

00550



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS  
QUÍMICAS**

**ESTUDIO Y EVALUACIÓN DEL PODER GERMICIDA DE  
COMPUESTOS DE PLATA EN AGUAS RESIDUALES  
PARCIALMENTE TRATADAS**

TESIS  
PARA OPTAR POR EL GRADO DE  
**MAESTRO EN CIENCIAS**

PRESENTA

MÓNICA MIRANDA RÍOS



TUTOR: DR. VÍCTOR M. LUNA PABELLO

AÑO: 2005

M: 350797



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. Lena Ruíz Azuara.

VOCAL: Dra. Josefina de Gyves Marciniak.

SECRETARIO: Dr. Simón González Martínez.

1<sup>er</sup>. SUPLENTE: M. en C. Rosa María Ramírez Gama.

2<sup>o</sup>. SUPLENTE: Dr. Jorge de Victorica Almeida.

**Sitio donde se desarrolló el tema:**

LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA EXPERIMENTAL, DEPARTAMENTO DE  
BIOLOGÍA. FACULTAD DE QUÍMICA DE LA UNAM.

ASESOR DEL TEMA:



Dr. Víctor Manuel Luna Pabello.

Sustentante:



I.Q. Mónica Miranda Ríos.

## AGRADECIMIENTOS

A CONACYT por la beca disfrutada durante la realización de los estudios de Maestría en Ciencias Químicas (Química ambiental).

A los proyectos DGAPA/PAPIIT 2003-2005, clave IN102702-3 y DGAPA/PAPIME 2005, clave EN213104, así como al PAIP-6190-14 y al Posgrado en Ciencias Químicas, por el apoyo otorgado para la conclusión e impresión de la tesis de grado.

Al Dr. Víctor M. Luna Pabello por su ayuda en la realización de este proyecto, por toda la confianza que ha depositado en mi y por su continuo apoyo durante mi formación profesional.

A la M. en C. Rosa María Ramírez Gama y la Dra. Lena Ruiz Azuara les hago patente mi gratitud por su asesoramiento, sugerencias y esfuerzo que dedicaron en la minuciosa revisión del trabajo escrito.

A la Dra. Josefina de Gyves, al Dr. Simón González y al Dr. Jorge de Vitorica, por el valioso tiempo que dedicaron a la revisión de este trabajo, así como sus apreciables comentarios y aportaciones para la consecución de la presente tesis.

A las personas cuya invaluable ayuda hizo posible la caracterización fisicoquímica del material de prueba: Al Dr. Gilberto Hernández Silva por su apoyo en la obtención de la lámina delgada. Del departamento de Metalurgia de la Facultad de Química al M. en C. Ciro Márquez por su apoyo en las pruebas de espectroscopia de absorción atómica y emisión atómica y a la M. en C. Guillermina González Mancera por su apoyo en las pruebas de microscopía de barrido y microanálisis. De la USAI de la Facultad de Química a la Q. I. María Cecilia Salcedo Luna por su apoyo en las pruebas de Difracción de RX de polvos.

Al personal y compañeros del Laboratorio de Microbiología Experimental, Maestra Guadalupe Tsuzuki, Maestra Leonila de la O, Rosalba, Carmen, Mariel, Tonantzin, Dante, Mario y Laura por enseñarme a amar a la microbiología. A Claudia, Sr. Lugo y Sr. Roberto por su ayuda.

A mis guías informáticos: Alejandra, Federico, Gerardo y Claudia Aguayo Ríos por solucionar mis innumerables dudas. A todos aquellos que de alguna manera contribuyeron a que este trabajo llegara a término, MUCHAS GRACIAS.



## **DEDICADA :**

Con todo cariño para:

Angela Yolanda Ríos Aguilar, Juan Miranda Ríos  
Mónica Andrea, Mariana Paola y Araceli Dávalos

Gracias por su apoyo, ayuda incondicional y enseñarme a disfrutar de la vida.

*“La mayor necesidad del género humano es una ecología equilibrada”*

*“El mayor patrimonio del género humano es una mente inquieta”*

*Isaac Asimov.*

*El Hombre Bicentenario y otros cuentos*

*“Donde el telescopio acaba, el microscopio empieza.*

*¿Cuál de los dos tienen una visión mayor?”*

*Victor Hugo*

*Los Miserables*

	<b>ÍNDICE</b> .....	i
	<b>ÍNDICE DE TABLAS</b> .....	v
	<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b> .....	vii
	<b>NOMENCLATURA</b> .....	ix
	<b>RESUMEN</b> .....	1
<b>1.</b>	<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	2
<b>2.</b>	<b>HIPÓTESIS, OBJETIVOS Y ESTRATEGIA DE TRABAJO</b> .....	3
2.1	Hipótesis .....	3
2.2	Objetivos .....	3
2.3	Estrategia de trabajo .....	3
<b>3.</b>	<b>MARCO TEÓRICO DE REFERENCIA</b> .....	7
3.1	Problemática de las aguas residuales en México .....	7
3.2	Fundamento teórico sobre desinfección .....	8
3.2.1	Tipos de desinfectantes .....	10
3.2.1.1	<i>Desinfección por agentes químicos</i> .....	10
3.2.1.1.1	<i>Halógenos</i> .....	10
3.2.1.1.2	<i>Ozono</i> .....	10
3.2.1.1.3	<i>Iones metálicos</i> .....	11
3.2.1.1.4	<i>Álcalis y ácidos</i> .....	11
3.2.1.2	<i>Desinfección por agentes físicos</i> .....	11
3.2.1.2.1	<i>Métodos mecánicos</i> .....	11
3.2.1.2.2	<i>Radiaciones</i> .....	12
3.2.2	Mecanismos de acción de los desinfectantes .....	16
3.2.2.1	<i>Factores que afectan la desinfección</i> .....	18
3.3	Modelos cinéticos de desinfección química .....	19
3.4	Organismos indicadores de la calidad del agua .....	22
3.4.1	<i>Escherichia coli</i> como organismo indicador .....	22
3.4.2	Principales características de <i>E. coli</i> .....	22
3.4.3	Efecto de iones metálicos sobre <i>E. coli</i> .....	23
3.5	La plata como desinfectante .....	23
3.5.1	Propiedades fisicoquímicas de la plata .....	23
3.5.1.1	<i>Toxicidad de la plata</i> .....	24
3.5.2	Historia del uso de la plata .....	24
3.5.3	Mecanismo de desinfección con plata .....	25
3.5.4	Factores que afectan la capacidad de desinfección de las aguas residuales por la plata .....	26
3.6	Geología de la plata en México .....	28
3.7	La minería de la plata en México .....	28

<b>4.</b>	<b>PRIMERA ETAPA EXPERIMENTAL</b> .....	30
4.1	Materiales y métodos .....	30
4.1.1	Materiales .....	30
4.1.2	Metodología para obtener el agua residual parcialmente tratada y estéril (ARPTE) .....	31
4.1.3	Metodología para el crecimiento y conservación de la cepa de <i>Escherichia coli</i> .....	32
4.1.4	Metodología para la enumeración de <i>E. coli</i> .....	32
4.1.5	Estandarización del inóculo de <i>E. coli</i> .....	33
4.1.5.1	<i>Curva de crecimiento de E. coli en caldo nutritivo</i> .....	33
4.1.5.2	<i>Obtención del inóculo de E. coli en ARPTE</i> .....	33
4.1.5.3	<i>Agua residual experimental (ARE)</i> .....	34
4.1.6	Metodología para la determinación de la concentración de plata y otros metales en el efluente .....	34
4.2	Pruebas preliminares con plata coloidal .....	35
4.3	Pruebas preliminares con granalla de plata y el AMNP en sistemas por lotes .....	36
4.3.1	Pruebas preliminares en matraces .....	36
4.3.2	Pruebas preliminares en columnas empacadas a pequeña escala alimentadas por lotes (CAL) .....	37
4.4	Resultados experimentación preliminar .....	38
4.4.1	Método de esterilización del ARPT .....	38
4.4.2	Curvas de crecimiento de <i>E. coli</i> .....	39
4.4.3	Pruebas preliminares con plata coloidal .....	40
4.4.4	Pruebas preliminares con granalla de plata, AMNP y gránulos de acrílico en sistemas por lotes .....	41
4.4.4.1	<i>Pruebas preliminares en columnas empacadas a pequeña escala alimentadas por lotes (CAL)</i> .....	43
4.5	Discusión de los resultados .....	44
4.5.1	Pruebas con plata coloidal .....	44
4.5.2	Pruebas con granalla de plata, AMNP y gránulos de acrílico .....	44
4.6	Recomendaciones para la siguiente fase experimental .....	45
<b>5.</b>	<b>SEGUNDA ETAPA EXPERIMENTAL</b> .....	46
5.1	Adecuación de metodologías experimentales .....	46
5.1.1	Estandarización del agua residual experimental ARE .....	46
5.1.2	Neutralización de la plata en las alícuotas utilizadas para la enumeración de <i>E. coli</i> .....	46
5.2	Pruebas de sobrevivencia de <i>E. coli</i> frente a compuestos de plata .....	46
5.2.1	Pruebas con plata coloidal .....	46
5.2.1.1	Pruebas con concentraciones de plata coloidal de 0.05, 0.1 y 0.5 mg/L .....	47
5.2.1.2	<i>Efecto del aumento de la concentración de E. coli sobre la desinfección</i> .....	47
5.2.1.3	<i>Efecto del aumento de materia orgánica sobre la desinfección</i> .....	48
5.2.2	Pruebas con el AMNP .....	48

5.2.2.1	<i>Efecto de la esterilización del AMNP sobre su capacidad desinfectante</i> .....	48
5.2.2.2	<i>Pruebas con Sulfuro de Plata</i> .....	49
5.2.3	Pruebas en columnas empacadas a pequeña escala con alimentación continua (CAC) .....	49
5.3	Resultados segunda etapa experimental .....	51
5.3.1	Pruebas con concentraciones de plata coloidal de 0.05, 0.1 y 0.5 mg/L .....	51
5.3.2	Efecto del aumento de la concentración de <i>E. coli</i> sobre la desinfección .....	54
5.3.3	Efecto del aumento en la materia orgánica sobre la capacidad bactericida de la plata coloidal .....	55
5.3.4	Efecto de la esterilización del AMNP sobre su capacidad desinfectante .....	57
5.3.5	Pruebas con sulfuro de plata .....	59
5.3.6	Pruebas en columnas empacadas a pequeña escala con alimentación continua (CAC) .....	61
5.4	Discusión de los resultados segunda etapa experimental .....	67
5.4.1	Pruebas con plata coloidal .....	67
5.4.2	Pruebas con AMNP .....	70
5.4.3	Pruebas en columnas empacadas a pequeña escala (CAC) .....	71
<b>6.</b>	<b>CONCLUSIONES</b> .....	<b>72</b>
<b>7.</b>	<b>BIBLIOGRAFÍA</b> .....	<b>74</b>
<b>Anexo 1.</b>	<b>EVALUACIÓN FÍSICOQUÍMICA DEL AGREGADO MINERAL NATURAL CON PLATA</b> .....	<b>80</b>
A1.1	Materiales y métodos .....	80
A1.1.1	Materiales .....	80
A1.1.2	Acondicionamiento del AMNP .....	81
A1.1.3	Determinación de los parámetros físicos .....	81
A1.1.3.1	<i>Determinación de la densidad aparente</i> .....	82
A1.1.3.2	<i>Determinación de la densidad real</i> .....	82
A1.1.3.3	<i>Cálculo de la porosidad</i> .....	82
A1.1.4	Composición química del AMNP .....	82
A1.1.4.1	<i>Difracción de rayos X</i> .....	83
A1.1.4.2	<i>Microscopía electrónica de barrido (SEM)</i> .....	83
A1.1.4.3	<i>Espectroscopia de absorción atómica y espectroscopia de emisión atómica</i> .....	83
A1.1.4.4	<i>Capacidad de disolución del AMNP en ARPTE</i> .....	85
A1.2	Resultados .....	86
A1.2.1	Densidad aparente, real y porcentaje de espacio poroso .....	86
A1.2.2	Análisis Petrográfico .....	86
A1.2.3	Difracción de Rayos X .....	87
A1.2.4	Microscopía electrónica de barrido .....	88
A1.2.5	Concentración elemental del AMNP .....	91
A1.2.6	Capacidad de disolución del AMNP en el ARPTE .....	91

---

<b>Anexo 2. DISEÑO Y CONSTRUCCIÓN DE LAS COLUMNAS EMPACADAS A PEQUEÑA ESCALA DE ALIMENTACIÓN CONTINUA</b> .....	92
A2.1 Determinación del flujo de alimentación .....	92
A2.2 Construcción de las columnas empacadas a pequeña escala alimentadas en continuo (CAC) .....	93
A2.2.1 Materiales .....	93
A2.2.2 Columnas .....	93
A2.2.3 Sistema de alimentación .....	94
A2.2.4 Sistema de agitación .....	95
<b>Anexo 3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS EXPERIMENTALES</b> .....	96
A3.1 Resultados del análisis estadístico pruebas con plata coloidal .....	96
A3.1.1 Análisis estadístico de los resultados obtenidos pruebas “a”, “b”, “c” y “d” .....	96
A3.1.2 Análisis estadístico de los resultados pruebas “e” y “f” .....	104
A3.2 Efecto de la esterilización del AMNP sobre su capacidad desinfectante ..	107
A3.3 Pruebas con sulfuro de plata .....	109
A3.4 Análisis estadístico de los resultados obtenidos en las columnas empacadas a pequeña escala con alimentación continua (CAC) .....	111
<b>Anexo 4. CINÉTICA DE DESINFECCIÓN CON COMPUESTOS DE PLATA</b> .....	119
A4.1 Resultados regresión no lineal curvas de sobrevivencia pruebas con plata coloidal .....	119
A4.2 Resultados regresión no lineal curvas de sobrevivencia pruebas con AMNP y Sulfuro de plata .....	121
A4.3 Resultado regresión no lineal curva de sobrevivencia prueba con granalla de plata .....	122



## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 3.1.	Reducción de microorganismos por diferentes procesos de tratamiento .....	9
Tabla 3.2.	Características ideales que debe poseer un desinfectante .....	9
Tabla 3.3.	Comparación de las características ideales y reales que presentan los desinfectantes .....	13
Tabla 3.4.	Ventajas y desventajas de los desinfectantes comúnmente empleados en el tratamiento de agua residual .....	15
Tabla 3.5.	Modo de acción de los desinfectantes .....	17
Tabla 3.6.	Modelos cinéticos de inactivación para desinfectantes en condiciones de libre demanda .....	21
Tabla 3.7.	Principales reacciones de la plata con constituyentes de las aguas residuales .....	27
Tabla 4.1.	Concentraciones de plata coloidal en los matraces .....	36
Tabla 4.2.	Caracterización fisicoquímica y microbiológica del ARPT y ARPTE .....	38
Tabla 4.3.	Resultados de la prueba UNO con concentraciones de plata coloidal en el intervalo de 1 a 50 mg/L .....	40
Tabla 4.4.	Resultados de la prueba DOS con concentraciones de plata coloidal en el intervalo de 0.5 a 2 mg/L .....	41
Tabla 4.5.	Resultados de las pruebas TRES y CUATRO empleando ARE y los tres materiales de empaque a dos tiempos de contacto .....	41
Tabla 4.6.	Resultados de la prueba CINCO en matraces con adiciones sucesivas de ARE .....	42
Tabla 4.7.	Resultados de remoción de <i>E. coli</i> en las CAL empacadas con AMNP y gránulos de acrílico .....	44
Tabla 5.1.	Resultados de la prueba "a" empleando tres concentraciones de Ag coloidal y $3.2 \times 10^2$ UFC/mL de <i>E. coli</i> .....	51
Tabla 5.2.	Resultados de la prueba "b" empleando tres concentraciones de Ag coloidal y $2.85 \times 10^3$ UFC/mL de <i>E. coli</i> .....	52
Tabla 5.3.	Ecuaciones cinéticas pruebas "a" y "b" .....	54
Tabla 5.4.	Resultados de las pruebas "c" y "d" empleando 0.5 mg/L de Ag coloidal .....	54
Tabla 5.5.	Efecto del aumento de la materia orgánica en la desinfección pruebas "e" y "P" con 0.5 mg/L de Ag coloidal .....	56
Tabla 5.6.	Efecto de la esterilidad del AMNP en la desinfección .....	58
Tabla 5.7.	Comparación de la capacidad desinfectante del sulfuro de plata vs AMNP ...	59
Tabla 5.8.	Parámetros físicos de los materiales de empaque de las columnas .....	61
Tabla 5.9.	Resultados obtenidos de las pruebas en columnas (CAC) .....	62
Tabla 5.10.	Resultados de la determinación de metales y pH en las columnas .....	63
Tabla 5.11.	Análisis elemental del AMNP antes y después de su uso en las columnas (ICP-OES) .....	64
Tabla 5.12.	Resultados obtenidos de las pruebas en columnas valores acumulados .....	64
Tabla 5.13.	Resultados integración de las curvas de operación de las columnas .....	66
Tabla 5.14.	Distribución de tamaños y volumen de los tres materiales de empaque .....	67
Tabla A1.1.	Densidad aparente, real y %porosidad del AMNP .....	86
Tabla A1.2.	Especies mineralógicas identificadas en el AMNP por difracción de rayos X .....	87
Tabla A1.3.	Análisis cuantitativo por zonas del AMNP realizado por SEM .....	88
Tabla A1.4.	Composición porcentual del AMNP (ICP-OES) .....	91
Tabla A1.5.	Capacidad de disolución del AMNP en ARPTE (ICP-OES) .....	91

---

**ÍNDICE DE TABLAS**


---

Tabla A1.6.	Limites de detección y cuantificación para la determinación de metales con la técnica de espectroscopia de emisión atómica (ICP-OES) .....	91
Tabla A3.1.	Resultados adecuación del modelo pruebas "a" y "b" .....	97
Tabla A3.2.	Tabla de ANOVA para la prueba "a" .....	98
Tabla A3.3.	Comparación múltiple de medias para la prueba "a" .....	98
Tabla A3.4.	Tabla de ANOVA para la prueba "b" .....	99
Tabla A3.5.	Comparación múltiple de medias para la prueba "b" .....	100
Tabla A3.6.	Tabla de ANOVA y comparación múltiple de medias para las pruebas "a" y "b" a tres concentraciones .....	101
Tabla A3.7.	Prueba de Mann-Whitney y Wilcoxon para la prueba "c" .....	102
Tabla A3.8.	Prueba de Mann-Whitney y Wilcoxon para la prueba "d" .....	102
Tabla A3.9.	Resultados análisis bilateral y unilateral de la variancia por jerarquías pruebas "a", "b", "c", "d" y "f" .....	103
Tabla A3.10.	Resultados de la comparación entre las pruebas "a", "b", "c", "d" y "f" con la prueba de Mann-Whitney y Wilcoxon .....	103
Tabla A3.11.	Prueba de Mann-Whitney y Wilcoxon para la prueba "e" .....	105
Tabla A3.12.	Prueba de Mann-Whitney y Wilcoxon para la prueba "f" .....	105
Tabla A3.13.	Resultados análisis bilateral y unilateral de la variancia por jerarquías pruebas "e" y "f" .....	106
Tabla A3.14.	Resultados de la comparación entre las pruebas "e" y "f" con la prueba de Mann-Whitney y Wilcoxon .....	106
Tabla A3.15.	Resultados adecuación del modelo pruebas con AMNP .....	107
Tabla A3.16.	Tabla de ANOVA para la prueba con AMNP estéril y sin esterilizar .....	108
Tabla A3.17.	Comparación múltiple de medias para la prueba con AMNP estéril y sin esterilizar .....	108
Tabla A3.18.	Resultados adecuación del modelo prueba comparativa con Ag <sub>2</sub> S .....	109
Tabla A3.19.	Tabla de ANOVA para la prueba con Ag <sub>2</sub> S .....	110
Tabla A3.20.	Comparación múltiple de medias para la prueba con Ag <sub>2</sub> S .....	110
Tabla A3.21.	Resultados adecuación del modelo pruebas con CAC (columnas empacadas a pequeña escala alimentadas en continuo) .....	112
Tabla A3.22.	Tabla de ANOVA para las pruebas con CAC (columnas empacadas a pequeña escala alimentadas en continuo) .....	112
Tabla A3.23.	Comparación múltiple de medias para las pruebas con CAC (Tratamientos) .....	113
Tabla A3.24.	Comparación múltiple de medias para las pruebas con CAC (Tiempo de uso) .....	114
Tabla A4.1.	Resultados regresión no lineal pruebas "a" y "b" .....	119
Tabla A4.2.	Resultados regresión no lineal pruebas "c", "d", "e" y "f" .....	121
Tabla A4.3.	Resultados regresión no lineal pruebas con AMNP y Ag <sub>2</sub> S .....	121
Tabla A4.4.	Resultados regresión no lineal pruebas con granalla de Ag .....	122

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 2.1.	Secuencia de pasos realizados en la primera etapa experimental .....	5
Figura 2.2.	Secuencia de pasos realizados en la segunda etapa experimental .....	6
Figura 3.1.	Curvas típicas de sobrevivencia microbiana .....	20
Figura 3.2.	Diagrama de Pourbaix o diagrama potencial -pH de la plata .....	27
Figura 3.3.	Ubicación de los principales centros mineros productores de plata en México .....	29
Figura 4.1.	Tinción de Gram de la cepa de <i>E. coli</i> ATCC 25922 .....	32
Figura 4.2.	Microfotografías obtenidas con el microscopio electrónico de barrido de la cepa <i>E. coli</i> ATCC 25922 .....	32
Figura 4.3.	Secuencia de pasos para la obtención del inóculo de <i>E. coli</i> en el ARPTE	34
Figura 4.4.	Secuencia de pasos de las pruebas preliminares con plata coloidal y AMNP .....	35
Figura 4.5.	Montaje de las columnas alimentadas por lotes (CAL) .....	37
Figura 4.6.	Curva de crecimiento de <i>E. coli</i> en caldo nutritivo a la longitud de onda de 600 nm. ....	39
Figura 4.7.	Curva de crecimiento de <i>E. coli</i> en ARPTE .....	39
Figura 4.8.	Comparación del efecto desinfectante de los materiales de prueba con respecto al tiempo de contacto pruebas TRES y CUATRO .....	42
Figura 4.9.	Comparación del efecto desinfectante del AMNP con adiciones sucesivas del inóculo de <i>E. coli</i> en ARPTE en sistema por lotes prueba CINCO .....	43
Figura 4.10.	Comparación del efecto desinfectante del AMNP con adiciones sucesivas de ARE en las columnas alimentadas por lotes (CAL) .....	43
Figura 5.1.	Materiales de empaque de las columnas: (a) granalla de Ag, (b) AMNP y (c) gránulos de acrílico .....	50
Figura 5.2.	Efecto desinfectante de tres concentraciones de Ag coloidal sobre $3.2 \times 10^2$ UFC/mL de <i>E. coli</i> (Prueba "a") .....	53
Figura 5.3.	Efecto desinfectante de tres concentraciones de Ag coloidal sobre $2.85 \times 10^3$ UFC/mL de <i>E. coli</i> (Prueba "b") .....	53
Figura 5.4.	Comparación del porcentaje de desinfección de 0.05, 0.1 y 0.5 mg/L de Ag coloidal sobre dos concentraciones de <i>E. coli</i> .....	53
Figura 5.5.	Efecto en la desinfección del aumento de la concentración de <i>E. coli</i> pruebas "c" y "d" ( $7.35 \times 10^4$ y $2.82 \times 10^5$ UFC/mL) con 0.5 mg/L de Ag coloidal .....	55
Figura 5.6.	Comparación del porcentaje de desinfección entre las pruebas "c" y "d" ..	55
Figura 5.7.	Efecto en la desinfección del aumento en la materia orgánica del ARE pruebas "e" y "f" (91.79 y 38 mg/L DQO) con 0.5 mg/L de Ag coloidal	57
Figura 5.8.	Comparación del porcentaje de desinfección entre las pruebas "e" y "f" ..	57
Figura 5.9.	Efecto en la desinfección al emplear AMNP estéril y sin esterilizar .....	58
Figura 5.10.	Comparación del porcentaje de desinfección con AMNP .....	58
Figura 5.11.	Efecto en la desinfección al emplear AMNP y $Ag_2S$ .....	60
Figura 5.12.	Comparación del porcentaje de desinfección entre el AMNP estéril, sin esterilizar y $Ag_2S$ .....	60
Figura 5.13.	Curvas de operación de las CAC. (I) <i>E. coli</i> acumulada sobreviviente. (II) <i>E. coli</i> acumulada eliminada .....	65



## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 5.14.	Comparación del porcentaje de desinfección acumulado en las CAC .....	65
Figura 5.15.	Comparación del porcentaje de desinfección obtenido con 0.5 mg/L de Ag coloidal sobre seis concentraciones de <i>E. coli</i> .....	69
Figura 5.16.	Comparación de las constantes de rapidez de inactivación obtenidas en las pruebas “a” y “b” con 0.05, 0.1 y 0.5 mg/L de Ag coloidal .....	69
Figura 5.17.	Comparación de las constantes de rapidez de inactivación obtenidas en las pruebas con 0.5 mg/L de Ag coloidal .....	69
Figura 5.18.	Comparación de las constantes de rapidez de inactivación en las pruebas con granalla de plata, Ag <sub>2</sub> S y AMNP .....	70
Figura A1.1.	Diferentes tamaños del lote de AMNP .....	81
Figura A1.2.	Lámina delgada del AMNP .....	86
Figura A1.3.	Difractogramas del AMNP .....	87
Figura A1.4.	Izquierda microfotografía de la zona 8 con un contenido de Fe del 59.29%. Derecha microfotografía de la zona 7 con un contenido de plata del 80.57% .....	89
Figura A1.5.	Izquierda microfotografía de la zona 10 con un contenido de oro del 95.83%. Derecha microfotografía de la zona 9 con un contenido de Pb del 75.39% .....	89
Figura A1.6.	Izquierda microfotografía de la zona 15 con un contenido de plata del 79.31%. Derecha imagen de electrones retrodispersados de la misma zona donde las partes claras corresponden a la Ag .....	89
Figura A1.7.	Difractogramas de las zonas 6, 7, 10 y 11 obtenidas por SEM mediante la señal de rayos X .....	90
Figura A2.1.	Esquema mostrando la construcción de las columnas empacadas a pequeña escala alimentadas en continuo (CAC).....	94
Figura A2.2.	Fotografías del montaje de las columnas (CAC) mostrando sus diversos componentes .....	95
Figura A4.1.	Curvas de sobrevivencia de <i>E. coli</i> a tres concentraciones de plata coloidal. Izquierda prueba “a”. Derecha prueba “b” .....	120
Figura A4.2.	Curvas de sobrevivencia de <i>E. coli</i> con 0.05 mg/L de Ag coloidal. Izquierda pruebas “c” y “d” con mayor concentración de <i>E. coli</i> . Derecha pruebas “e” y “f” con diferente concentración de materia orgánica .....	120
Figura A4.3.	Curvas de sobrevivencia de <i>E. coli</i> con AMNP. Izquierda pruebas con AMNP, diámetro de partícula 2-3.36 mm. Derecha pruebas con AMNP y Ag <sub>2</sub> S, diámetro de partícula 0.6 mm.....	122
Figura A4.4.	Curva de sobrevivencia de <i>E. coli</i> con granalla de plata .....	122

---

## NOMENCLATURA

AAS	Espectroscopia de Absorción atómica.
AMNP	Agregado mineral natural con plata.
AMNPE	Agregado mineral natural con plata estéril.
AMNPSE	Agregado mineral natural con plata sin esterilizar.
ARE	Agua residual experimental.
AREC	Agua residual experimental concentrada (mayor contenido de materia orgánica).
ARPT	Agua residual parcialmente tratada.
ARPTE	Agua residual parcialmente tratada y estéril.
CAC	Columnas empacadas a pequeña escala alimentadas en continuo.
CAL	Columnas empacadas a pequeña escala alimentadas por lotes.
D.A.	Densidad aparente.
D.R.	Densidad real.
F <sub>0</sub>	“efe” calculada, razón de variación entre la media de cuadrados del tratamiento y media de cuadrados del error.
ICP	Plasma de acoplamiento inductivo (inductive coupling plasm).
“k”	Constante de rapidez de inactivación de la ley de Chick-Watson.
LC	Límite de cuantificación (concentración de analito que origina una señal que puede considerarse el límite inferior del rango lineal).
LD	Límite de detección (concentración de analito que origina una señal que puede diferenciarse estadísticamente de la señal blanco).
LSD	Diferencia mínima significativa.
M-FC	Medio de coliformes fecales.
µm	Micras.
N <sub>t</sub> /N <sub>0</sub>	Razón que relaciona la concentración de bacterias vivas encontradas en un tiempo determinado con respecto a la concentración inicial de las mismas.
OES	Espectroscopia de emisión óptica (Optical emission spectroscopy).
%P	Porcentaje de Porosidad.
SEM	Microscopía electrónica de barrido (Scanning electron microscopy).
TRH	Tiempo de residencia hidráulico.
UFC/mL	Unidades formadoras de colonias por mililitro.
UFC/g	Unidades formadoras de colonias por gramo de material.
%w/w	Por ciento peso/peso.

