*Escherichia coli* y *Salmonella typhi*) mostraron una mayor resistencia que las bacterias Gram positivas (*Staphylococcus aureus* y *Bacillus cereus*) en los estudios de antibiograma de discos (ZOI), concentración mínima inhibitoria (MIC) y densidad óptica (DO); esta resistencia se atribuye a la presencia de una membrana externa en la Gram (-), que actúa como una barrera adicional, obstaculizando la entrada de los nanomateriales en el interior de la célula bacteriana.
- Al incrementar la cantidad de plata en los nanomateriales se logró una mejora significativa en las propiedades antibacterianas, lo cual se confirmó mediante los diversos estudios antibacterianos. Los nanomateriales que demostraron una mayor eficiencia en la inhibición del crecimiento bacteriano fueron: CuOAg2%, CuOAg2.5%, CuOAg5%, ZnOAg2.5% y ZnOAg5% tanto en bacterias Gram positivas como en Gram negativas.
- Se logró emplear las nanopartículas como lecho para un filtro de manera exitosa, con lo cual disminuyó la turbidez de las bacterias presentes en agua; esto fue evaluado con un diseño factorial 2^3 mostrando una reducción significativa en la población bacteriana lo que sugiere que los filtros con nanomateriales pueden ser una estrategia efectiva para el tratamiento de agua contaminada.

7 PERSPECTIVAS

- Para aumentar la producción de especies reactivas de oxígeno y disminuir la presencia de bacterias en el agua se podría adicionar al medio H_2O_2 para contar con un sistema tipo fenton en un medio ácido. (pH 3-5)
- Los resultados obtenidos sugirieron la posibilidad de evaluar el proyecto en presencia de luz visible, lo cual podría disminuir significativamente los costos a escala real. De esta manera, se podrían desarrollar procesos productivos más eficientes y económicos.
- Se recomienda realizar un diseño de experimentos para optimizar el tamaño de partícula del óxido de zinc, dado que, si bien este compuesto presenta propiedades antibacterianas, se ha observado que, al disminuir su tamaño, su eficiencia como agente antibacteriano podría incrementarse.
- A pesar de haber obtenido resultados favorables con el flujo mínimo en condiciones de laboratorio, no necesariamente es viable su aplicación a escala real. Por lo tanto, se hace necesario explorar y ajustar las variables pertinentes para poder obtener variaciones que sean adecuadas para su implementación en este ámbito.

REFERENCIAS

1. Arcos Pulido MdP, Ávila de Navia SL, Estupiñán Torres SM, Gómez Prieto AC: **Indicadores microbiológicos de contaminación de las fuentes de agua.** *NOVA publ cient* 2005:69-79.
2. Prescott LM, Harley JP, Klein DA: **International Microbiology**, vol. 2000, vol. 3, no 3, p. 198-199.: McGraw-Hill Interamericana; 2004.
3. Parveen S, Huq A, Aziz K: **Antibiotic resistance patterns of Aeromonas spp. isolated from environmental and clinical sources.** *Bangladesh journal of microbiology* 1988, **5(2)**:25-29.
4. Guardabassi L, Dalsgaard AJA, Microbiology E: **Occurrence, structure, and mobility of Tn 1546-like elements in environmental isolates of vancomycin-resistant enterococci.** *Applied Environmental Microbiology* 2004, **70(2)**:984-990.
5. Fernández Cabada T: **Caracterización de nanopartículas magnéticas y de oro para posibles aplicaciones biomédicas en diagnóstico y terapia.** Telecomunicacion; 2014.
6. Liu Y-j, He L-l, Mustapha A, Li H, Hu Z, Lin M: **Antibacterial activities of zinc oxide nanoparticles against Escherichia coli O157: H7.** *Journal of applied microbiology* 2009, **107(4)**:1193-1201.
7. Villegas Fuentes JA: **Biosíntesis de nanopartículas semiconductoras de óxido de zinc para la degradación de contaminantes del agua.** 2020.
8. Igal K: **Telas antimicrobianas impregnadas con partículas de Ag o Zn reciclado incluidas en matrices silíceas modificadas.** Universidad Nacional de La Plata; 2019.
9. Pumacota Parichahua NL: **Evaluación de los parámetros Físico-químicos fundamentales para la obtención de nanopartículas de óxido de cobre utilizando Physalis peruviana (Aguaymanto).** *Química Verde* 2018.
10. Andersen ES, Dong M, Nielsen MM, Jahn K, Subramani R, Mamdouh W, Golas MM, Sander B, Stark H, Oliveira C: **Self-assembly of a nanoscale DNA box with a controllable lid.** *Nature* 2009, **459(7243)**:73-76.
11. Vázquez-Olmos AR, Vega-Jiménez AL, Paz-Díaz BJMnRienyn: **Mecanosíntesis y efecto antimicrobiano de óxidos metálicos nanoestructurados.** *Mundo nano Revista interdisciplinaria en nanociencias y nanotecnología* 2018, **11(21)**:29-44.
12. Loera-Serna S, Castillo AO: **Redes Metal Orgánicas de Plata como Inhibidores Bacterianos.** *Revista de Química* 2022, **36(1)**:2-9.
13. Fuentes-López D, Ortega-Zambrano D, Fernández-Herrera MA, Mercado-Uribe H: **The growth of Escherichia coli cultures under the influence of pheomelanin nanoparticles and a chelant agent in the presence of light.** *Plos one* 2022, **17(3)**:e0265277.
14. Duarte CM, Alonso S, Benito G, Dachs J, Montes C, Pardo Buendía M, Ríos AF, Simó R, Valladares F: **Cambio Global. Impacto de la actividad humana sobre el sistema Tierra:** CSIC. Consejo superior de investigaciones científicas; 2006.
15. Schweitzer L, Noblet J: **Water contamination and pollution.** In: *Green chemistry.* Elsevier; 2018: 261-290.
16. Lobo CC: **Tratamiento biológico de aguas residuales industriales.** Universidad Nacional de La Plata; 2014.
17. Rodríguez J: **Contaminación del agua.** Bogotá: Fundación en causa por el desarrollo humano 2010(255-300).
18. Guadarrama-Tejas R, Kido Miranda J, Roldan Antunez G, Salas Salgado M: **Contaminación del agua.** *Revista de Ciencias Ambientales y Recursos Naturales* 2016, **2(5)**:1-10.
19. Rojas C: **Desarrollo Sustentable. Nuevo paradigma para la administración pública** 2003.
20. Romero AM, Gómez KF, Sánchez JO, García C: **Monitoreo de la calidad microbiológica del agua en la cuenca hidrológica del Río Nazas, México.** *Química Viva* 2009, **8(1)**:35-47.