## RESUMEN

Los microorganismos patógenos están usualmente presentes en las aguas residuales domésticas y pueden ser removidos mediante procesos de desinfección. La cloración de las aguas residuales parcialmente tratadas es uno de los métodos comúnmente empleados en su eliminación, sin embargo, su principal inconveniente es la generación de subproductos con carácter carcinogénico. Desinfectantes alternativos, como los compuestos de plata, han sido empleados exitosamente en la eliminación de microorganismos, pero solamente en agua de calidad potable. Por lo anterior, el presente trabajo se enfocó al estudio de la capacidad germicida de compuestos de plata en la desinfección de aguas residuales parcialmente tratadas. Para ello fueron previamente esterilizadas y posteriormente inoculadas con concentraciones pre-establecidas de *Escherichia coli* cepa ATCC 25922. Como desinfectantes de prueba se emplearon plata coloidal, plata en granalla y agregados minerales naturales con plata (AMNP). Los experimentos fueron realizados tanto en sistemas por lotes, empleando matraces, como en sistemas con flujo continuo, mediante columnas empacadas a pequeña escala. Los análisis fisicoquímicos practicados al AMNP indican que se encuentra conformado por Montmorillonita, Sanidina, Nimita, Cuarzo, óxido de hierro (III) y calcita y, un contenido de plata de 0.0159 % w/w en peso. Los resultados experimentales en los sistemas por lotes, empleando concentraciones iniciales de *E. coli* menores de  $10^4$  UFC/mL y de plata coloidal de 0.5 mg/L, indican que el tiempo mínimo de contacto requerido para la remoción del 100% es menor a 15 minutos, mientras que empleando un gramo de AMNP y un gramo de granalla de plata es de 30 y 90 minutos, respectivamente. Complementariamente, se observó que la plata coloidal, además de ser un buen desinfectante, tiene la capacidad de oxidar la materia orgánica soluble existente en el agua residual y presenta efecto desinfectante remanente.

En el caso de las columnas a pequeña escala alimentadas a flujo continuo, el AMNP demostró tener igual capacidad desinfectante que la granalla de plata removiendo en promedio más del 80%. La tasa de remoción de la granalla de plata fue de  $5.45 \times 10^4$  [UFC/mL(eliminadas)] $\times$ h $\times$ cm<sup>3</sup>, mientras que para el AMNP fue de  $1.64 \times 10^5$  [UFC/mL(eliminadas)] $\times$ h $\times$ cm<sup>3</sup>. En cuanto a su rendimiento por gramo de material, para la granalla de plata fue de  $0.19 \times 10^6$  UFC(eliminadas)/g y de  $1.05 \times 10^6$  UFC(eliminadas)/g de AMNP. Es importante señalar que para el AMNP no se detectó la presencia de plata en las muestras de agua tratada. Posiblemente la presencia en el AMNP, de diferentes metales (Fe, Cu, Zn, entre otros) adicionales a la plata, podría inducir un efecto sinérgico desinfectante que conllevara a un aumento en la eliminación de la *E. coli* contenida en las muestras de agua, explicándose así la similitud desinfectante observada respecto de la granalla de plata. Lo anterior permite vislumbrar al AMNP como un material prometedor para ser empleado en filtros desinfectantes de aguas residuales parcialmente tratadas.

## 1. INTRODUCCIÓN

En los sistemas de tratamiento de aguas residuales, la desinfección es el paso final antes de su reuso o disposición a cuerpos receptores. El cloro y sus derivados son los compuestos oxidantes más ampliamente utilizados debido a su bajo costo y a su efecto remanente. Estos compuestos presentan como principal inconveniente para su uso la generación de subproductos con propiedades cancerígenas como son los trihalometanos y compuestos organoclorados (Bitton, 1994). Si bien existen otras opciones de desinfección, como es el caso del ozono y la luz ultravioleta, éstas presentan entre sus principales desventajas su relativo alto costo y la carencia de efecto desinfectante remanente (Lazarova *et al.*, 1999). Es por ello que se considera vigente la necesidad de encontrar alternativas de desinfección de bajo costo, que sean de fácil manejo y que sus subproductos no generen problemas de salud o de tipo ambiental.

En este sentido, se sabe que desde hace más de 4000 años, culturas como la Persa, Egipcia y Azteca han empleado la plata como un elemento natural desinfectante de agua para consumo humano. En la actualidad la plata o sus compuestos, continúan siendo empleados para la potabilización de agua. No obstante, su aplicación en la desinfección de aguas residuales ha sido poco explorada. Lo anterior posiblemente debido a los comparativamente altos costos asociados con su uso. En este contexto, al ser México un país altamente productor de este mineral hace vislumbrar la factibilidad de explotar los terreros de las minas los cuales contienen rocas y arenas con bajo contenido de plata. Estos materiales o agregados minerales naturales con plata (AMNP) no son económicamente viables para su procesamiento y tampoco tienen un uso en específico, sin embargo dada su composición (Anexo 1), podrían ser utilizados para la desinfección de aguas residuales a un bajo costo, con la ventaja de no generar problemas ambientales asociados a su empleo. Es por ello que la presente tesis se enfocó al estudio de la capacidad de desinfección de la plata usando plata coloidal, plata en granalla y AMNP. La información obtenida permitirá un mayor entendimiento de los principales mecanismos involucrados en el fenómeno de desinfección. La estrategia de trabajo concebida para abordar el problema (Capítulo 2), originó que el trabajo experimental se dividiera en dos etapas. La primera enfocada a la fase de experimentación preliminar o primera etapa experimental (Capítulo 4) realizando pruebas en lote y una fase de experimentación secundaria o segunda etapa experimental (Capítulo 5 y Anexo 2) efectuando pruebas en columnas alimentadas a flujo continuo. El resultado del procesamiento y análisis de la información obtenida en las fases experimentales antes señaladas, así como de su confrontación (Capítulos 4, 5 y Anexos 3, 4) con la literatura especializada sobre el tema (Capítulo 3), sirvió como base para entender el fenómeno de desinfección de agua residual parcialmente tratada, mediante el uso de plata de lo cual la información existente es prácticamente nula.



## 2. HIPÓTESIS, OBJETIVOS Y ESTRATEGIA DE TRABAJO

### 2.1 Hipótesis

Diferentes compuestos de plata tienen igual capacidad bactericida al ser aplicados en aguas residuales domésticas parcialmente tratadas.

### 2.2 Objetivos

Objetivo general

Evaluar el poder bactericida de compuestos de plata en aguas residuales domésticas parcialmente tratadas.

Objetivos específicos

- Evaluar, en sistemas alimentados por lote, el efecto desinfectante de la plata coloidal en aguas residuales domésticas parcialmente tratadas conteniendo concentraciones preestablecidas de *Escherichia coli*.
- Evaluar de manera comparativa, en sistemas por lote, el efecto desinfectante de la granalla de plata y el AMNP, en aguas residuales domésticas parcialmente tratadas conteniendo concentraciones preestablecidas de *Escherichia coli*.
- Determinar el tiempo de contacto requerido para que el AMNP elimine al 100% concentraciones de *Escherichia coli* predeterminadas.
- Evaluar la capacidad desinfectante de la granalla de plata y del AMNP empacados en columnas a pequeña escala, al ser alimentadas de manera continua con aguas residuales domésticas parcialmente tratadas conteniendo concentraciones preestablecidas de *Escherichia coli*.

### 2.3 Estrategia de trabajo

La estrategia de trabajo a seguir se dividió en dos etapas experimentales denominadas primera etapa experimental (Figura 2.1) y segunda etapa experimental (Figura 2.2).

#### 1) Primera etapa experimental

Esta etapa que corresponde a la experimentación preliminar tuvo como finalidad realizar una serie de experimentos que permitieron definir las variables a considerar para la realización de la segunda etapa experimental. En esta etapa se eligieron y montaron las metodologías requeridas, se caracterizó fisicoquímicamente el AMNP y se realizaron

pruebas de desinfección (eliminación de concentraciones preestablecidas de *E. coli*) con plata coloidal, granalla de plata y AMNP en sistemas por lote, tanto en matraces como en columnas a pequeña escala alimentadas por lote (CAL) empacadas con el AMNP.

## 2) Segunda etapa experimental

Con base en los resultados obtenidos durante la experimentación preliminar, la segunda etapa experimental se dividió en dos partes:

- a) *Pruebas de sobrevivencia de Escherichia coli frente a diferentes compuestos de plata*  
En esta parte experimental se observaron los efectos que tienen diferentes variables en la desinfección. Es por ello que las variables empleadas fueron: diferentes concentraciones de plata coloidal, diferentes concentraciones de *E. coli* y aumento en la cantidad de materia orgánica en el medio.

En cuanto a las pruebas con el AMNP, se observó el efecto que tiene en la desinfección el empleo de AMNP estéril y sin esterilizar y se comparó el porcentaje de desinfección logrado entre el AMNP y uno de los compuestos que forman parte de su composición como es el sulfuro de plata ( $\text{Ag}_2\text{S}$ ).

- b) *Ensayos en columnas empacadas a pequeña escala alimentadas en continuo (CAC)*  
Las pruebas realizadas con las CAL, fueron la base para el diseño y construcción de las columnas empacadas a pequeña escala alimentadas en continuo (CAC) y, así evaluar la granalla de plata y el AMNP en condiciones de flujo continuo.

Estadísticamente se emplearon dos tipos de diseños experimentales: a) diseño unifactorial, y b) diseño tipo factorial. Los factores a analizar fueron el tipo de plata a emplear y el tiempo de contacto entre el agua residual experimental y el compuesto de plata. La variable de respuesta fue las UFC/mL de *E. coli* sobrevivientes en tiempos pre-determinados de la prueba, es decir, el porcentaje de desinfección obtenido en las diferentes pruebas. Las diferencias entre tratamientos (diferencias del efecto desinfectante), fueron exploradas mediante el análisis de variancia (ANOVA) cuando los datos obtenidos cumplieron con los supuestos del modelo. En los casos en que no sucedió así, se realizó una transformación de los datos y si aún con la transformación no se lograba cumplir con ellos, se empleó el análisis no paramétrico.

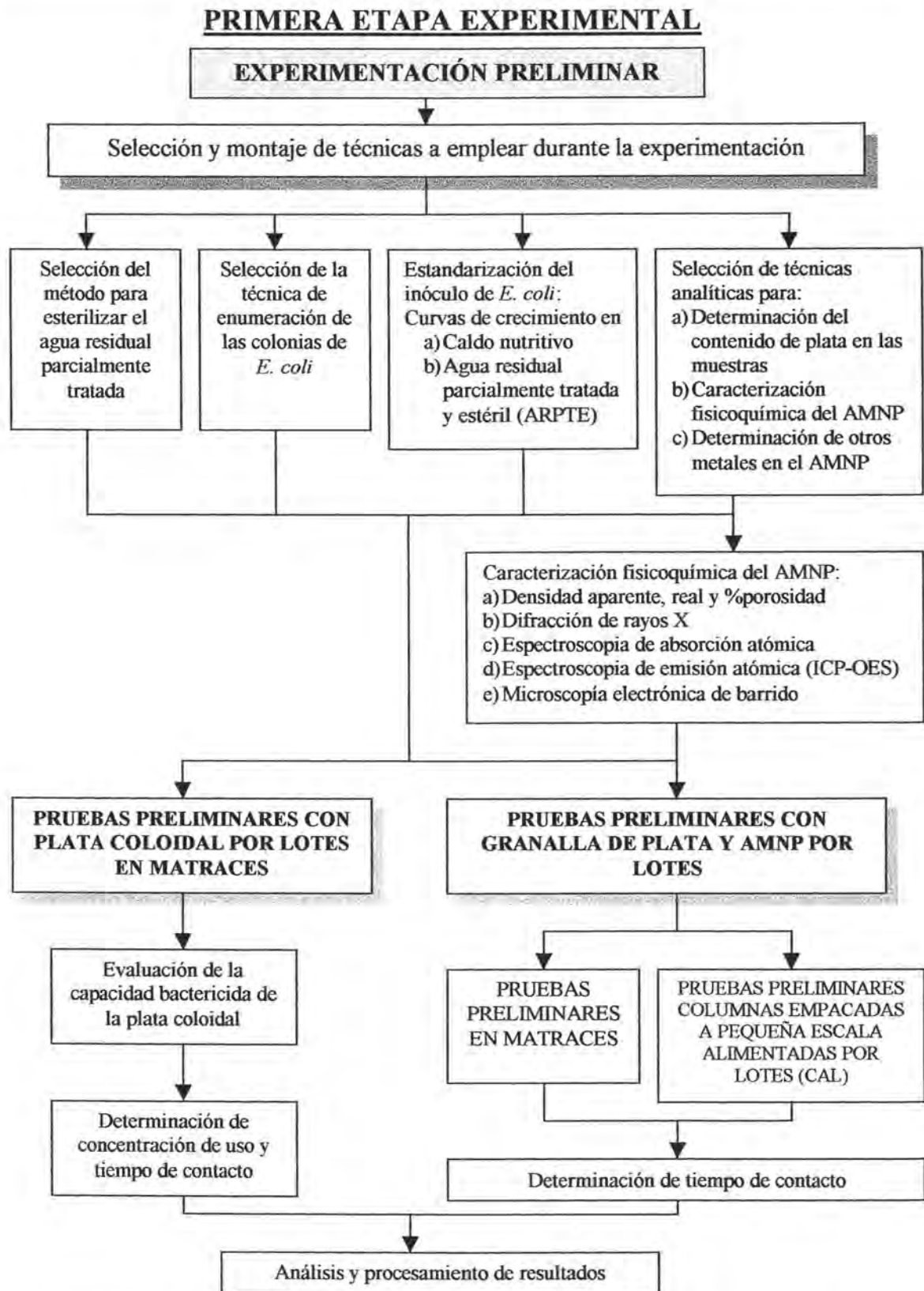


FIGURA 2.1. Secuencia de pasos realizados en la primera etapa experimental.

**SEGUNDA ETAPA EXPERIMENTAL**

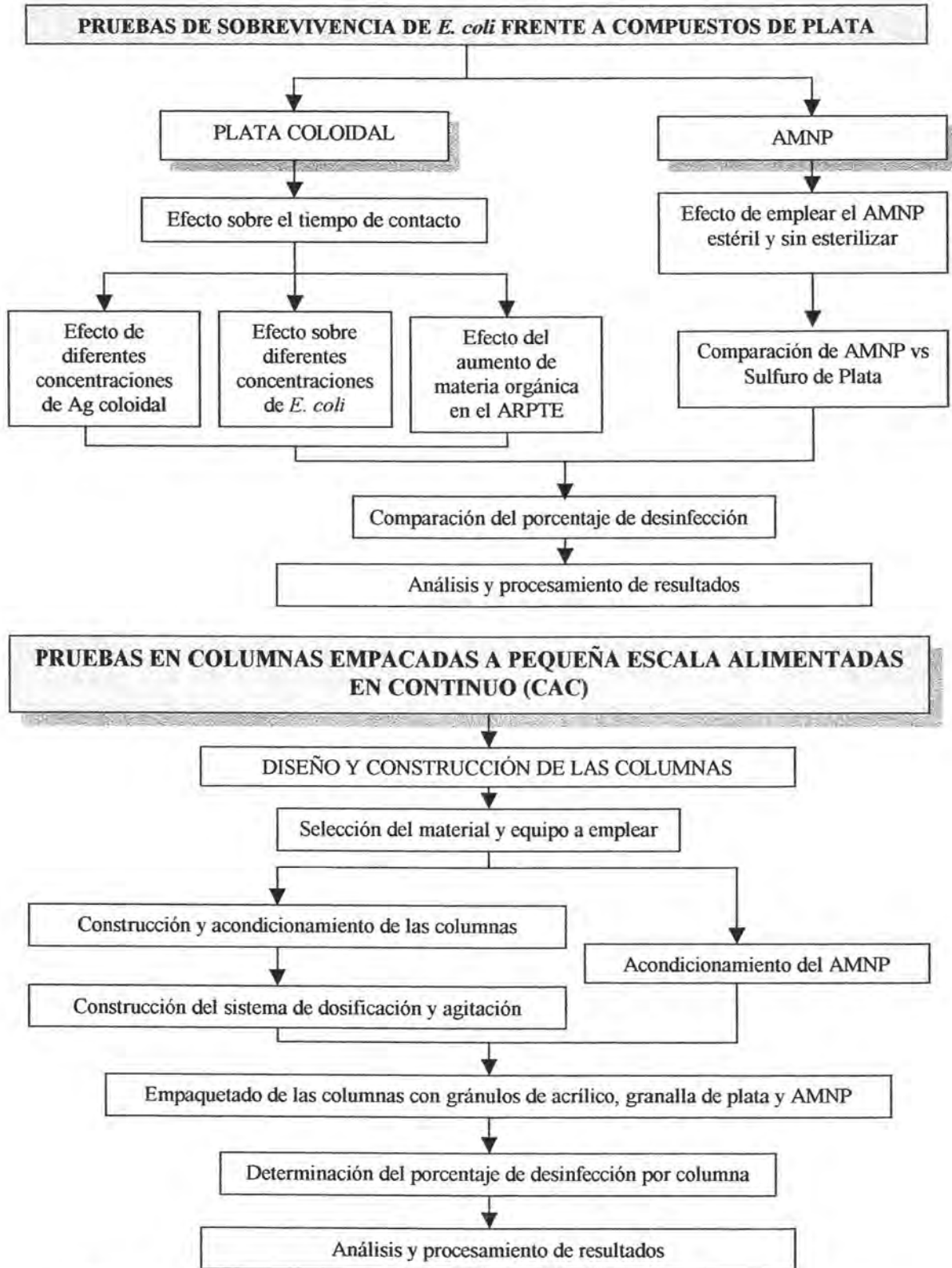


FIGURA 2.2. Secuencia de pasos realizados en la segunda etapa experimental.



---

## 3. MARCO TEÓRICO DE REFERENCIA

### 3.1 Problemática de las aguas residuales en México

El agua es uno de los recursos naturales más importantes para mantener el equilibrio de los ecosistemas del planeta. Este recurso natural está directamente vinculado con la calidad de vida de la población y es determinante para el funcionamiento de los sistemas productivos, tanto agrícola como industrial. El 70% del planeta se encuentra cubierto por agua, pero se sabe que solamente el 0.007% del agua existente en la tierra puede ser empleada por los seres humanos (Martínez, 2001). La organización meteorológica mundial estima que la cantidad total de agua disponible es de 12,500 km<sup>3</sup> por año de los cuales 9,000 km<sup>3</sup> se encuentran de manera natural y accesible para los seres humanos y 3,500 km<sup>3</sup> son capturados en presas y otros almacenamientos. En el caso particular de México, se tiene una disponibilidad natural de 463 km<sup>3</sup> de agua, de los cuales 410 km<sup>3</sup> corresponden a escurrimientos y 28.2 km<sup>3</sup> a agua subterránea. El mayor consumo de agua se destina al sector agrícola, el cual emplea cerca del 76% del volumen total.

Es importante destacar que en los países en vías de desarrollo, a lo largo de las últimas décadas, la contaminación de los cuerpos de agua naturales se ha ido incrementando, debido a que reciben descargas de aguas residuales domésticas e industriales sin tratamiento alguno. Si bien es cierto que este tipo de aguas constituyen un problema sanitario, son a la vez un recurso preciado para el riego y la acuicultura, principalmente en aquellas zonas desérticas y/o sitios con estiajes prolongados, representando así un elemento de gran importancia económica. Se ha comprobado que es posible incrementar los rendimientos de cultivos como alfalfa, maíz, trigo, cebada, avena y tomate en porcentajes que van desde un 40 a un 60% (Bahri, 1999; Saénz, 1999). No obstante, las ventajas en la producción agrícola inherentes al uso de las aguas residuales, (principalmente en zonas rurales y suburbanas de México) este tipo de prácticas provoca enfermedades gastrointestinales a la población consumidora de hortalizas regadas con este tipo de aguas. Lo anterior derivado precisamente de la falta de calidad sanitaria de los productos obtenidos (Cuenca *et al.*, 2001) como consecuencia de la inadecuada calidad del agua de riego empleada. De igual forma, el uso de aguas residuales crudas tanto en riego por aspersión, como a través de riego por inundación o por surcos, constituyen focos de infección, directo para los agricultores, e indirecto para los asentamientos humanos aledaños. Adicionalmente, debido a la infiltración de dichas aguas, se induce la contaminación de los mantos freáticos someros (Gallegos *et al.*, 1999; Blumenthal *et al.*, 2000). Por otra parte, cuando el agua residual es descargada en ríos y lagos, además de la contaminación por microorganismos, también se provoca el incremento de nitrógeno y fósforo en el medio acuático, acelerándose así el fenómeno de eutroficación, lo que repercute en un grave detrimento de la calidad del agua y en consecuencia se ve limitado su uso como posible fuente de abastecimiento de agua potable.

Los actuales sistemas de tratamiento de las aguas residuales, intentan reducir los riesgos sanitarios y ecológicos asociados con el manejo y disposición de las aguas residuales buscando asegurar el reuso seguro del agua tratada. Aunque los procesos físicos y biológicos convencionales de las plantas de tratamiento disminuyen de manera considerable la concentración de contaminantes orgánicos y de microorganismos, no consiguen alcanzar los valores de calidad establecidos para su correcta descarga a bienes nacionales, ni para su reuso en servicios al público, según lo establecido en la normatividad ambiental nacional vigente (NOM-001-SEMARNAT-1996 y NOM-003-SEMARNAT-1997). En consecuencia, los efluentes de estos sistemas requieren de un paso posterior de desinfección antes de su disposición. La elección de un desinfectante depende de diferentes consideraciones que van desde su capacidad bactericida hasta el método de administración. Dentro de los factores más importantes destacan: eficiencia del tratamiento, costos de operación, simplicidad y confiabilidad del proceso, estándares a ser alcanzados y toxicidad residual del efluente. En este contexto, la descarga de efluentes desinfectados en sistemas acuáticos puede tener un efecto mortal sobre la biota autóctona, provocando con ello un desequilibrio en ese ecosistema (Arana *et al.*, 2000). Es por ello que es altamente deseable el desarrollo de métodos alternativos de desinfección que sean menos costosos, de fácil uso y cuyo impacto negativo hacia el ambiente y la salud pública sea mínimo. Tomando en cuenta lo anterior, en el presente capítulo se describen los tipos de desinfectantes existentes, modo de acción y características relevantes, se resalta el uso de la plata como desinfectante, debido a su particular interés para el desarrollo del presente trabajo.

### 3.2 Fundamento teórico sobre desinfección

En los diferentes sistemas de tratamiento de aguas residuales, los microorganismos contenidos en el agua residual, pueden ser removidos físicamente o sufrir procesos de depredación y muerte natural. Con esto se logra su eliminación en un grado variable, como se muestra en la Tabla 3.1, pero sin lograr alcanzar el nivel de desinfección requerido para su reuso seguro (Maskew *et al.*, 1971; Gaudy y Gaudy, 1981; Metcalf y Eddy, 1996). Por ese motivo, es necesario realizar un tratamiento de desinfección de estos efluentes antes de poder disponer de ellos. La desinfección de las aguas residuales, reduce el riesgo de transmisión de enfermedades infecciosas (Arana *et al.*, 2000) por microorganismos entéricos del tipo de virus, bacterias, protozoos y helmintos, los cuales, son causantes de enfermedades como el tífus, el cólera, el paratífus, la poliomielitis, la hepatitis infecciosa, la amibiasis y helmintiasis, entre otras muchas enfermedades transmitidas por el agua (Hurst, 1997; Moe, 1997). Debido a la naturaleza del proceso de tratamiento no todos los microorganismos son removidos (Metcalf y Eddy, 1996). En este sentido, la elección de un desinfectante depende del o los microorganismos que se deseen eliminar (Dantz, 1999), así como del uso posterior que se le pretenda dar al agua tratada, los costos involucrados en el uso del desinfectante, estándares a ser alcanzados y de la toxicidad residual del efluente tratado (Collivignarelli *et al.*, 2000; Lazarova *et al.*, 1999). Es por ello que el desinfectante ideal debería cumplir con ciertas características como son: 1) ser tóxico, a temperatura ambiente, para los microorganismos que se desea eliminar pero no para formas de vida u organismos superiores; 2) ser soluble y estable; 3) no interaccionar con materias extrañas ni ser corrosivo ni colorante; 4) tener capacidad desodorante; 5) ser de fácil adquisición, uso y transporte. Estas características se describen en la Tabla 3.2 (Metcalf y Eddy, 1996).

TABLA 3.1. REDUCCIÓN DE MICROORGANISMOS POR DIFERENTES PROCESOS DE TRATAMIENTO

Proceso de tratamiento	% eliminación de microorganismos	Reducción de diferentes agentes patógenos (unidades logarítmicas <sub>10</sub> ) <sup>a</sup>				Referencia
		Bacterias	Helminetos	Virus	Quistes	
Tamices de malla gruesa	0-5	-	-	-	-	Metcalf y Eddy, 1996; Schiller, 1996
Tamices de malla fina	10-20	-	-	-	-	Metcalf y Eddy, 1996; Schiller, 1996
Desarenadores	10-25	-	-	-	-	Metcalf y Eddy, 1996; Schiller, 1996
Sedimentación primaria	25-75	0-1	0-2	0-1	0-1	Metcalf y Eddy, 1996; Schiller, 1996; Saénz, 1999
Sedimentación química	40-80	1-2	1-3	0-1	0-1	Metcalf y Eddy, 1996; Schiller, 1996; Saénz, 1999
Filtros percoladores	90-95	0-0.2	-	-	-	Metcalf y Eddy, 1996; Schiller, 1996
Lodos activados	90-98	0-2	0-2	0-1	0-1	Metcalf y Eddy, 1996; Schiller, 1996; Saénz, 1999
Infiltración rápida	98-99	1-2	-	-	-	Collado, 1992
Escorrentia superficial	80-98	2-3	-	-	-	Collado, 1992
Humedales artificiales	98-99	2-3	-	-	-	Brix, 1994
Lagunas de oxidación	99.9	1-2	0-2	1-2	0-1	Saénz, 1999
Cloración de desagües biológicamente tratados	98-99	2-6	0-1	0-4	0-3	Metcalf y Eddy, 1996; Schiller, 1996; Saénz, 1999

Nota: <sup>a</sup>Tomando como base que el agua cruda puede contener de 5 a 7 unidades logarítmicas<sub>10</sub> UFC/100 mL de bacterias coliformes fecales o *Escherichia coli*, 0.7-3 unidades logarítmicas<sub>10</sub> de huevos de helminto y de 4 a 6 unidades logarítmicas<sub>10</sub> de virus (Saénz, 1999; Campos, 2003).

TABLA 3.2. CARACTERÍSTICAS IDEALES QUE DEBE POSEER UN DESINFECTANTE

Característica	Propiedad
Toxicidad para los microorganismos	Debe ser altamente tóxico a altas concentraciones para los tipos de microorganismos patógenos que se encuentran presentes en las aguas residuales
Toxicidad a temperatura ambiente	Debe ser efectivo en el intervalo de temperatura ambiente
No debe ser tóxico para las formas de vida superiores	Debe ser tóxico para los microorganismos pero no tóxico para el hombre y otros animales
Solubilidad	Debe ser soluble en agua o en el tejido celular
Estabilidad	Debe mantener su poder germicida por un periodo de tiempo Debe persistir en una concentración razonable en el agua desinfectada para proveer una protección residual contra posible contaminación antes de su reuso La desaparición de una concentración residual podría ser un indicativo de que se contaminó nuevamente el agua tratada
Homogeneidad	La disolución debe ser uniforme en su composición y soportar posibles fluctuaciones de composición y concentración de las aguas residuales
Interacción con materias extrañas	No debe ser absorbido por otra materia orgánica diferente a las células bacterianas
No corrosivo y no colorante	No debe atacar los metales ni teñir la ropa
Capacidad desodorante	Debe desodorizar a la vez que desinfectar
Disponibilidad	Debe estar disponible en grandes cantidades y a un costo razonable
Manejo y transportación	Debe ser seguro y fácil de guardar, transportar, manejar y aplicar
Determinación de concentración	Su concentración en el agua tratada debe ser fácil y rápidamente determinada

(Tomado de: Metcalf y Eddy, 1996).



### 3.2.1 Tipos de desinfectantes

Los desinfectantes pueden clasificarse dentro de dos categorías principales que son: a) agentes químicos (compuestos químicos como ácidos, álcalis o metales); b) agentes físicos (métodos mecánicos y radiaciones) (Maskew *et al.*, 1971; Metcalf y Eddy, 1996; Sánchez, 1997, Acher *et al.*, 1997). A continuación se describen las principales características de cada uno de ellos.

#### 3.2.1.1 Desinfección por agentes químicos

Se basan en el potencial de oxidación de los compuestos químicos que pueden oxidar y dañar la pared celular de los microorganismos y eventualmente causar un daño letal. Pueden ser metales o iones metálicos, álcalis, ácidos, surfactantes químicos o halógenos. Es importante mencionar que la capacidad de oxidación de un compuesto no es necesariamente una medida de su capacidad como agente desinfectante. Un ejemplo de ello es el peróxido el cual es un oxidante fuerte pero un desinfectante pobre (Bitton, 1994).