21. Rodríguez J: **Contaminación del agua**. Bogotá: *Fundación en causa por el desarrollo humano* 2010:255-300.
22. Adriázola Vasquez JP, Velasco Quintanilla F, Chincheros Paniagua J: **Análisis del grado de contaminación del agua en la Bahía de Cohana y su influencia en la calidad de la leche del ganado bovino**. 2015.
23. Torres-Avalos GA, Lozano-González EA: **Disminución de sólidos de aguas grises mediante un proceso de aireación**. *Ra Ximhai* 2017, **13**(3):393-404.
24. Malagón MDE: **Medio ambiente y contaminación, principios básicos**. *Medio Ambiente y Contaminación Principios Básicos, 1 ra Edición* 2011:1-119.
25. Salvador AG, Alcaide AS, Sánchez CC, Salvador LG: **Evaluación de impacto ambiental**: Pearson Educación; 2005.
26. Mexicana NO: **Límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales a los sistemas de alcantarillado urbano o municipal**. *Diario Oficial de la Federación (DOF)*. In.: NOM-002-SEMARNAT-1996.
27. de la Federación DDO: **NOM-003-SEMARNAT-1997 Que establece los límites máximos permisibles de contaminantes para aguas residuales tratadas que son reusadas en servicios para el público (Establishing the maximum permissible limits of contaminants for treated wastewaters that are reused in services to the public)**. In.: DOF 21/09/1988, México DF; 1998.
28. Salud Sd: **Modificación a la Norma Oficial Mexicana NOM-127-SSA1-1994, Salud ambiental. Agua para uso y consumo humano. Límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización**. *Diario oficial de la Federación* 2000, **566**(15):73-79.
29. Ramírez S, Vega JC: **Agua: Fuentes, caracterización, tecnología y gestión sustentable**: Alpha Editorial; 2017.
30. Auge M: **Agua fuente de vida**. *Salud mundial* 2007, **31**.
31. Jiménez BE: **La contaminación ambiental en México**: Editorial Limusa; 2001.
32. do Amaral Silva JF, Pereira RG: **Panorama global da distribuição e uso de água doce**. *Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais* 2019, **10**(3):263-280.
33. AQUASTAT F: **Online database**. Rome, “Food and agriculture organization of the united nations”(FAO). In.; 2018.
34. Cliver DO: **Significance of Water and the Environment in the Transmission of Virus Disease1**. In: *Enteric viruses in water*. vol. 15: Karger Publishers; 1984: 30-42.
35. Guzmán BL, Nava G, Díaz P: **La calidad del agua para consumo humano y su asociación con la morbimortalidad en Colombia, 2008-2012**. *Biomédica* 2015, **35**(SPE):177-190.
36. Tobón SR, Cadavid RMA, Builes LAG: **Patógenos e indicadores microbiológicos de calidad del agua para consumo humano**. *Revista Facultad Nacional de Salud Pública* 2017, **35**(2):236-247.
37. Organization WH: **Technical brief on water, sanitation, hygiene and wastewater management to prevent infections and reduce the spread of antimicrobial resistance**. *WHO/FAO/OIE* 2020.
38. Peña A: **¿Cómo funciona una célula? Fisiología celular**: Fondo de Cultura Económica; 2013.
39. Vega AM: **Control de plagas y enfermedades forestales**: Mundi-Prensa Libros; 2017.
40. Ibáñez E, Guerrero M: **Las algas que comemos**, vol. 81: Los libros de la Catarata; 2017.
41. Pérez M, Mota M: **Morfología y estructura bacteriana**. *Temas de bacteriología y virología médica* 2006.
42. Castro AM: **Bacteriología médica basada en problemas**: Editorial El Manual Moderno; 2014.

43. Moeller G, Tomasini A: **Microbiología de lodos activados**. *Memorias curso internacional de sistemas integrados de tratamiento de aguas residuales y su reúso para un medio ambiente sustentable* Bogotá: Instituto Mexicano de Tecnología del Agua 2004.
44. Organization WH: **Antimicrobial resistance: Global report on surveillance**: World Health Organization; 2014.
45. Bush LM, Talledo-Thais K, Casal-Fernandez A, Perez MT: **Resistant herpes simplex virus infection and HIV: a potential diagnostic and therapeutic dilemma**. *Laboratory Medicine* 2011, **42**(8):452-457.
46. Cervantes-García E, García-González R, Salazar-Schettino PM: **Características generales del Staphylococcus aureus**. *Revista Mexicana de Patología Clínica y Medicina de Laboratorio* 2014, **61**(1):28-40.
47. Duce JA, Bordenave SA, Ybarra L: **Investigación sobre la presencia de Bacillus cereus en Yerba Mate elaborada**. *Revista de Ciencia y Tecnología* 2012(17).
48. Rock C, Rivera B: **La Calidad del Agua, E. coli y su Salud**. *College of Agriculture Life Sciences* 2014, **1**.
49. Gonzales C, Anselmo T: **Determinar la carga bacteriológica de leche cruda de vaca y su relación con la calidad higiénica y sanitaria en el distrito de Baños–Huánuco**. 2017.
50. Gutiérrez Pérez JA: **Monitorización, detección y estimación de estados de fallo en la calidad del agua de redes de distribución urbanas**. Universitat Politècnica de València; 2021.
51. Organization WH: **Preventing travellers' diarrhoea: how to make drinking water safe**. Geneva: WHO 2005.
52. Chevrefils G, Caron É, Wright H, Sakamoto G, Payment P, Barbeau B, Cairns B: **UV dose required to achieve incremental log inactivation of bacteria, protozoa and viruses**. *IUVA News* 2006, **8**(1):38-45.
53. Hijnen W, Beerendonk E, Medema GJ: **Inactivation credit of UV radiation for viruses, bacteria and protozoan (oo) cysts in water: a review**. *Water research* 2006, **40**(1):3-22.
54. Murillo SEP, Castro SMdCR, Manosalva GV, Nevárez EMZ: **Sistema de Potabilización de Agua en Zonas Rurales**. *Revista Ibérica de Sistemas e Tecnologías de Informação* 2022:563-575.
55. Amado Piña D: **Degradación de contaminantes fenólicos en agua mediante el acoplamiento de procesos de oxidación avanzada (POA's)**. 2018.
56. Wright H, Cairns W: **Desinfección de agua por medio de luz ultravioleta**. In: *Trabajo presentado en los Anales simposio OPS: Calidad de agua, Desinfección efectiva: 1998*.
57. Quirós FR: **Desinfección del agua con cloro y cloraminas**. *Técnica industrial* 2005, **260**:55.
58. Díaz-Cuenca E, Alavarado-Granados AR, Camacho-Calzada KE: **El tratamiento de agua residual doméstica para el desarrollo local sostenible: el caso de la técnica del sistema unitario de tratamiento de aguas, nutrientes y energía (SUTRANE) en San Miguel Almaya, México**. *Quivera Revista de Estudios Territoriales* 2012, **14**(1):78-97.
59. Rojas R: **Sistemas de tratamiento de aguas residuales**. *Gestión integral de tratamiento de aguas residuales* 2002, **1**(1):8-15.
60. Becerra Pérez M, Sáinz Santamaría J, Muñoz Piña C: **Los conflictos por agua en México. Diagnóstico y análisis**. *Gestión y política pública* 2006, **15**(1):111-143.
61. García-Rojas N, Villanueva-Díaz P, Campos-Medina E, Velázquez-Rodríguez A: **Análisis de la adsorción como método de pulimiento en el tratamiento de aguas residuales**. *Quivera Revista de Estudios Territoriales* 2012, **14**(1):109-129.
62. Nejari F, Puig V, Quevedo J, Pascual J, de Campos S: **Economic Model Predictive Control of Aeration Systems in a Full Scale Biological Wastewater Treatment Plant**. In: *Computer Aided Chemical Engineering*. vol. 40: Elsevier; 2017: 1579-1584.
63. Rodríguez Latorre A: **Diseño de un humedal artificial para el municipio de Arcos de las Salinas (Teruel)**. 2017.

64. Teodosiu C, Gilca A-F, Barjoveanu G, Fiore S: **Emerging pollutants removal through advanced drinking water treatment: A review on processes and environmental performances assessment.** *Journal of cleaner production* 2018, **197**:1210-1221.
65. Grady Jr CL, Daigger GT, Love NG, Filipe CD: **Biological wastewater treatment:** CRC press; 2011.
66. Rincón-Silva NG: **Evaluación de parámetros físico-químicos del agua en el proceso de potabilización del río Subachoque.** *Revista Tecnogestión* 2017, **13**(1).
67. Chulluncuy-Camacho NC: **Tratamiento de agua para consumo humano.** *Ingeniería industrial* 2011(029):153-170.
68. Romero MJBE: **Tratamientos utilizados en potabilización de agua.** 2008, **8**:1-12.
69. Jaramillo Cazco CN: **Desinfección del agua para uso humano.** QUITO/EPN/2010; 2010.
70. Poole CP, Owens FJ: **Introducción a la nanotecnología:** Reverté; 2007.
71. Quintili M: **Nanociencia y Nanotecnología... un mundo pequeño.** *Cuadernos del Centro de Estudios en Diseño y Comunicación* 2012(42):125-155.
72. Malhotra BD, Ali MA: **Nanomaterials in biosensors: Fundamentals and applications.** *Nanomaterials for biosensors* 2018:1.
73. Desa NDM, Duralim M: **Gold-Nanoparticle Synthesization In Gum Arabic Solution By Pulsed Laser Ablation.** In: *Journal of Physics: Conference Series: 2021.* IOP Publishing: 012019.
74. Zambrano G: **Efecto de la nanoestructura sobre las propiedades térmicas y magnéticas de nanomateriales tipo 2D y 0D.** *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales* 2020, **44**(170):153-168.
75. Kolahalam LA, Viswanath IK, Diwakar BS, Govindh B, Reddy V, Murthy Y: **Review on nanomaterials: Synthesis and applications.** *Materials Today: Proceedings* 2019, **18**:2182-2190.
76. Aydın H, Yakuphanoglu F, Aydın C: **Al-doped ZnO as a multifunctional nanomaterial: Structural, morphological, optical and low-temperature gas sensing properties.** *Journal of Alloys Compounds* 2019, **773**:802-811.
77. Babu AT, Antony R: **Green synthesis of silver doped nano metal oxides of zinc & copper for antibacterial properties, adsorption, catalytic hydrogenation & photodegradation of aromatics.** *Journal of Environmental Chemical Engineering* 2019, **7**(1):102840.
78. Herrera Martín E: **Diseño, síntesis y estudio de nuevos semiconductores orgánicos para la fabricación de transistores de efecto campo.** *Ene* 2013, **11**:39.
79. Mirkhalaf F, Paprotny J, Schiffrin DJ: **Synthesis of metal nanoparticles stabilized by metal– carbon bonds.** *Journal of the American Chemical Society* 2006, **128**(23):7400-7401.
80. García-Contreras A, Castañeda-Facio A: **Obtención de Nanopartículas Metálicas Empleando Metodologías Verdes Obtaining Metallic Nanoparticles Using Green Methodologies.** *Revista Científica de la Universidad Autónoma de Coahuila* 2020, **12**(24).
81. Vila Seoane MF, Carullo JC: **Nanotecnología: su desarrollo en Argentina, sus características y tendencias a nivel mundial.** 2012.
82. Mittal T, Scholar MP: **Significant manipulations of nanotechnology in water purification.** *International Journal of Enhanced Research in Science Technology Engineering* 2012, **1**(1):7-7.
83. Theron J, Walker JA, Cloete TE: **Nanotechnology and water treatment: applications and emerging opportunities.** *Critical reviews in microbiology* 2008, **34**(1):43-69.
84. Chávez-Lizárraga GA: **Nanotechnology an alternative for wastewater treatment: Advances, Advantages and Disadvantages.** *Journal of the Selva Andina Research Society* 2018, **9**(1):52-61.
85. Gehrke I, Geiser A, Somborn-Schulz A: **Innovations in nanotechnology for water treatment.** *Nanotechnology, science applications* 2015, **8**:1.

86. Robles FO, Rojo JCT, Bas MS: **Tratamiento de aguas para la eliminación de microorganismos y agentes contaminantes.: Aplicación de procesos industriales a la reutilización de aguas residuales:** Ediciones Díaz de Santos; 2011.
87. López Ramírez MÁ, Castellanos Onorio OP, Lango Reynoso F, Castañeda Chávez MdR, Montoya Mendoza J, Sosa Villalobos CA, Ortiz Muñiz B: **Oxidación avanzada como tratamiento alternativo para las aguas residuales. Una revisión.** *Enfoque UTE* 2021, **12(4):**76-87.
88. Paez C, Taborda G: **La fotocatalisis: Aspectos fundamentales para una buena remoción de contaminantes.** *Revista Universidad de Caldas* 2006, **7:**71-88.
89. Pizarro de Oro P: **Desarrollo de materiales basados en TiO₂ mesoestructurado con aplicaciones fotocatalíticas.** 2005.
90. Rajeshwar K, Chenthamarakshan C, Goeringer S, Djukic M: **Titania-based heterogeneous photocatalysis. Materials, mechanistic issues, and implications for environmental remediation.** *Pure Applied Chemistry* 2001, **73(12):**1849-1860.
91. Reyes Tolosa MD: **Modelo de nucleación y crecimiento de capas nanoestructuradas de óxido de zinc sobre sustratos cerámicos con aplicación a materiales fotovoltaicos híbridos.** Universitat Politècnica de València; 2012.
92. Correcher V, García-Guinea J: **Técnicas Luminiscentes. Análisis químico mediante técnicas espectroscópicas moleculares** 2015.
93. Callister WD, Rethwisch DG: **Ciencia e ingeniería de materiales:** Reverté; 2019.
94. Peña DY, Vázquez C, Báez S, Anaya HA, Trisancho JL: **La espectroscopía de impedancia electroquímica (EIS) aplicada al estudio del mecanismo de la corrosión en caliente por sales fundidas.** *Dyna* 2004, **71(144):**39-47.
95. Pérez T: **Aplicación de la técnica Espectroscopía de Impedancia Electroquímica (EIS) en el estudio de la corrosión del acero de refuerzo embebido en concreto.** *Universidad Autónoma de Campeche, México* 2002:1-71.
96. Fontecha Umaña F: **Estudio de la eficacia bactericida y bacteriostática de productos químicos embebidos en materiales:** Universitat Autònoma de Barcelona; 2015.
97. Dutta RK, Nenavathu BP, Gangishetty MK, Reddy A: **Studies on antibacterial activity of ZnO nanoparticles by ROS induced lipid peroxidation.** *Colloids Surfaces B: Biointerfaces* 2012, **94:**143-150.
98. Salem W, Leitner DR, Zingl FG, Schratte G, Prassl R, Goessler W, Reidl J, Schild S: **Antibacterial activity of silver and zinc nanoparticles against Vibrio cholerae and enterotoxic Escherichia coli.** *International Journal of Medical Microbiology* 2015, **305(1):**85-95.
99. Huang K-S, Shieh D-B, Yeh C-S, Wu P-C, Cheng F-Y: **Antimicrobial applications of water-dispersible magnetic nanoparticles in biomedicine.** *Current medicinal chemistry* 2014, **21(29):**3312-3322.
100. Sánchez Moreno M: **Nanopartículas de plata: Preparación, caracterización y propiedades con aplicación en inocuidad de los alimentos.** 2017.
101. Miñana Prieto R: **Nanosistemas avanzados para aplicaciones dermatológicas;** 2017.
102. Ahumada Lazo R: **Crecimiento y caracterización de películas de óxido de zinc por "sputtering" para su potencial aplicación en fotocatalisis.** Universidad Autónoma de Nuevo León; 2014.
103. Abanto Gonzalez DM: **Efecto de la temperatura sobre la morfología y ancho de banda de nanopartículas de ZnO sintetizadas por el método hidrotermal.** 2020.
104. Singh P, Kim Y-J, Zhang D, Yang D-C: **Biological synthesis of nanoparticles from plants and microorganisms.** *Trends in biotechnology* 2016, **34(7):**588-599.
105. Sanchez-Moreno P, Ortega-Vinuesa JL, Peula-Garcia JM, Marchal JA, Boulaiz H: **Smart drug-delivery systems for cancer nanotherapy.** *Current drug targets* 2018, **19(4):**339-359.