##### 3.2.1.1.1 Halógenos

El más comúnmente empleado, es el cloro en sus diferentes presentaciones ya sea como gas cloro, hipoclorito de sodio, hipoclorito de calcio, dióxido de cloro o cloruro de bromo. El tiempo de contacto mínimo requerido es de 30 minutos, con dosis de 5 a 15 mg/L, para que la concentración de cloro libre en el efluente se encuentre entre 0.1 a 0.2 mg/L (Gyürék y Finch, 1998; Mujeriego y Asano, 1999). La habilidad del hipoclorito para eliminar a los microorganismos se debe predominantemente a la capacidad del HOCl para oxidar proteínas y otras estructuras de las bacterias, virus y protozoarios (Margolin, 1997). Aunque tradicionalmente la cloración de las aguas residuales ha sido considerada como el método más efectivo y económicamente factible para la desinfección, presenta el inconveniente de aumentar la proporción de bacterias resistentes a antibióticos, las cuales son potencialmente patógenas (Maskew *et al.*, 1971; Metcalf y Eddy, 1996; Sánchez, 1997). Por otra parte el cloro al ser una molécula muy reactiva reacciona con la materia orgánica del agua residual formando ácidos haloacéticos y trihalometanos (THM), como son cloroformo, diclorometano, 1,2- dicloroetano y tetracloruro de carbono, que al bioacumularse en los seres vivos son agentes cancerígenos y mutagénicos reales y potenciales para los seres humanos, causando un gran problema ambiental (Bitton, 1994; Metcalf y Eddy, 1996; Margolin, 1997). Otros tipos de halógenos como el bromo y el yodo han sido utilizados principalmente para desinfectar el agua de las albercas. El bromo al combinarse con el cloro puede formar bromodiclorometano y dibromoclorometano los cuales también han sido considerados como cancerígenos (Bitton, 1994).

##### 3.2.1.1.2 Ozono

Es un desinfectante caro, pero es un poderoso agente oxidante que al aplicarlo al agua inactiva a los microorganismos, destruye la materia orgánica, oxida al Mn y Fe, a los compuestos que imparten olor y color, así como a los precursores de THM. Su eficiencia como desinfectante no depende del pH y no interacciona con el amoníaco. La concentración mínima requerida para inactivar bacterias es de 0.1 mg/L, pero la concentración usualmente reportada para las descargas de aguas residuales es de 5-10 mg/L con un tiempo de contacto de 5 a 10 min. En el caso de virus, es de 0.05 a 0.06 mg/L (Bitton, 1994; Liberti y Notarnicola, 1999). Su principal desventaja consiste en no tener

poder remanente de desinfección, además de formar subproductos, como los bromatos, los cuales producen efectos dañinos para los seres vivos. Si el ozono no es empleado correctamente puede escapar durante el proceso de desinfección constituyendo así un riesgo para la salud de los operadores y de afectación para el medio ambiente, inclusive a concentraciones tan bajas como  $0.03 \text{ g/m}^3$  (Acher *et al.*, 1997).

#### 3.2.1.1.3 *Iones metálicos*

Los iones metálicos de plata y cobre obtenidos electrolíticamente, son los más empleados para la desinfección del agua contenida en albercas.

La plata posee propiedades bactericidas. Su principal ventaja es que se usa en concentraciones tan pequeñas como  $15 \text{ } \mu\text{g/L}$  (Maskew *et al.*, 1971) y presenta acción remanente (Davies y Etris, 1997). No obstante, dado el interés que representa para el presente trabajo la desinfección con plata, en secciones posteriores se abordará con mayor profundidad este tema.

En cuanto al cobre, es un fuerte agente alguicida más que bactericida. La toxicidad bioquímica del cobre hacia las bacterias, cuando supera el control homeostático, se debe a sus efectos en la estructura y la función de biomoléculas como el ADN, las membranas y las proteínas, directamente o mediante mecanismos con la intervención de radicales oxígeno (Nies, 2004).

#### 3.2.1.1.4 *Álcalis y ácidos*

Los microorganismos patógenos no pueden sobrevivir en aguas altamente alcalinas ( $\text{pH} > 11$ ) o ácidas ( $\text{pH} < 3$ ). De manera particular, el ácido peracético (APA) ( $\text{CH}_3\text{CO}_3\text{H}$ ), constituye un poderoso agente antimicrobiano propuesto para la desinfección de aguas residuales (Baldry y French, 1989). El APA es una mezcla cuaternaria de ácido acético, peróxido de hidrógeno, ácido peracético y agua. Su actividad desinfectante aumenta en pH ácidos donde prevalece el ácido no disociado. Actúa desnaturalizando las proteínas de la membrana plasmática de las bacterias, provocando la ruptura de la pared celular. Las dosis comúnmente empleadas para la descarga de agua residual es de 1 a 5 mg/L con menos de 30 minutos de tiempo de contacto. Las desventajas que presenta son el aumento en el contenido orgánico del efluente, la pérdida de poder desinfectante, la potencial reactivación microbiana debido al ácido acético, su limitada eficiencia contra virus y parásitos y una fuerte dependencia en la calidad del agua residual (Liberti y Notarnicola, 1999).

#### 3.2.1.2 *Desinfección por agentes físicos*

En esta categoría se encuentran tanto los métodos mecánicos como los diferentes tipos de radiaciones.

##### 3.2.1.2.1 *Métodos mecánicos*

Dentro de los métodos mecánicos, en donde los microorganismos son retenidos, destacan la filtración empleando diferentes medios filtrantes (camas) como son arena, carbón activado o su combinación y la sedimentación primaria (Metcalf y Eddy, 1996). Asimismo se consideran el uso de membranas sintéticas, polímeros o materiales cerámicos para la

microfiltración y ultrafiltración (Acher *et al.*, 1997; Lazarova *et al.*, 1999). La microfiltración y la ultrafiltración son procesos empleados principalmente para remover partículas coloides y largas moléculas orgánicas de alto peso molecular, es por este motivo que es posible la retención de bacterias y protistas de tamaño mayor a 5  $\mu\text{m}$ , así como de virus, hasta en cierto grado (López-Pila *et al.*, 1996).

#### 3.2.1.2.2 Radiaciones

En el ámbito de las radiaciones, se consideran la radiación electromagnética, la acústica, la radiación de partículas (rayos gamma), la radiación solar y la radiación U.V. (Metcalf y Eddy, 1996).

Los rayos gamma se emiten a partir de elementos radioisótopos, como el cobalto-60 o cesio-137 (Bitton, 1994). Dado su poder de penetración, los rayos gamma se han utilizado tanto para la desinfección (esterilización) del agua potable como del agua residual (Metcalf y Eddy, 1996).

La radiación solar es un desinfectante natural, que provoca lisis celular. Se ha reportado que bacterias entéricas son inactivadas cuando se ha empleado la luz solar. Este método únicamente es recomendable en países con climas calurosos y soleados (Smith *et al.*, 2000). La eficacia del proceso depende de la penetración de los rayos solares en el agua a tratar.

La radiación ultravioleta (U.V.) con longitud de onda en el rango de 250-270 nm, posee la propiedad de inactivar bacterias, esporas y virus, al penetrar la pared celular de los microorganismos y ser absorbida por los materiales celulares, incluyendo ADN y ARN (Metcalf y Eddy, 1996; Moreno *et al.*, 1997; Tree *et al.*, 1997; Andreadakis *et al.*, 1999). El tiempo de contacto necesario para inactivar a los microorganismos es de segundos hasta minutos, dependiendo de la intensidad de la radiación U.V. (Droste, 1997). El principal método de generación es la lámpara de arco de mercurio a baja presión, algunas veces recubierta por tubos de cuarzo (Bitton, 1994), con la cual, el 85% de la luz emitida es monocromática y con longitud de onda de 253.7 nm (Metcalf y Eddy, 1996). La geometría de contacto entre la fuente emisora de radiación U.V. y el agua es de gran importancia debido a que no solamente los microorganismos absorberán la radiación, asimismo lo harán la materia en suspensión, las moléculas orgánicas disueltas, el color del agua y la materia coloidal. Este método tiene la ventaja de no provocar sobredosis peligrosas, ni la formación de subproductos tóxicos, pero presenta la desventaja de carecer de un residuo que pueda enfrentar y eliminar la recontaminación posterior debido a reparación o fotoreactivación de las células (Liberti y Notarnicola, 1999).

En la Tabla 3.3 se presentan, en forma resumida, las características relevantes de algunos de los desinfectantes y en la Tabla 3.4 las principales ventajas y desventajas de los desinfectantes más usados en los sistemas de tratamiento de aguas residuales. A pesar de que el uso de la plata no es generalizado, se presenta en la Tabla 3.3 por el interés que representa para este trabajo.

TABLA 3.3. COMPARACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS IDEALES Y REALES QUE PRESENTAN LOS DESINFECTANTES

Característica	Propiedades/ Respuesta	Cloro	Hipoclorito de sodio	Hipoclorito de calcio	Dióxido de cloro	Cloruro de bromo	Ozono	Radiación U.V.	*Plata
Toxicidad para los microorganismos	Debe ser altamente tóxico a altas concentraciones	Alta	Alta	Alta	Alta	Alta	Alta	Alta	Alta, aún a bajas concentraciones (Davies y Etris, 1997, Silver, 2003)
Solubilidad	Debe ser soluble en agua o en tejido celular	Ligera	Alta	Alta	Alta	Ligera	Alta	NA	Limitada. Depende del estado iónico
Estabilidad	La pérdida de acción germicida con el tiempo debe ser baja	Estable	Ligeramente estable	Relativamente estable	Inestable, debe generarse a medida que se consume	Ligeramente inestable	Inestable, debe generarse a medida que se consume	Debe generarse a medida que se consume	Estable en ausencia de luz
No tóxico para las formas de vida superiores	Debe ser tóxico para los microorganismos y no tóxico para el hombre y otros animales	Altamente tóxico para las formas de vida superiores	Tóxico	Tóxico	Tóxico	Tóxico	Tóxico	Tóxico	No Tóxico para formas de vida superiores (Davies y Etris, 1997) En agua potable máximo 0.1 mg/L (OMS)
Homogeneidad	La disolución debe ser uniforme en su composición	Homogéneo	Homogéneo	Homogéneo	Homogéneo	Homogéneo	Homogéneo	NA	Homogéneo
Interacción con materias extrañas	No debe ser absorbido por otra materia orgánica que las células bacterianas	Oxida la materia orgánica	Oxidante activo	Oxidante activo	Alta	Oxida la materia orgánica	Oxida la materia orgánica	Absorbido por la materia orgánica	Oxida la materia orgánica (Wang <i>et al.</i> , 2003)

NOTA: NA= no aplicable, ND= no hay datos.

(\*Modificado de Metcalf y Eddy, 1996).



Continuación.... TABLA 3.3. COMPARACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS IDEALES Y REALES QUE PRESENTAN LOS DESINFECTANTES

Característica	Propiedades/ respuesta	Cloro	Hipoclorito de sodio	Hipoclorito de calcio	Dióxido de cloro	Cloruro de bromo	Ozono	Radiación U.V.	*Plata
Toxicidad a temperatura ambiente	Debe ser efectivo en el intervalo de temperaturas ambiente	Alta	Alta	Alta	Alta	Alta	Alta	Alta	Alta (Woodward, 1963)
Penetración	Debe tener la capacidad de penetrar a través de las superficies	Alta	Alta	Alta	Alta	Alta	Alta	Moderado	Alta en forma iónica (Silver, 2003)
No corrosivo y no colorante	No debe atacar los metales ni teñir la ropa	Muy corrosivo	Corrosivo	Corrosivo	Muy corrosivo	Corrosivo	Muy corrosivo	NA	No Corrosivo y no colorante
Capacidad desodorante	Debe desodorizar a la vez que desinfectar	Alta	Moderado	Moderado	Alta	Moderado	Alta	ND	ND
Disponibilidad	Debe estar disponible en grandes cantidades y a un precio razonable	Costo bajo	Costo moderadamente bajo	Costo moderadamente bajo	Costo moderadamente bajo	Costo moderadamente bajo	Costo moderadamente elevado	Costo moderadamente elevado	Costo posiblemente elevado para países no productores de Ag (Droste, 1997)  En México podría ser bajo

NOTA: NA= no aplicable, ND= no hay datos.

(\*Modificado de Metcalf y Eddy, 1996).



TABLA 3.4. VENTAJAS Y DESVENTAJAS DE LOS DESINFECTANTES COMÚNMENTE EMPLEADOS EN EL TRATAMIENTO DE AGUA RESIDUAL

Método de desinfección	Desinfectante	Ventajas	Desventajas
CLORACIÓN	Cloro	Tecnología establecida Los cilindros de cloro son ampliamente usados y los sistemas de inyección de cloro Tiempo de contacto 15-30 minutos	El cloro residual es tóxico para la vida acuática en los cuerpos receptores La formación de THM El cloro es un material peligroso que requiere manejo especializado
	Hipoclorito de sodio	Manejo más seguro en comparación con cloro	Presenta las mismas desventajas que el cloro, pero ofrece menores riesgos en su manejo
CLORACIÓN/ DESCLORACIÓN	Cloro y dióxido de azufre	Mismos que con la cloración No requiere almacenarse	Presenta las misma desventajas que la cloración, a excepción de que los efectos tóxicos del cloro residual se ven disminuidos Se introduce un químico adicional al sistema Se genera en el sitio a partir de gas cloro
	Hipoclorito de sodio y bisulfito de sodio	Mismos que con la cloración	Mismas que el punto anterior
OXIDACIÓN	Ozonación	Tiempo de contacto 5-15 minutos, menores que con cloro La calidad del efluente se ve aumentada como resultado del incremento en la remoción de la DBO, DQO, sólidos suspendidos y color No hay formación de THM Al disiparse rápidamente en medio acuoso no daña a la biota	Los costos de operación y mantenimiento son altos debido al proceso de generación de ozono, más que con la radiación U.V. Se debe producir en el sitio y ser empleado inmediatamente El proceso no deja protección residual Puede formar subproductos de desinfección tóxicos Las fugas pueden dañar a los operadores

(Tomada de Lau, 1997).

### 3.2.2 Mecanismos de acción de los desinfectantes

La acción de los desinfectantes se puede explicar por cinco mecanismos que van desde el daño a la pared celular, intervención en las cadenas respiratorias y en la síntesis proteica, hasta daños a nivel protoplasmático sobre los ácidos nucleicos (ADN y ARN) (Maskew *et al.*, 1971; Dantz, 1999)

#### *a) Daño de la pared celular*

El daño a la pared celular ocurre al unirse el desinfectante a las proteínas de la pared celular provocando lisis celular y en consecuencia la muerte de la célula.

#### *b) Alteración de la permeabilidad de las células*

Algunas sustancias tienen la capacidad de alterar la permeabilidad de la membrana citoplasmática. Estas sustancias evitan la permeabilidad selectiva de la membrana y permiten que se escapen algunos nutrientes vitales como los compuestos de nitrógeno y fósforo.

#### *c) Alteración de la naturaleza coloidal del protoplasma*

El calor, la radiación y los agentes fuertemente ácidos o alcalinos alteran la naturaleza coloidal del protoplasma. El calor o algunos agentes desinfectantes coagulan las proteínas celulares y los ácidos o bases desnaturalizan las proteínas, produciendo un efecto letal.