106. Beyth N, Hourri-Haddad Y, Domb A, Khan W, Hazan R: **Alternative antimicrobial approach: nano-antimicrobial materials.** *Evidence-based complementary alternative medicine* 2015, **2015**.
107. Sun Q, Li J, Le T: **Zinc oxide nanoparticle as a novel class of antifungal agents: current advances and future perspectives.** *Journal of agricultural food chemistry* 2018, **66**(43):11209-11220.
108. Alvarado Meza R: **Síntesis sonoquímica de nanopartículas de óxido de cinc y de plata estabilizadas con quitosano. Evaluación de su actividad antimicrobiana** ALVARADO MEZA, Ricardo. *Síntesis sonoquímica de nanopartículas de óxido de cinc y de plata estabilizadas con quitosano. Evaluación de su actividad antimicrobiana* 2014.
109. Perveen R, Shujaat S, Qureshi Z, Nawaz S, Khan M, Iqbal M: **Green versus sol-gel synthesis of ZnO nanoparticles and antimicrobial activity evaluation against panel of pathogens.** *Journal of Materials Research Technology* 2020, **9**(4):7817-7827.
110. Tayel AA, EL-TRAS WF, Moussa S, EL-BAZ AF, Mahrous H, Salem MF, Brimer L: **Antibacterial action of zinc oxide nanoparticles against foodborne pathogens.** *Journal of Food Safety* 2011, **31**(2):211-218.
111. Vijayakumar S, Vaseeharan B, Malaikozhundan B, Shobiya M: **Laurus nobilis leaf extract mediated green synthesis of ZnO nanoparticles: Characterization and biomedical applications.** *Biomedicine Pharmacotherapy* 2016, **84**:1213-1222.
112. Fouda A, Saad E, Salem SS, Shaheen T: **In-Vitro cytotoxicity, antibacterial, and UV protection properties of the biosynthesized Zinc oxide nanoparticles for medical textile applications.** *Microbial pathogenesis* 2018, **125**:252-261.
113. Raj A, Lawrence RS, Jalees M, Lawrence K: **Anti-bacterial activity of zinc oxide nanoparticles prepared from Brassica oleraceae leaves extract.** *Int J Adv Res* 2015, **3**(11):322-328.
114. Allen SL, Thomas EL, Quere Y: **The structure of materials.** *MRS BULLETIN* 1999:101.
115. Ramyadevi J, Jeyasubramanian K, Marikani A, Rajakumar G, Rahuman AA: **Synthesis and antimicrobial activity of copper nanoparticles.** *Materials letters* 2012, **71**:114-116.
116. Azam A, Ahmed AS, Oves M, Khan M, Memic AJIjon: **Size-dependent antimicrobial properties of CuO nanoparticles against Gram-positive and-negative bacterial strains.** *International journal of nanomedicine* 2012:3527-3535.
117. Román L, Castro F, Maúrtua D, Condori C, Vivas D, Bianchi AE, Paraguay-Delgado F, Solis JL, Gómez MM: **Nanopartículas de CuO y su propiedad antimicrobiana en cepas intrahospitalarias.** *Revista Colombiana de Química* 2017, **46**(3):28-36.
118. Booshehri AY, Wang R, Xu R: **Simple method of deposition of CuO nanoparticles on a cellulose paper and its antibacterial activity.** *Chemical Engineering Journal* 2015, **262**:999-1008.
119. Azam A, Ahmed AS, Oves M, Khan M, Memic A: **Size-dependent antimicrobial properties of CuO nanoparticles against Gram-positive and-negative bacterial strains.** *International journal of nanomedicine* 2012:3527-3535.
120. Laha D, Pramanik A, Laskar A, Jana M, Pramanik P, Karmakar P: **Shape-dependent bactericidal activity of copper oxide nanoparticle mediated by DNA and membrane damage.** *Materials Research Bulletin* 2014, **59**:185-191.
121. Al-Jassani MJ, Raheem HQ: **Anti-bacterial activity of CuO nanoparticles against some pathogenic bacteria.** *Int J Chem Tech Res* 2017, **10**(2):818-822.
122. Sravanthi M, Muni Kumar D, Usha B, Ravichandra M, Mahendra Rao M, Hemalatha K, Ravichandra M: **Biological synthesis and characterization of copper oxide nanoparticles using Antigonon leptopus leaf extract and their antibacterial activity.** *Int J Adv Res* 2016, **4**:589-602.

123. Pagar T, Ghotekar S, Pansambal S, Pagar K, Oza R: **Biomimetic synthesis of CuO nanoparticle using Capparis decidua and their antibacterial activity.** *Advanced Journal of Science Engineering* 2020, **1**(4):133-137.
124. EL-Moslamy H, Shokry H, Rezk H, Abdel-Fattah R: **Bioprocess strategies and characterization of anti-multidrug resistant human pathogens copper/copper oxide nanoparticles from citrus peel waste extracts.** *J Nanomater Mol Nanotechnol* 2017, **13**:21-23.
125. Hajipour P, Bahrami A, Eslami A, Hosseini-Abari A: **Chemical bath synthesis of CuO-GO-Ag nanocomposites with enhanced antibacterial properties.** *Journal of Alloys* 2020, **821**:153456.
126. Azhagu Raj R, AlSalhi MS, Devanesan S: **Microwave-assisted synthesis of nickel oxide nanoparticles using coriandrum sativum leaf extract and their structural-magnetic catalytic properties.** *Materials* 2017, **10**(5):460.
127. Miró OB: **Diseño de catalizadores para una obtención limpia de 2-feniletanol:** Universitat Rovira i Virgili; 2008.
128. LÓPEZ TORRES RA: **Síntesis y caracterización de microfibras de carbono funcionalizadas con nanopartículas de oro.** 2018.
129. Anand GT, Nithiyavathi R, Ramesh R, Sundaram SJ, Kaviyarasu K: **Structural and optical properties of nickel oxide nanoparticles: Investigation of antimicrobial applications.** *Surfaces Interfaces* 2020, **18**:100460.
130. Rakshit S, Chall S, Mati SS, Roychowdhury A, Moulik S, Bhattacharya SC: **Morphology control of nickel oxalate by soft chemistry and conversion to nickel oxide for application in photocatalysis.** *RSC advances* 2013, **3**(17):6106-6116.
131. Ezhilarasi AA, Vijaya JJ, Kaviyarasu K, Kennedy LJ, Ramalingam RJ, Al-Lohedan HA: **Green synthesis of NiO nanoparticles using Aegle marmelos leaf extract for the evaluation of in-vitro cytotoxicity, antibacterial and photocatalytic properties.** *Journal of Photochemistry Photobiology B: Biology* 2018, **180**:39-50.
132. Nawaz M, Tahir MB, Iqbal T, Pervaiz M, Rafique M, Aziz F, Younas U, Alrobei H: **Synthesis, characterization and antibacterial activity of NiO NPs against pathogen.** *Inorganic Chemistry Communications* 2020, **122**:108300.
133. Jeyaraj Pandian C, Palanivel R, Dhanasekaran S: **Screening antimicrobial activity of nickel nanoparticles synthesized using Ocimum sanctum leaf extract.** *Journal of Nanoparticles* 2016, **2016**:1-13.
134. Cobo LC, Akyildiz IF: **Bacteria-based communication in nanonetworks.** *Nano Communication Networks* 2010, **1**(4):244-256.
135. Firdhouse MJ, Lalitha P: **Biosynthesis of silver nanoparticles and its applications.** *Journal of Nanotechnology* 2015, **2015**.
136. Nasrollahzadeh M: **Green synthesis and catalytic properties of palladium nanoparticles for the direct reductive amination of aldehydes and hydrogenation of unsaturated ketones.** *New Journal of Chemistry* 2014, **38**(11):5544-5550.
137. Escobar Falconí VE: **Síntesis y caracterización de nanopartículas de plata por espectroscopia de infrarrojos (FT-IR), UV-Vis, absorción atómica de llama (FAAS) y microscopía de barrido electrónico (SEM).** PUCE; 2015.
138. Trinidad PJ: **El impacto de la microbiología y nanotecnología en el sector transporte.**
139. Di Valentin C, Finazzi E, Pacchioni G, Selloni A, Livraghi S, Paganini MC, Giamello E: **N-doped TiO₂: Theory and experiment.** *Chemical Physics* 2007, **339**(1-3):44-56.
140. Raza MA, Kanwal Z, Rauf A, Sabri AN, Riaz S, Naseem S: **Size-and shape-dependent antibacterial studies of silver nanoparticles synthesized by wet chemical routes.** *Nanomaterials* 2016, **6**(4):74.

141. Sondi I, Salopek-Sondi B: **Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on *E. coli* as a model for Gram-negative bacteria.** *Journal of colloid interface science* 2004, **275**(1):177-182.
142. Kim S-H, Lee H-S, Ryu D-S, Choi S-J, Lee D-S: **Antibacterial activity of silver-nanoparticles against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*.** *Microbiology Biotechnology Letters* 2011, **39**(1):77-85.
143. Agnihotri S, Mukherji S, Mukherji S: **Size-controlled silver nanoparticles synthesized over the range 5–100 nm using the same protocol and their antibacterial efficacy.** *Rsc Advances* 2014, **4**(8):3974-3983.
144. Ahmed SF, Islam KZ, Khan MR: **Relationship between inflation and stock market returns: Evidence from Bangladesh.** *Daffodil International University Journal of Business Economics* 2015, **9**(1):1-12.
145. Gopinath V, Priyadarshini S, Loke MF, Arunkumar J, Marsili E, MubarakAli D, Velusamy P, Vadivelu J: **Biogenic synthesis, characterization of antibacterial silver nanoparticles and its cell cytotoxicity.** *Arabian Journal of Chemistry* 2017, **10**(8):1107-1117.
146. Priyadarshini S, Gopinath V, Priyadarshini NM, MubarakAli D, Velusamy P: **Synthesis of anisotropic silver nanoparticles using novel strain, *Bacillus flexus* and its biomedical application.** *Colloids Surfaces B: Biointerfaces* 2013, **102**:232-237.
147. Singh D, Rawat D: **Microwave-assisted synthesis of silver nanoparticles from *Origanum majorana* and *Citrus sinensis* leaf and their antibacterial activity: a green chemistry approach.** *Bioresources Bioprocessing* 2016, **3**:1-7.
148. Ali ZA, Yahya R, Sekaran SD, Puteh R: **Green synthesis of silver nanoparticles using apple extract and its antibacterial properties.** *Advances in Materials Science Engineering* 2016, **2016**.
149. Banerjee P, Satapathy M, Mukhopahayay A, Das P: **Leaf extract mediated green synthesis of silver nanoparticles from widely available Indian plants: synthesis, characterization, antimicrobial property and toxicity analysis.** *Bioresources Bioprocessing* 2014, **1**:1-10.
150. Chihuailaf RH, Contreras PA, Wittwer FG: **Patogénesis del estrés oxidativo: consecuencias y evaluación en salud animal.** *Veterinaria México* 2002, **33**(3):265-283.
151. Castro ABJUAdM, Madrid, España: **Modulación de la proliferación de queratinocitos humanos por especies reactivas de oxígeno generadas mediante tratamiento fotodinámico.** *Universidad Autónoma de Madrid, Madrid, España* 2010.
152. Halliwell B, Whiteman M: **Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean.** *British journal of pharmacology* 2004, **142**(2):231-255.
153. Martin JR, Duvall CL: **Oxidation state as a bioresponsive trigger.** In: *Oxidative Stress and Biomaterials*. Elsevier; 2016: 225-250.
154. Meghana S, Kabra P, Chakraborty S, Padmavathy N: **Understanding the pathway of antibacterial activity of copper oxide nanoparticles.** *RSC advances* 2015, **5**(16):12293-12299.
155. VALLEJO RENDÓN DI: **Degradación de compuestos orgánicos tóxicos solubles en agua mediante procesos avanzados de oxidación.** 2017.
156. Ibarra Treviño S: **Síntesis de óxidos de estaño con adiciones de óxidos de Cu, Co y Mn mediante el método Pechini para uso potencial en capacitores electroquímicos.** Universidad Autónoma de Nuevo León; 2013.
157. Matteini M, Moles A: **Ciencia y restauración: método de investigación:** Editorial NEREA; 2001.
158. Cantón R, García J, Gómez L, Martínez L, Rodríguez C, Vila J, García J: **Procedimientos en microbiología clínica.** *SIEMC: Madrid, Spain* 2000:10-20.
159. Murray PR: **The clinician and the microbiology laboratory.** *Mandell, Douglas, Bennett's Principles Practice of Infectious Diseases* 2015:191.