#### *d) Inhibición de la actividad enzimática*

Los agentes oxidantes pueden alterar la estructura química de las enzimas dando lugar a su desactivación.

#### *e) Remoción de grupos sulfhidrilos (-SH)*

Muchas de las proteínas enzimáticas en las células contienen el aminoácido cisteína (cadenas con terminaciones -SH). Estas enzimas no pueden funcionar a menos que los grupos -SH permanezcan libres y reducidos. Si el grupo -SH es atacado por un agente oxidante ocurre un daño en la célula y muere.

En la Tabla 3.5 se presentan diferentes tipos de desinfectantes, su modo de acción y algunas aplicaciones diferentes al tratamiento de aguas residuales. Debido a la particular importancia de la plata para la presente tesis, en secciones posteriores se profundizará sobre el tema.

TABLA 3.5. MODO DE ACCIÓN DE LOS DESINFECTANTES

Tipo	Ejemplos	Modo de acción	Aplicaciones
Agentes oxidantes	Halógenos como cloro	Oxidación de grupos -SH y otros grupos funcionales de las enzimas (Gaudy y Gaudy, 1981; Dantz, 1999) Rompimiento de la integridad de la membrana celular y otras funciones celulares. Abre las cadenas de proteínas, el ADN y ARN. Disminuye la toma de potasio, reduce la síntesis de proteínas y el ADN. Daña a las enzimas, como la catalasa, provocando la disminución de su actividad y su inhibición por la acumulación de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (Bitton, 1994) En virus puede atacar tanto a los ácidos nucleicos como a las proteínas de la cápsida (Beer, 2003)	En el tratamiento de aguas potable y residual, desinfectante de superficies tanto en el ámbito industrial como en casa habitación (Gaudy y Gaudy, 1981; Dantz, 1999)
	Peróxido de hidrógeno (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )	Presenta acción bactericida y bacteriostática (Pedahzur <i>et al.</i> , 1995 y 1997) Produce radicales libres H y OH, por lo que oxida y reduce los grupos funcionales de las enzimas (Gaudy y Gaudy, 1981)	Se usa en la industria alimenticia y farmacéutica, como desinfectante del agua potable solo o en combinación con plata (Gaudy y Gaudy, 1981; Pedahzur <i>et al.</i> , 1995 y 1997)
	Ozono	En medio acuoso genera radicales libres que afectan la permeabilidad, actividad enzimática y el ADN de las células bacterianas, especialmente ataca las bases timina y guanidina. En virus daña el ácido nucleico y la capa proteínica de la cápsida (Bitton, 1994)	Tratamiento de aguas tanto potable como residual (Gaudy y Gaudy, 1981; Bitton, 1994)
Metales pesados	Plata	Forma complejos con grupos funcionales, en altas concentraciones funciona como coagulante de las proteínas (Gaudy y Gaudy, 1981; Dantz, 1999) En bajas concentraciones se combina con el grupo -SH de las enzimas de la superficie de las células inactivándolas e interfiere con la cadena respiratoria y el transporte electrónico, se une al ADN (Pedahzur <i>et al.</i> , 1995 y 1997; Davies y Etris, 1997; Dantz, 1999)	Ampliamente empleado como desinfectante de agua en piscinas, en la desinfección de agua potable, en medicina como antiséptico y en la fabricación de objetos de plástico (Gaudy y Gaudy, 1981; Dantz, 1999; Silver, 2003)
	Cobre	Puede formar complejos con las proteínas y las precipita (Gaudy y Gaudy, 1981) Ataca las enzimas respiratorias de las bacterias, se une a grupos -SH, carboxil y aminas. Facilita la hidrólisis o reacciones de desplazamiento nucleofílico en las cadenas péptidas o en los ácidos nucleicos. Puede unirse a los grupos fosfato por lo tanto abre la doble hélice (Dantz, 1999)	Se usa como alguicida en albercas y almacenamientos de agua (Gaudy y Gaudy, 1981; Dantz, 1999)
Radiaciones	Radiación U.V.	En las bacterias daña el ADN, al provocar la dimerización de la timina la cual bloquea la replicación del ADN. En los virus daña el genoma viral seguido por daño estructural de la cápsida (Bitton, 1994)	Principalmente en sistemas de potabilización de agua. En Europa se encuentra difundido su uso en los sistemas de tratamiento de aguas residuales (Bitton, 1994)

### 3.2.2.1 Factores que afectan la desinfección

Se conoce una gran variedad de factores que influyen en la eficiencia de la eliminación microbiana durante la desinfección de aguas residuales. Estos factores incluyen, el tipo de microorganismos a eliminar, tipo de desinfectante, calidad del agua (contenido de materia particulada), temperatura, pH y consideraciones de ingeniería, como son diseño del reactor, mezclado y condiciones hidráulicas (Maskew *et al.*, 1971; Gaudy y Gaudy, 1981; Sobsey, 1989). Los principales factores que afectan la velocidad y efectividad de un desinfectante son:

a) *La naturaleza de los organismos a eliminar, su concentración, distribución y condición en el agua a ser desinfectada*

El estado fisiológico de los microorganismos afecta profundamente su respuesta a la desinfección. Los antecedentes del crecimiento de los microorganismos pueden influir en la sensibilidad hacia el desinfectante. Las bacterias en la fase de crecimiento exponencial, por tener un metabolismo intenso son más vulnerables que las bacterias que se encuentran en la fase de crecimiento estacionario, ya que, al tener una menor actividad metabólica son menos susceptibles a los desinfectantes que actúan a este nivel. Algunas bacterias no esporuladas son menos resistentes a la desinfección que las bacterias esporuladas. *Escherichia coli* es más resistente que otras bacterias patógenas. Los quistes y los virus son muy resistentes. En general el orden de sensibilidad es:

Bacterias vegetativas > virus > esporas de bacterias > bacterias acidófilas y quistes de protozoarios (Bitton, 1994).

b) *La naturaleza, distribución y concentración del desinfectante y sus subproductos de reacción en el agua a ser desinfectada*

La actividad de los desinfectantes se ve profundamente afectada por cambios pequeños en su concentración (Bloomfield, 1991), estado de oxidación o cambios en su estructura química.

c) *La naturaleza y condición del agua a ser desinfectada*

El contenido de materia orgánica suspendida en el agua, el pH o sustancias que puedan reaccionar con el desinfectante como compuestos inorgánicos en forma de iones, compuestos nitrogenados orgánicos e inorgánicos, Fe, Mn y sulfuro de hidrógeno, puede dar lugar a una disminución de su eficiencia (Bitton, 1994; Cardot, 1999). Se ha observado que el efecto protector de las partículas suspendidas hacia los microorganismos, depende de la naturaleza y tamaño de las mismas.

d) *El tiempo de exposición o contacto*

Es la variable más importante en el proceso de desinfección ya que entre mayor tiempo de contacto el agente desinfectante tiene mayor oportunidad de realizar su función. No obstante, se tiende a usar el mínimo requerido debido a que abarata el proceso.

e) *La temperatura*

La temperatura influye directamente en la desinfección ya que afecta la ionización de los desinfectantes en el medio acuoso. Un aumento en la temperatura es un aumento en la



velocidad de mortalidad de los microorganismos. Así, una cantidad pequeña del agente químico a una temperatura elevada logrará el mismo resultado que una cantidad mayor del mismo agente a temperatura más baja (Gaudy y Gaudy, 1981; Sobsey, 1989).

*f) Diseño del reactor, mezclado y otras condiciones hidráulicas*

Este tipo de variables son muy importantes ya que tienen un efecto considerable en la eficiencia desinfectante, especialmente cuando el desinfectante se pierde rápidamente, es consumido o forma productos solubles o insolubles con un poder menor de desinfección. Se han reportado diferencias en las cinéticas de desinfección cuando se utilizan reactores de flujo pistón (tubulares) y reactores completamente mezclados por lotes (Sobsey, 1989).

### 3.3 Modelos cinéticos de desinfección química

Fue originalmente establecido por Chick, que la inactivación de patógenos por medio de un desinfectante se incrementa con el tiempo e idealmente es similar a la de una reacción química de cinética de primer orden, donde la rapidez de reacción depende de las concentraciones relativas de microorganismos y desinfectante (Bitton, 1994; Pernitsky *et al.*, 1995; Cardot, 1999; Hassen *et al.*, 2000). Chick y Watson establecieron un modelo matemático que cuantifica la cantidad de microorganismos sobrevivientes  $N_t$ , a un tiempo  $t$ , en presencia de una concentración  $C$  de un desinfectante, matemáticamente lo expresan como:

$$dN/dt = -k^*N$$

en ella  $k^*$  es la rapidez de reacción de pseudo primer orden igual al producto  $kC^n$ . Al integrar entre una concentración inicial de microorganismos  $N_0$  y una concentración en el tiempo  $N_t$ , un tiempo  $t$  y un tiempo  $t_0$  se obtiene la siguiente relación conocida como Ley de Chick-Watson:

$$\ln N_t/N_0 = -kC^n t$$

- Donde:  $N_0$  = Microorganismos al tiempo  $t = 0$  inicio de la prueba.  
 $N_t$  = Microorganismos sobrevivientes al tiempo de contacto “ $t$ ”.  
 $-k$  = Coeficiente específico de letalidad (caracteriza la sensibilidad de un microorganismo en presencia del desinfectante de estudio).  
 $n$  = Coeficiente de dilución, que es función de la calidad del agua. Representa el número promedio de moléculas de desinfectante que se combinan con el microorganismo y son necesarias para inactivarlo.  
 $C$  = Concentración remanente de desinfectante.  
 $t$  = Tiempo de contacto.

El producto  $C^n t$  caracteriza la eficacia de un desinfectante en función de un tiempo de contacto, es constante para un microorganismo en específico y las condiciones bajo las cuales se llevó a cabo la desinfección. En ese producto el valor del parámetro “ $n$ ” tiene gran importancia. Valores de “ $n$ ” menores a la unidad indican que el tiempo de contacto es más importante que la dosis de desinfectante. Si “ $n$ ” es igual a la unidad, el tiempo de contacto y la concentración tienen la misma importancia y por último, si “ $n$ ” es mayor a la unidad la concentración de desinfectante es más importante que el tiempo de contacto (Gyürék y Finch, 1998).

Gráficamente la acción bactericida se puede representar mediante el uso de curvas de tiempo –sobrevivencia. Usualmente se grafica el logaritmo de las células vivas en función del tiempo (Bloomfield, 1991). La curva de eliminación normal es del tipo sigmoidal y tiene tres fases principales que son:

- a) *Una fase inicial lag*, la cual está en función de la velocidad de penetración del desinfectante en las células. Es también consistente con la idea de que la resistencia bacteriana no es constante en una población, pero se distribuye cerca de un valor promedio de tal manera que algunas células mueren más rápidamente o menos rápidamente que el promedio. La fase lag también es atribuible a un mezclado inadecuado del desinfectante con el agua a desinfectar.
- b) *Una fase lineal*, en la cual la velocidad de inactivación sigue una relación exponencial y es consistente con una reacción de primer orden, según lo descrito por Chick y Watson.
- c) *Un efecto de decrecimiento*, el cual representa la muerte de las células residuales por encima de la resistencia promedio entre la población o para aquellas en las cuales el acceso del desinfectante fue lento. También es atribuible a diferentes cepas y la presencia de subpoblaciones con resistencia variable hacia el desinfectante o resistencia distribuida en una población.

La curva de tiempo- sobrevivencia obtenida puede o no contener las tres fases descritas anteriormente lo que da origen a la existencia de cuatro cinéticas de inactivación las cuales se presentan esquemáticamente en la Figura 3.1. La curva A representa la típica curva de inactivación tipo exponencial con cinética de primer orden (fase lineal). La curva B presenta una fase lag seguida de una fase exponencial (combinación de fase lag y lineal). La curva C presenta una fase lag seguida de una fase de decrecimiento y la curva D ilustra el comportamiento de decrecimiento en el cual la rápida inactivación inicial es seguida por una disminución en la rapidez de eliminación (Gyürék y Finch, 1998).

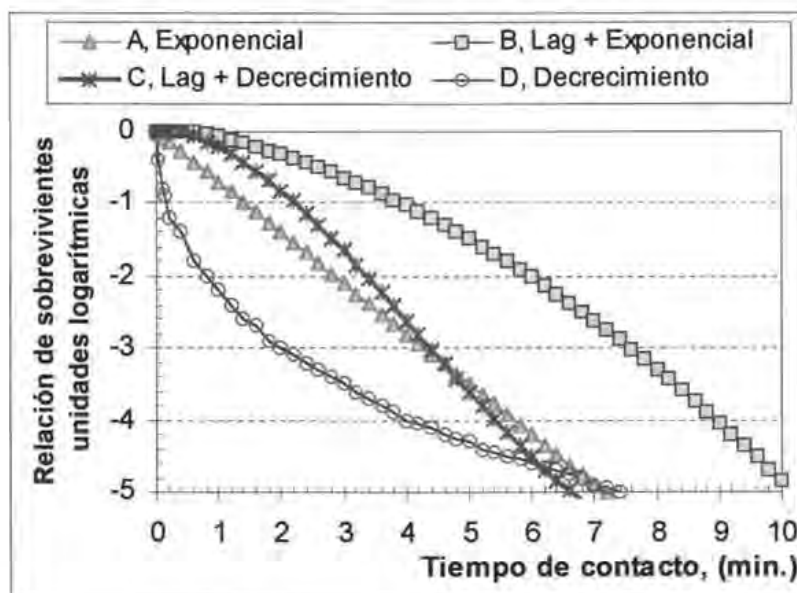


FIGURA 3. 1. Curvas típicas de sobrevivencia microbiana (Modificado de Gyürék y Finch, 1998).

Gráficamente la acción bactericida se puede representar mediante el uso de curvas de tiempo –sobrevivencia. Usualmente se grafica el logaritmo de las células vivas en función del tiempo (Bloomfield, 1991). La curva de eliminación normal es del tipo sigmoidal y tiene tres fases principales que son:

- Una fase inicial lag*, la cual está en función de la velocidad de penetración del desinfectante en las células. Es también consistente con la idea de que la resistencia bacteriana no es constante en una población, pero se distribuye cerca de un valor promedio de tal manera que algunas células mueren más rápidamente o menos rápidamente que el promedio. La fase lag también es atribuible a un mezclado inadecuado del desinfectante con el agua a desinfectar.
- Una fase lineal*, en la cual la velocidad de inactivación sigue una relación exponencial y es consistente con una reacción de primer orden, según lo descrito por Chick y Watson.
- Un efecto de decrecimiento*, el cual representa la muerte de las células residuales por encima de la resistencia promedio entre la población o para aquellas en las cuales el acceso del desinfectante fue lento. También es atribuible a diferentes cepas y la presencia de subpoblaciones con resistencia variable hacia el desinfectante o resistencia distribuida en una población.