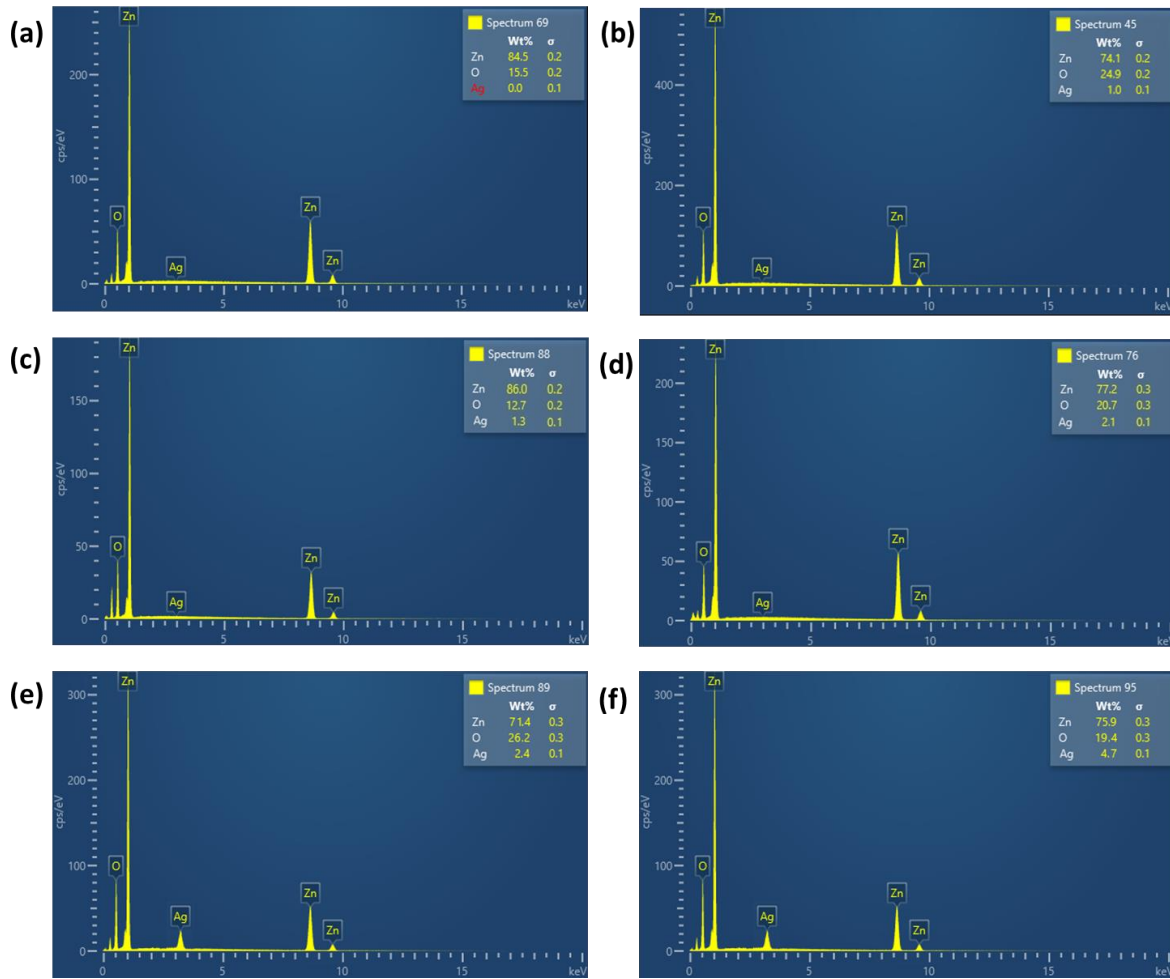
160. Jaramillo-Jaramillo AS, Cobo-Ángel CG, Moreno-Tolosa Y, CebaÍíos-Márquez A: **Resistencia antimicrobiana de Streptococcus agalactiae de origen humano y bovino.** *CES Medicina Veterinaria y Zootecnia* 2018, **13**(1):62-79.
161. Cantón R, García J, Gómez L, Martínez L, Rodríguez C, Vila J, García J: **Procedimientos en microbiología clínica.** *SIEMC: Madrid, Spain* 2000:10-20.
162. Matuschek E, Brown DF, Kahlmeter G: **Development of the EUCAST disk diffusion antimicrobial susceptibility testing method and its implementation in routine microbiology laboratories.** *Clinical microbiology infection* 2014, **20**(4):O255-O266.
163. Salvarani FM, Pinto FF, Lobato FCF, de ASSIS RA, Gonçalves LA, Martins NÉ, Clementino IJ, Costa ATR: **Concentração inibitória mínima (CIM) de oito antimicrobianos frente isolados de Streptococcus suis.** *Brazilian Journal of Veterinary Research Animal Science* 2008, **45**(1):41-47.
164. Prat S: **Prueba de susceptibilidad antimicrobiana por difusión en agar.** *National Committee for Clinical Laboratory Standard* 2002(1).
165. Ostrosky EA, Mizumoto MK, Lima ME, Kaneko TM, Nishikawa SO, Freitas BR: **Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração mínima inibitória (CMI) de plantas medicinais.** *Revista brasileira de Farmacognosia* 2008, **18**:301-307.
166. Moreira AF, Santos Sd, Junior AC: **Construção e caracterização de um fotômetro destinado ao uso de aulas experimentais de química sobre a lei de Beer-Lambert.** *Holos* 2016, **2**:142-151.
167. Portillo JD, del Barrio MTF, Salido FP: **Aspectos básicos de bioquímica clínica:** Ediciones Díaz de Santos; 1997.
168. Tobón SR, Cadavid RMA, Builes LAG: **Patógenos e indicadores microbiológicos de calidad del agua para consumo humano.** *Revista Facultad Nacional de Salud Pública* 2017, **35**(2):236-247.
169. Giraldo LFG, Franco EAM, Arango JJS: **La fotocatalisis como alternativa para el tratamiento de aguas residuales.** *Revista Lasallista de investigación* 2004, **1**(1):83-92.
170. Garcia Campos P: **Efecto de una dieta con N-Acetilcisteína sobre parámetros de Estrés Oxidativo y la progresión de Disfermolipatía en modelo animal.** 2019.
171. Dhand V, Soumya L, Bharadwaj S, Chakra S, Bhatt D, Sreedhar B: **Green synthesis of silver nanoparticles using Coffea arabica seed extract and its antibacterial activity.** *Materials Science Engineering: C* 2016, **58**:36-43.
172. Wu C, Qiao X, Chen J, Wang H, Tan F, Li S: **A novel chemical route to prepare ZnO nanoparticles.** *Materials Letters* 2006, **60**(15):1828-1832.
173. Cortez OÁ, Martínez Aguilar DP: **Estudio de la actividad antimicrobiana de la cuprita sintetizada por ruta química.** *Revista de la Sociedad Química del Perú* 2018, **84**(4):436-450.
174. Yugandhar P, Vasavi T, Uma Maheswari Devi P, Savithramma N: **Bioinspired green synthesis of copper oxide nanoparticles from Syzygium alternifolium (Wt.) Walp: characterization and evaluation of its synergistic antimicrobial and anticancer activity.** *Applied Nanoscience* 2017, **7**:417-427.
175. Wang H, Zhang J-R, Zhao X-N, Xu S, Zhu J-J: **Preparation of copper monosulfide and nickel monosulfide nanoparticles by sonochemical method.** *Materials letters* 2002, **55**(4):253-258.
176. Galicia Toralva M, Solís JL, Gómez MM: **Fabricación y caracterización de celdas solares sensibilizadas de TiO₂ modificado con nanopartículas de NiO.** *Revista de la Sociedad Química del Perú* 2016, **82**(1):87-99.
177. Jibrael RI, Mohammed MK: **Production of graphene powder by electrochemical exfoliation of graphite electrodes immersed in aqueous solution.** *Optik* 2016, **127**(16):6384-6389.