La curva de tiempo- sobrevivencia obtenida puede o no contener las tres fases descritas anteriormente lo que da origen a la existencia de cuatro cinéticas de inactivación las cuales se presentan esquemáticamente en la Figura 3.1. La curva A representa la típica curva de inactivación tipo exponencial con cinética de primer orden (fase lineal). La curva B presenta una fase lag seguida de una fase exponencial (combinación de fase lag y lineal). La curva C presenta una fase lag seguida de una fase de decrecimiento y la curva D ilustra el comportamiento de decrecimiento en el cual la rápida inactivación inicial es seguida por una disminución en la rapidez de eliminación (Gyürék y Finch, 1998).

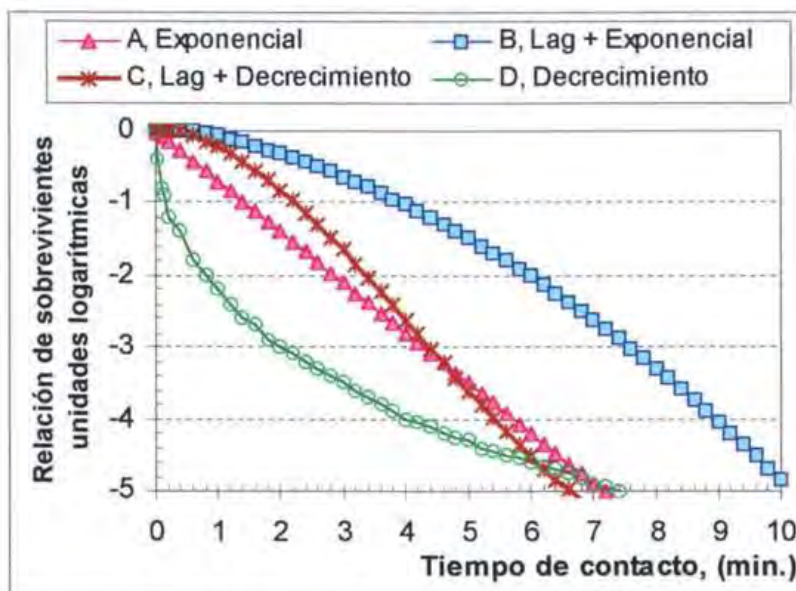


FIGURA 3. 1. Curvas típicas de sobrevivencia microbiana (Modificado de Gyürék y Finch, 1998).



Con base en la ecuación propuesta por Chick-Watson se desarrollaron nuevos modelos que se adecuaron a los cuatro tipos de cinéticas descritas. Estos modelos se presentan en la Tabla 3.6.

TABLA 3.6. MODELOS CINÉTICOS DE INACTIVACIÓN PARA DESINFECTANTES EN CONDICIONES DE LIBRE DEMANDA

Modelo	Relación de sobrevivientes (unidades logarítmicas)	*OBSERVACIONES
Chick-Watson	$-kC^n t$	Cinética de primer orden cuando $n=1$ , propuesta por Chick y Watson (1908)
Hom	$-kC^n t^m$	Generalización de la ley de Chick-Watson toma en cuenta las diferentes fases de las curvas de sobrevivencia (1972). Función no lineal de C y T. Puede ajustarse a las curvas A, B, C y D. Si $m>1$ , la curva presenta una fase lag inicial, aumentando k con el tiempo. Si $m<1$ , la curva presenta un efecto de decrecimiento, disminuyendo k con el tiempo
Racional	$-\frac{\log[1 + N_0^{x-1}(x-1)kC^n t]}{(x-1)}$	Puede describir el fenómeno de la fase lag para $x<1$ y de decrecimiento para $x>1$ (curva tipo C) (1973)
Ley de poder de Hom	$-\frac{\log[1 + N_0^{x-1}(x-1)kC^n t^m]}{(x-1)}$	Provee un mejor ajuste que los modelos anteriores para las curvas de sobrevivencia del tipo C (1996)
Selleck	$-n \log \left[ 1 + \frac{Ct}{k} \right]$	Modelo empírico, describe curvas de sobrevivencia que se observan con frecuencia durante la cloración del agua residual (curva tipo C). Los valores de k y n están relacionados con la razón de las dosis de cloro y nitrógeno empleados en la prueba propuesta por Selleck (1978)
Múltiples objetivos	$\log \left[ 1 - \left( 1 - e^{-kCt} \right)^{n_c} \right]$	Modelo estadístico, no adecuado para describir la cinética de inactivación microbiana. Propone que cada microorganismo tiene un total de $n_c$ objetivos críticos todos idénticos, los cuales deben ser tocados una sola vez para inactivarlo (1953)
Serie de eventos	$-\frac{kCt + \ln \left[ \sum_{K=0}^{l-1} \frac{(kCt)^K}{K!} \right]}{\ln(10)}$	Modelo complicado donde se idealiza el daño que ocasiona el desinfectante a los microorganismos, suponiendo una serie de reacciones sucesivas que logran inactivar a los mismos. Aquí "l" es el número de reacciones letales para inactivar un microorganismo o eventos letales y K es la velocidad de destrucción de algún sitio en el mismo (1975)
Múltiples series de eventos	$\log \left[ 1 - \left( 1 - e^{-kCt} \sum_{K=0}^{l-1} \frac{(kCt)^K}{K!} \right) \right]$	Basado en el modelo de serie de eventos donde supone una serie de reacciones de primer orden con respecto a la concentración por lo que se requieren "l" eventos letales para inactivar a un organismo (1984)

Donde: "n", "m" y "x" = parámetros del modelo, C= concentración remanente de desinfectante,

$N_0$ = microorganismos al tiempo T=0, T= tiempo de contacto, k= coeficiente específico de letalidad.

(\*Modificado de Gyürék y Finch, 1998).



### 3.4 Organismos indicadores de la calidad del agua

Un organismo indicador es aquel cuya presencia hace suponer que ha ocurrido contaminación, sugiere la naturaleza y el grado de contaminación, por lo tanto puede indicar la presencia potencial de organismos patógenos (Dutka, 1979; Peavy *et al.*, 1985). Las principales características que debe poseer un microorganismo para ser considerado un organismo indicador se enumeran a continuación (Peavy *et al.*, 1985; Bitton, 1994):

- a) Ser aplicable a todo tipo de aguas.
- b) Siempre estar presente cuando se encuentra presente un organismo patógeno.
- c) Estar ausente cuando un organismo patógeno se encuentra ausente.
- d) Ser fácilmente cuantificable y detectable, por métodos rápidos fáciles y baratos, sin interferir o minimizar la presencia de resultados confusos por causa de organismos extraños.
- e) No debe ser patógeno.
- f) Debe ser un miembro de la microbiota intestinal de los animales de "sangre caliente".
- g) Debe estar presente en mayor número que los organismos patógenos.
- h) Debe ser igualmente resistente que los organismos patógenos a los cambios ambientales y a la desinfección.
- i) No se debe reproducir en el medio ambiente.

#### 3.4.1 *Escherichia coli* como organismo indicador

Debido a que los organismos patógenos presentes en las aguas residuales y contaminadas son difíciles de identificar y aislar, los organismos del grupo de los coliformes, han sido recomendados como indicadores para la evaluación microbiológica de la calidad del agua (APHA, 1997; Metcalf y Eddy, 1996). Las bacterias coliformes incluyen una gran variedad de organismos, como los géneros *Escherichia*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Proteus* y *Aerobacter*, este último no siempre asociado al intestino (Neidhardt, 1996; Madigan *et al.*, 1999). En el caso particular de *Escherichia coli*, esta bacteria ha sido considerada una buena opción para las pruebas de desinfección ya que tiene la capacidad de responder a muchas variables, se encuentra presente en el agua residual, es similar a microorganismos patógenos e incluye una gran variedad de cepas mutantes no patógenas (Arana *et al.*, 2000).

#### 3.4.2 Principales características de *E. coli*

*Escherichia coli* pertenece a la familia *Enterobacteriaceae*, la que comprende bacterias Gram negativas, que pueden crecer rápidamente tanto en ambientes aerobios como anaerobios -por metabolismo respiratorio en presencia de oxígeno y por fermentación en ausencia de oxígeno- (Neidhardt, 1996). *E. coli* es parte de la microbiota intestinal normal tanto de seres humanos, como de animales. En cultivos forman colonias redondas, convexas y lisas, con bordes definidos. Sus principales características bioquímicas y morfológicas son: oxidasa negativa, catalasa positiva, positiva al rojo de metilo, utiliza la glucosa con producción de ácido y gas, fermenta a la lactosa, no halófilo, no esporulado, capaz de reducir los nitratos a nitritos, son bacilos cortos que miden de 1.1 a 1.5  $\mu\text{m}$  de ancho y de 2 a 6  $\mu\text{m}$  de largo, de extremos redondeados, usualmente móvil por medio de flagelos (peritricos). Su temperatura óptima de incubación es de 37 °C (Holt, 1994). Las cepas silvestres de *E. coli* casi nunca muestran requerimientos de ningún factor nutritivo y

pueden crecer a partir de una gran variedad de fuentes de carbono y de energía, como azúcares, aminoácidos y ácidos orgánicos. Generalmente *E. coli* coloniza el tracto gastrointestinal de los infantes a las pocas horas de vida, con ventaja para ambos al desempeñar una función nutricional mediante la síntesis de vitaminas, especialmente la vitamina K (Madigan *et al.*, 1999). Por lo general permanece inocua, pero en personas debilitadas o inmunosuprimidas, o cuando las barreras gastrointestinales son violadas, aún cepas no patógenas de *E. coli*, pueden causar infecciones. Existen cepas patógenas, las cuales se pueden localizar en superficies mucosas o diseminadas a través del cuerpo humano. Tres síndromes clínicos resultan de la infección con cepas de *E. coli* patógenas y son: a) infecciones del tracto urinario, b) sepsis o meningitis, y c) enfermedades diarreicas especialmente en niños pequeños. Se reconocen como de mayor importancia clínica las cepas de *E. coli* enteroagregativa, enteropatógena y enterohemorrágica, dentro de esta última la cepa O157:H7 es de especial interés debido a su alta patogenicidad. Estas cepas forman el antígeno K, que permite la adherencia y la colonización del intestino delgado, y una enterotoxina responsable de los síntomas de la diarrea (Nataro y Kaper, 1998).

### 3.4.3 Efecto de iones metálicos sobre *E. coli*

Es conocido que a altas concentraciones los iones metálicos forman compuestos inespecíficos con las células produciendo efectos tóxicos. Algunos cationes metálicos como  $\text{Ag}^+$ ,  $\text{Cd}^{2+}$  y  $\text{Hg}^{2+}$  forman complejos extremadamente tóxicos que son muy peligrosos para cualquier función biológica (Nies, 2004). Al ser *Escherichia coli* una de las bacterias más estudiadas a nivel mundial también lo ha sido el efecto que causan diferentes iones sobre su metabolismo. Se ha demostrado que los iones de plata inhiben la cadena respiratoria de *E. coli*, encontrándose el sitio más sensitivo entre los b- citocromos y el citocromo  $a_2$  (Bragg y Rainnie, 1974). Un sitio adicional de inhibición fue localizado entre el sitio de interacción con sustratos de la cadena respiratoria y las flavoproteínas. Además, inhabilitan la incorporación de fosfato inorgánico y cuando se adiciona a células que ya lo han incorporado provoca la liberación del fosfato acumulado, inhibiendo el intercambio de fosfato intracelular y extracelular (Schreurs y Rosenberg, 1982). Por otra parte, los iones Zinc inhiben casi completamente la actividad de incorporación de galactosa, leucina y otras sustancias por *E. coli* (Schreurs y Rosenberg, 1982). Los iones de Zinc no afectan la unión a proteínas específicas por lo que se cree que puede influir en el proceso de transporte activo relacionado con la obtención de energía (Kasahara y Anraku, 1972). En el caso de los iones Cobre, su toxicidad se basa en la producción de radicales hidróperóxido e interacción con la membrana celular. Nies (2004) ha reportado que la toxicidad del Zinc es similar a la toxicidad del Cobre, para ambos encontró que la concentración mínima inhibitoria (MIC) para *E. coli*, en un medio TMYG fue de 1 mM.

## 3.5 La plata como desinfectante

### 3.5.1 Propiedades fisicoquímicas de la plata

La plata es un metal blanco- grisáceo, con símbolo Ag, peso atómico 107.868 y número atómico 47. Representa el  $7.5 \times 10^{-6}$  % en peso de la corteza terrestre. Con punto de fusión de 962 °C, ebullición de 2212 °C y densidad específica de 10.5. Es más duro que el oro pero más suave que el cobre. La plata metálica presenta la mayor conductividad eléctrica y

térmica de todos los metales y es, después del oro, el más maleable y dúctil. Se conocen 27 isótopos de los cuales Ag 107 y Ag 109 no son radioactivos. Ambos isótopos se encuentran en la naturaleza con una abundancia de 51.82% y 48.18%, respectivamente. Químicamente no es muy activa. Es insoluble en ácidos diluidos y bases pero se disuelve en ácido nítrico o sulfúrico concentrado. No reacciona con el oxígeno o agua a temperatura ambiente. Los sulfuros la atacan ennegreciéndola. Casi siempre es monovalente en sus compuestos, pero se conocen óxidos, fluoruros y sulfuros divalentes. Algunos compuestos de coordinación de la plata contienen plata divalente y trivalente (Thompson, 1975; Silver, 2003).

### 3.5.1.1 Toxicidad de la plata

El agua tratada con compuestos de plata, no tiene ningún efecto nocivo sobre el organismo humano si se mantiene en concentraciones menores a 0.05 mg/L. Tampoco afecta el sabor ni el olor del agua siendo bien aceptada para su consumo (ATSDR, 1999). La plata es poco tóxica para los animales vertebrados cuando se encuentra en concentraciones menores de 50 µg/L, es eliminada rápidamente cuando es ingerida oralmente. La plata se combina con las proteínas del plasma y es removida por el hígado. Alrededor del 90% es eliminada por la bilis, en las heces y una pequeña cantidad en la orina. La que no es excretada se deposita como gránulos de sales de plata insolubles en la piel, mucosas, ojos, hígado, páncreas, riñón, cerebro, medula espinal, paredes de los vasos sanguíneos, tiroides y bazo, provocando argiria, único padecimiento que se conoce ocasionado por la plata a los seres humanos. Se diagnostica por la apariencia gris de la piel y los ojos, la coloración plateada de las uñas de los dedos, un halo azul alrededor de la cornea y la conjuntiva de los ojos, disturbios en la adaptación a la oscuridad y turbiedad en la cápsula del lente interior del ojo. Es por ello que la Organización Mundial de la Salud (OMS) propone como límite permitido en agua para consumo humano la concentración 0.1 mg/L.