178. Newell J: **Ciencia de materiales-aplicaciones en ingeniería**: Alfaomega Grupo Editor; 2010.
179. Soukoulis CM: **Photonic band gaps and localization**, vol. 308: Springer Science & Business Media; 2013.
180. Fernández JAG: **Teoría y práctica de la lucha contra la corrosión**: Editorial CSIC-CSIC Press; 1984.
181. Elmorsi TM, Elsayed MH, Bakr MF: **Enhancing the removal of methylene blue by modified ZnO nanoparticles: kinetics and equilibrium studies**. *Canadian Journal of Chemistry* 2017, **95**(5):590-600.
182. Lanje AS, Sharma SJ, Pode RB: **Synthesis of silver nanoparticles: a safer alternative to conventional antimicrobial and antibacterial agents**. *J Chem Pharm Res* 2010, **2**(3):478-483.
183. Duan X, Huang H, Xiao S, Deng J, Zhou G, Li Q, Wang T: **3D hierarchical CuO mesocrystals from ionic liquid precursors: towards better electrochemical performance for Li-ion batteries**. *Journal of Materials Chemistry A* 2016, **4**(21):8402-8411.
184. Nie C, Zeng W, Li Y: **The 3D crystal morphologies of NiO gas sensor and constantly improved sensing properties to ethanol**. *Journal of Materials Science: Materials in Electronics* 2019, **30**:1794-1802.
185. Diamond C: **2. X-ray Data**. *Standard X-ray Diffraction* 1939, **34**:5.
186. Niggli P: **Die Bedeutung des Lauediagrammes für die Kristallographie**. *Naturwissenschaften* 1922, **10**(16):391-399.
187. Swanson HE: **Standard X-ray diffraction powder patterns**, vol. 25: US Department of Commerce, National Bureau of Standards; 1953.
188. Khosroshahi N, Bakhtian M, Safarifard V: **Mechanochemical synthesis of ferrite/MOF nanocomposite: Efficient photocatalyst for the removal of meropenem and hexavalent chromium from water**. *Journal of Photochemistry Photobiology A: Chemistry* 2022, **431**:114033.
189. Davis K, Yarbrough R, Froeschle M, White J, Rathnayake H: **Band gap engineered zinc oxide nanostructures via a sol-gel synthesis of solvent driven shape-controlled crystal growth**. *RSC advances* 2019, **9**(26):14638-14648.
190. Sáenz-Trevizo A, Amézaga-Madrid P, Pizá-Ruiz P, Antúnez-Flores W, Miki-Yoshida M: **Optical band gap estimation of ZnO nanorods**. *Materials Research* 2016, **19**:33-38.
191. Herzi A, Sebais M, Boudine B, Halimi O, Rahal B, Guerbous L: **Fabrication and Characterization of Highly Textured Thin Films of Undoped and Ag-Doped ZnO**. *Acta Physica Polonica, A* 2019, **135**(3).
192. Riaz A, Ashraf A, Taimoor H, Javed S, Akram MA, Islam M, Mujahid M, Ahmad I, Saeed K: **Photocatalytic and photostability behavior of Ag-and/or Al-Doped ZnO films in methylene blue and rhodamine B under UV-C irradiation**. *Coatings* 2019, **9**(3):202.
193. Kumar S, Singh V, Tanwar A: **Structural, morphological, optical and photocatalytic properties of Ag-doped ZnO nanoparticles**. *Journal of Materials Science: Materials in Electronics* 2016, **27**:2166-2173.
194. AL-Jawad SM, Sabeeh SH, Taha AA, Jassim HA: **Studying structural, morphological and optical properties of nanocrystalline ZnO: Ag films prepared by sol-gel method for antimicrobial activity**. *Journal of Sol-Gel Science Technology* 2018, **87**:362-371.
195. Kumar S, Singh V, Tanwar A: **Structural, morphological, optical and photocatalytic properties of Ag-doped ZnO nanoparticles**. *Journal of Materials Science: Materials in Electronics* 2016, **27**:2166-2173.
196. Xu L, Zheng G, Pei S, Wang J: **Investigation of optical bandgap variation and photoluminescence behavior in nanocrystalline CuO thin films**. *Optik* 2018, **158**:382-390.

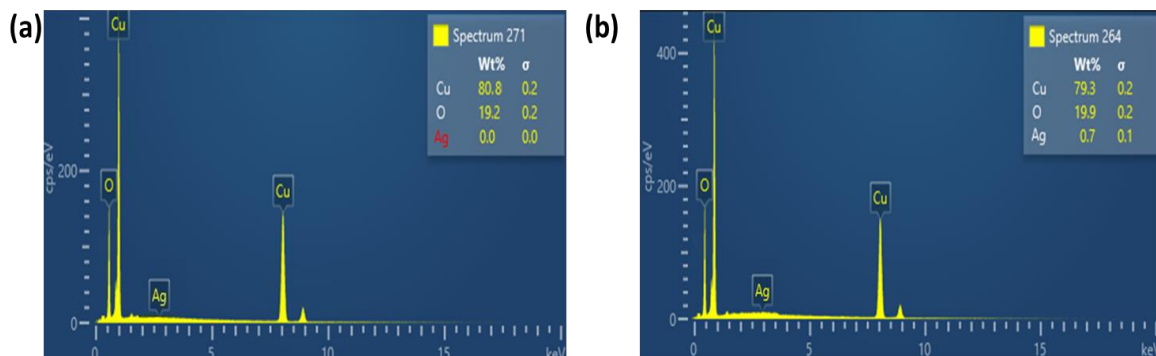
197. Das S, Alford T: **Structural and optical properties of Ag-doped copper oxide thin films on polyethylene naphthalate substrate prepared by low temperature microwave annealing.** *Journal of applied physics* 2013, **113**(24):244905.
198. Shi M, Qiu T, Tang B, Zhang G, Yao R, Xu W, Chen J, Fu X, Ning H, Peng J: **Temperature-controlled crystal size of wide band gap nickel oxide and its application in electrochromism.** *Micromachines* 2021, **12**(1):80.
199. Shi M, Qiu T, Tang B, Zhang G, Yao R, Xu W, Chen J, Fu X, Ning H, Peng J: **Temperature-controlled crystal size of wide band gap nickel oxide and its application in electrochromism.** *Micromachines* 2021, **12**(1):80.
200. Hussein MMA: **Optical and structural characteristics of NiO thin films doped with AgNPs by sputtering method.** *INAE Letters* 2017, **2**(1):35-39.
201. Forbes BA: **Diagnóstico microbiológico:** Ed. Médica Panamericana; 2009.
202. Alavi M, Jabari E, Jabbari E: **Functionalized carbon-based nanomaterials and quantum dots with antibacterial activity: a review.** *Expert Review of Anti-infective Therapy* 2021, **19**(1):35-44.
203. Barnard TE: **Computer applications in hydraulic engineering:** Haestad Press; 2002.

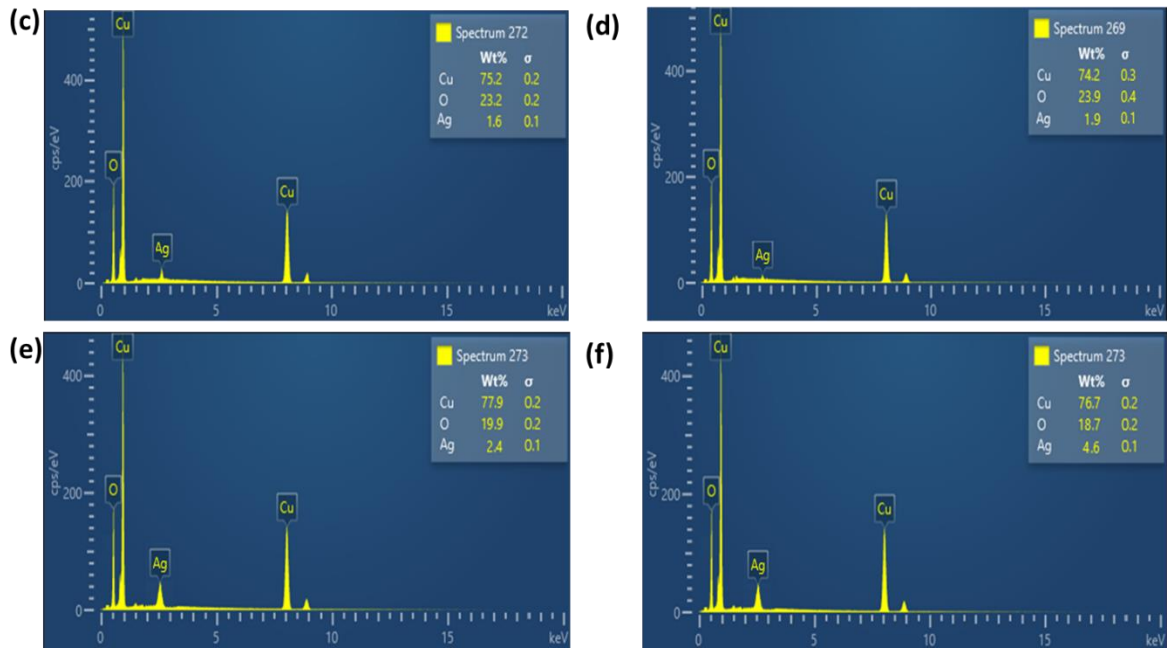
ANEXOS

ANEXO 1. Espectroscopia de energía dispersiva (EDS): (a) ZnO, (b) ZnOAg1%, (c) ZnOAg1.5%, (d) ZnOAg2%, (e) ZnOAg2.5%, (f) ZnOAg5%

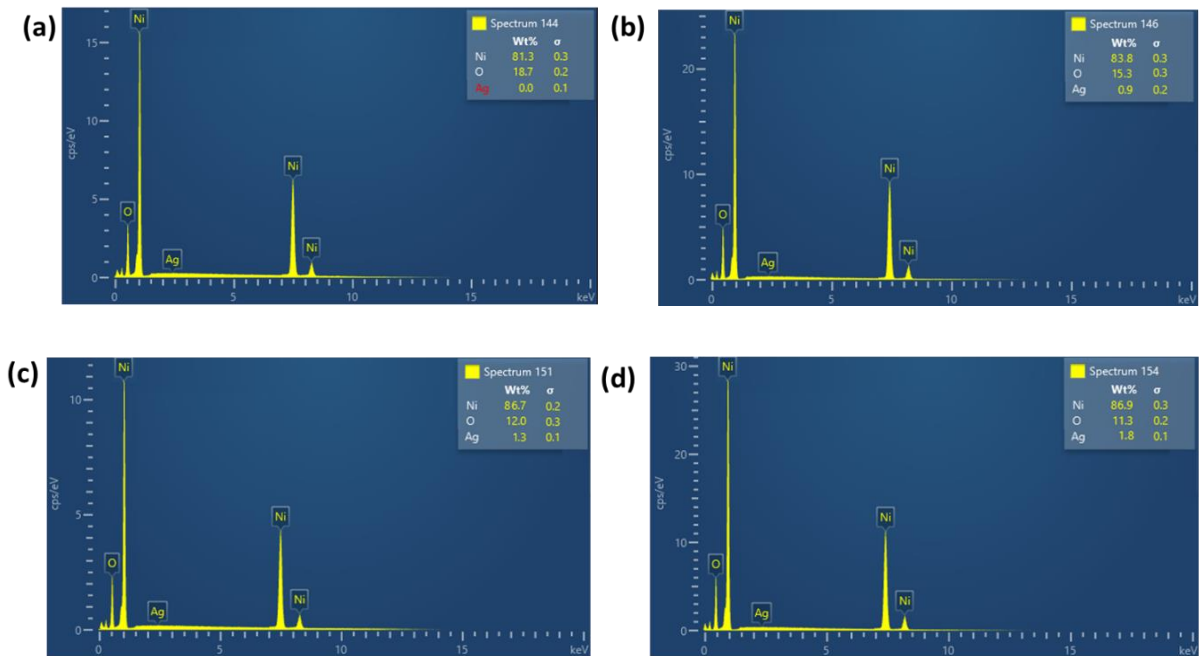


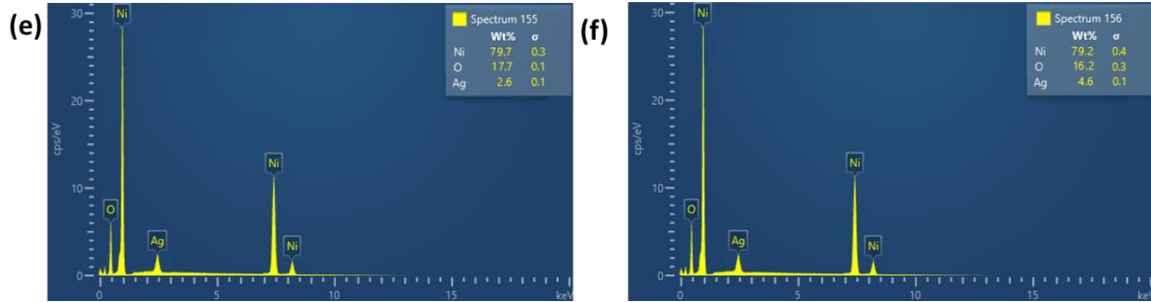
ANEXO 2. Espectroscopia de energía dispersiva (EDS): (a) CuO, (b) CuOAg1%, (c) CuOAg1.5%, (d) CuOAg2%, (e) CuOAg2.5%, (f) CuOAg5%





ANEXO 3. Espectroscopia de energía dispersiva (EDS): (a) NiO, (b) NiOAg1%, (c) NiOAg1.5%, (d) NiOAg2%, (e) NiOAg2.5%, (f) NiOAg5%





ANEXO 4. Constantes de la ecuación de Gompertz: (a) *B. cereus*, (b) *E. coli*.

Constantes ecuación de Gompertz						
	<i>B. cereus</i>			<i>E. coli</i>		
NPs	B	K	R^2	B	K	R^2
Control	39.36692	0.441330	0.99781	53.31489	0.574361	0.98749
ZnOAg5%	5.533202	0.118853	0.97951	7.534556	0.128502	0.98960
CuOAg5%	7.542095	0.141600	0.93342	6.554905	0.100900	0.97836
NiOAg5%	5.899648	0.124264	0.97419	7.551906	0.130358	0.96135

ANEXO 5. Proyección de crecimiento con la ecuación de Gompertz: (a) *B. cereus*, (b) *E. coli*.