### 3.5.2 Historia del uso de la plata

La plata probablemente fue el tercer metal descubierto por la humanidad. Es por ello que desde hace más de 4,000 años fue empleada sin saberlo como un germicida natural. Culturas tan antiguas como la Persa en Asia, los Egipcios en África y los Aztecas en América, observaron que al guardar diversos líquidos en vasijas de plata se mantenían sin descomposición por más tiempo (Davies y Etris, 1997). En años posteriores su uso se extendió a la medicina como emplastes y para 1884 se inició la aplicación de gotas de nitrato de plata a los ojos de los recién nacidos como medida profiláctica. Pero no fue hasta 1893 que C. von Nageli realizó la primera investigación sistemática sobre los efectos letales de los metales en las bacterias denominándolo efecto oligodinámico. Se tiene informes de que se necesitan tan solo de 40 a 200 µg/L para desinfectar agua potable contaminada con bacterias no esporuladas y no ocurre crecimiento de bacterias esporuladas como *B. subtilis* en agua conteniendo 50,000 µg/L de plata. Agua potable conteniendo 250 µg/L de plata muestra una gran actividad oligodinámica sobre varias bacterias Gram positivas y Gram negativas y su actividad continúa por varios meses sin adicionar cantidades posteriores de plata (Thompson, 1975). El uso de la plata como desinfectante no solamente se ha restringido a la parte médica, en cremas conteniendo sulfadiazina de plata, nylon cubierto con nanopartículas de plata (vendas) o catéteres (Melaiye y Youngs, 2005; Tobler y Warner, 2005), también, se han realizado estudios de su uso en la agricultura como fungicida de semillas y desinfectante de suelos, pero se debe tener mucho cuidado de este



tipo de aplicaciones ya que se puede presentar daño en las plantas (Thompson, 1975). En la purificación de agua para consumo humano, su uso no se ha limitado a las casas habitación donde se emplea en filtros de carbón activado recubiertos con plata y resinas de intercambio iónico, también, se ha utilizado para desinfectar el agua reciclada en la estación espacial MIR y en la nave espacial Shuttle. En la industria se ha empleado como parte de la formulación de cosméticos para preservarlos, o se mezcla con polímeros para elaborar teléfonos, calculadoras, asientos de excusados y juguetes de plásticos (Silver, 2003). En combinación con  $H_2O_2$  se ha propuesto como desinfectante de agua potable (Pedahzur *et al.*, 1995 y 1997). Generada electrolíticamente con cobre ha eliminado a la bacteria *Legionella* spp. presente en los sistemas de agua caliente de los hospitales (Blanc *et al.*, 2005) y en combinación con cantidades reducidas de cloro se emplea para desinfectar el agua de las albercas (Cassells *et al.*, 1995). En combinación con radiación U.V. aumenta la inactivación de colifagos MS-2 (Butkus *et al.*, 2004). La plata iónicamente unida a zeolitas, se presenta como un material con propiedades bactericidas (Rivera-Garza *et al.*, 2000) y como parte de la formulación de pinturas (Little, 2004).

### 3.5.3 Mecanismo de desinfección con plata

El mecanismo de desinfección de la plata ha sido ampliamente estudiado, la acción de la plata es a través de la liberación de iones plata. Davies y Etris (1997) plantean que la plata reacciona con los microorganismos ya sea por uno o por los tres mecanismos siguientes:

#### a) *Inactivación de los microorganismos por oxidación catalizada por la plata*

La plata tiene la propiedad de adsorber en su superficie oxígeno molecular del aire como oxígeno atómico, el cual se introduce en los huecos de la estructura octaédrica de la plata. La plata ofrece poca repulsión al oxígeno por lo que solamente una pequeña cantidad de energía térmica es requerida para rápidamente mover el oxígeno atómico a través de su estructura cristalina. Cuando la plata es puesta en medio acuoso, este oxígeno acumulado, contribuye en gran manera en el poder oxidativo de la plata ya que al entrar en contacto con la materia orgánica instantáneamente la oxida. La desinfección ocurre, cuando el oxígeno se une a los pares de grupos sulfhidrilo -SH de la superficie de las bacterias o virus, reemplazando a los átomos de hidrógeno (como agua) y resultando en la unión de los átomos de azufre formando enlaces R-S-S-R, lo cual bloquea completamente la respiración y la transferencia electrónica. Provocando citólisis y consecuentemente la muerte.

#### b) *Inactivación de bacterias y virus por la plata monovalente*

Los iones plata actúan como venenos protoplasmáticos al combinarse con las proteínas de las células. La plata monovalente interrumpe la transferencia electrónica en las bacterias y previene el desdoblamiento del ADN en los virus y bacterias al unirse a las bases ribosas y grupos fosfatos, sustituyendo a los iones hidrógeno. Los grupos S-Ag formados son muy estables e inhiben la transferencia de hidrógeno, su sistema de transferencia de energía.

#### c) *Inactivación de bacterias y virus por la plata bivalente y trivalente*

Estudios recientes han demostrado que el óxido de plata posee propiedades desinfectantes mayores que la plata obtenida electrolíticamente (Escape, 1999). La molécula de óxido de plata esta formada por cuatro átomos de plata y cuatro átomos de oxígeno ( $Ag_4O_4$ ). El átomo de plata presenta en esta configuración dos cargas diferentes, el estado de oxidación



uno y el inusual estado de oxidación tres, por lo que se le conoce como óxido de plata polivalente. Los iones de plata del óxido de plata son tres veces más poderosos en la eliminación de patógenos que los iones de plata obtenidos electrolíticamente. En concentraciones de 1 mg/L, los iones de plata del óxido de plata eliminan el 100% de las bacterias en 30 segundos en comparación con las usuales dos horas requeridas por los iones de plata obtenidos electrolíticamente (Etris, 1997).

### 3.5.4 Factores que afectan la capacidad de desinfección de las aguas residuales por la plata

Como se mencionó en la sección 3.2.3, la desinfección se ve afectada en gran medida por la calidad del agua a la cual se aplicará el tratamiento de desinfección. Factores como la turbidez o partículas suspendidas, materia orgánica disuelta, constituyentes inorgánicos, pH y la temperatura, son los principales puntos a considerar que pueden disminuir la capacidad de desinfección (Sobsey, 1989).

#### a) Turbidez

Las partículas suspendidas sirven de protección para los microorganismos especialmente si los microorganismos están embebidos en ellas, adsorbidos o colonizando las partículas. Además, algunas partículas pueden reaccionar y consumir la plata antes de que pueda atacar a los microorganismos.

#### b) Materia orgánica disuelta

La materia orgánica disuelta, aminoácidos y proteínas forman complejos con la plata antes de que pueda reaccionar con los microorganismos, resultando en la formación de subproductos conocidos como proteinatos de plata. Estos complejos no poseen capacidad desinfectante y reducen la cantidad de plata disponible que puede reaccionar con las bacterias (Starodub y Trevors, 1990; Wang *et al.*, 2003)



#### c) Compuestos inorgánicos y iones

Algunos compuestos inorgánicos y iones tienen gran influencia sobre la actividad de ciertos desinfectantes. En particular, los iones de Ca, Mn, Fe, amonio, nitrato, sulfato, fosfatos y cloruros interfieren con la inactivación microbiana (Sobsey, 1989; Wang *et al.*, 2003). Para el caso particular de la plata las principales reacciones que pueden ocurrir cuando se pone en contacto con los constituyentes de las aguas residuales parcialmente tratadas se presentan en la Tabla 3.7.

En el caso de los iones halógeno, el ión cloro en concentraciones moderadas, tiene la capacidad de remover la plata unida a la superficie de las células bacterianas, precipitándola como AgCl. En altas concentraciones forma el anión  $\text{AgCl}_2^-$ , incrementando la sensibilidad de las bacterias hacia la plata iónica. El ión bromo tiene efectos similares al ión cloro, aunque en concentraciones menores. Por último el ión yodo remueve la plata iónica formando un precipitado no biodisponible. Los precipitados de plata formados pueden disolverse a altas concentraciones del halógeno, formando complejos aniónicos solubles en agua del tipo  $\text{AgX}_2^-$  y  $\text{AgX}_3^{2-}$  con estabilidades relativas  $\text{I}^- > \text{Br}^- > \text{Cl}^-$ . Los cuales al presentar mayor biodisponibilidad incrementa la toxicidad de la Ag iónica (Silver, 2003).

TABLA 3.7. PRINCIPALES REACCIONES DE LA PLATA CON CONSTITUYENTES DE LAS AGUAS RESIDUALES (Tomado de Lurie, 1978)

REACCIÓN	E° V	pkc	pks
$\text{AgNH}_3 \leftarrow \text{Ag}^+ + \text{NH}_3$	0.373	3.32	
$\text{Ag}^+ + 2\text{NH}_3 \leftarrow \text{Ag}(\text{NH}_3)_2^+$		7.24	
$\text{Ag}(\text{NH}_3)_2^+ + \text{e}^- \leftarrow \text{Ag} \downarrow + 2\text{NH}_3$			
$\text{AgNO}_2 \leftarrow \text{Ag}^+ + \text{NO}_2^-$	0.59	1.88	3.80
$\text{AgNO}_2 \downarrow + \text{e}^- \leftarrow \text{Ag} \downarrow + \text{NO}_2^-$		2.83	
$\text{AgNO}_3 \leftarrow \text{Ag}^+ + \text{NO}_3^-$		-0.29	
$\text{Ag}_3\text{PO}_4 \downarrow \leftarrow 3\text{Ag}^+ + \text{PO}_4^{3-}$			19.89
$\text{AgCl} \leftarrow \text{Ag}^+ + \text{Cl}^-$	0.224	2.9	9.75
$\text{AgCl} \downarrow + \text{e}^- \leftarrow \text{Ag} \downarrow + \text{Cl}^-$		4.7, 5.0, 5.9	

#### d) pH

Es conocido que la inactivación microbiana se ve influida por el pH, ya que de este dependerá el estado en el que el desinfectante se encuentre así como su disponibilidad. En el caso particular de la plata ha sido poco estudiado. Como se puede observar en el diagrama de Pourbaix, Figura 3.2, el pH y el potencial determinan el estado de oxidación en el cual se encuentra la plata y por lo tanto su capacidad desinfectante.

#### e) Temperatura

En general la temperatura incrementa la capacidad de desinfección de los diferentes desinfectantes, en el caso particular de la plata este punto no se ha estudiado para agua residual. En el caso de agua potable Woodward (1963) reporta que al aumentar 10 °C la temperatura, el tiempo de contacto disminuye por un factor de 1.6.

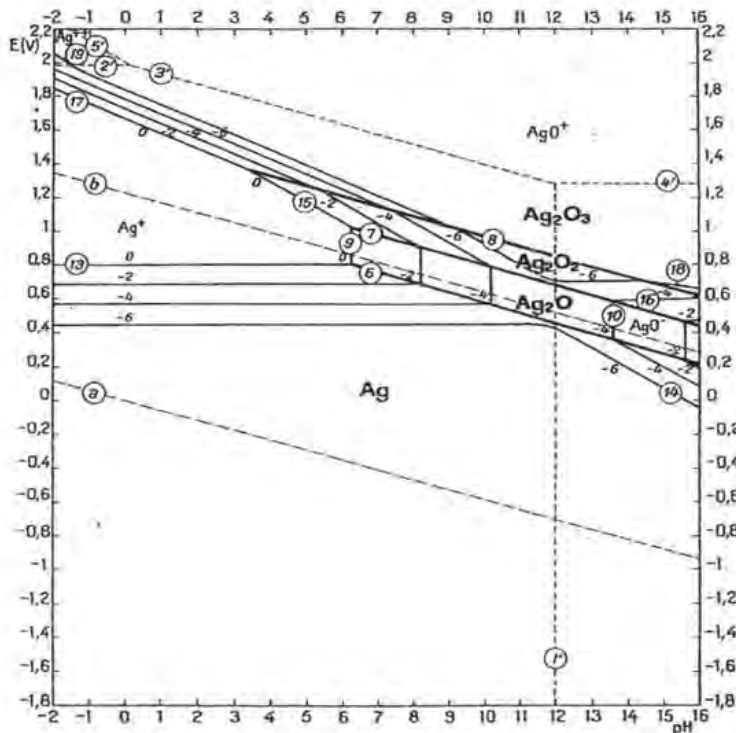


FIGURA 3.2. Diagrama de Pourbaix o diagrama potencial -pH de la plata (Pourbaix, 1963).

### 3.6 Geología de la plata en México

En la República Mexicana se han desarrollado complejos procesos geológicos que han ocasionado un relieve irregular y una gran variedad de tipo de rocas, estructuras y formaciones geológicas de interés económico, que surgieron como resultado de la acción de fenómenos volcánicos y tectónicos ocurridos a lo largo del tiempo geológico. Las grandes vetas de minerales preciosos de municipios como Pachuca, Guanajuato, Ixtlán de Juárez, Taxco y Zacatecas, tienen sus orígenes en las manifestaciones ígneas de la era Cenozoica. La mayoría de estos yacimientos está asociado con formaciones de rocas metamórficas, pero deben su origen principalmente a rocas intrusivas (INEGI, 2002a). En el caso particular de Zacatecas, mayor productor de plata del país, se pueden encontrar rocas del tipo ígneas, sedimentarias y metamórficas, cuyas edades de formación abarcan desde el triásico hasta el reciente. Las más antiguas son rocas metamórficas de bajo grado como filitas, pizarras y esquistos. Sin embargo, las de mayor distribución territorial son las rocas ígneas del Terciario como andesitas, tobas, riolitas y basaltos, que afloran en la mayor parte de la Sierra Madre Occidental y en algunas áreas de otras provincias geológicas que abarca el estado. Las rocas ígneas cenozoicas presentan estructuras del tipo de aparatos volcánicos y coladas de lava y, en forma de cuerpos intrusivos que afectan a las rocas preexistentes. Estos cuerpos intrusivos han contribuido al fenómeno de mineralización de los diferentes distritos mineros de Zacatecas (INEGI, 2002b).

La plata nativa raramente es de origen primario, por lo general es de origen secundario y se localiza en las porciones superiores de las vetas que contienen plata, asociada con otros minerales de plata como resultado de su reducción química (Dana y Ford, 1984; Greenwood y Earnshaw, 1984). La plata secundaria se forma a partir de la acción de los vapores de agua caliente o del oxígeno sobre sulfuros de plata, o por la acción de sulfuros metálicos o arseniuros sobre el cloruro de plata. Ocurre en masas, o en figuras arborescentes y filiformes, en vetas que más comúnmente atraviesan neís u otras rocas metamórficas cristalinas, pero también se encuentra asociada con rocas eruptivas y a veces en rocas sedimentarias. Frecuentemente ocurre diseminada, por lo general invisible en varios sulfuros metálicos. De los sulfuros de plata la argentita  $Ag_2S$  es el más importante. Está asociado con otros minerales de plata y también con galena, tetraedrita, calcopirita, bornita, pirita, menas de cobalto y níquel, limonita, calcita y cuarzo (Dana y Ford, 1984).

### 3.7 La minería de la plata en México

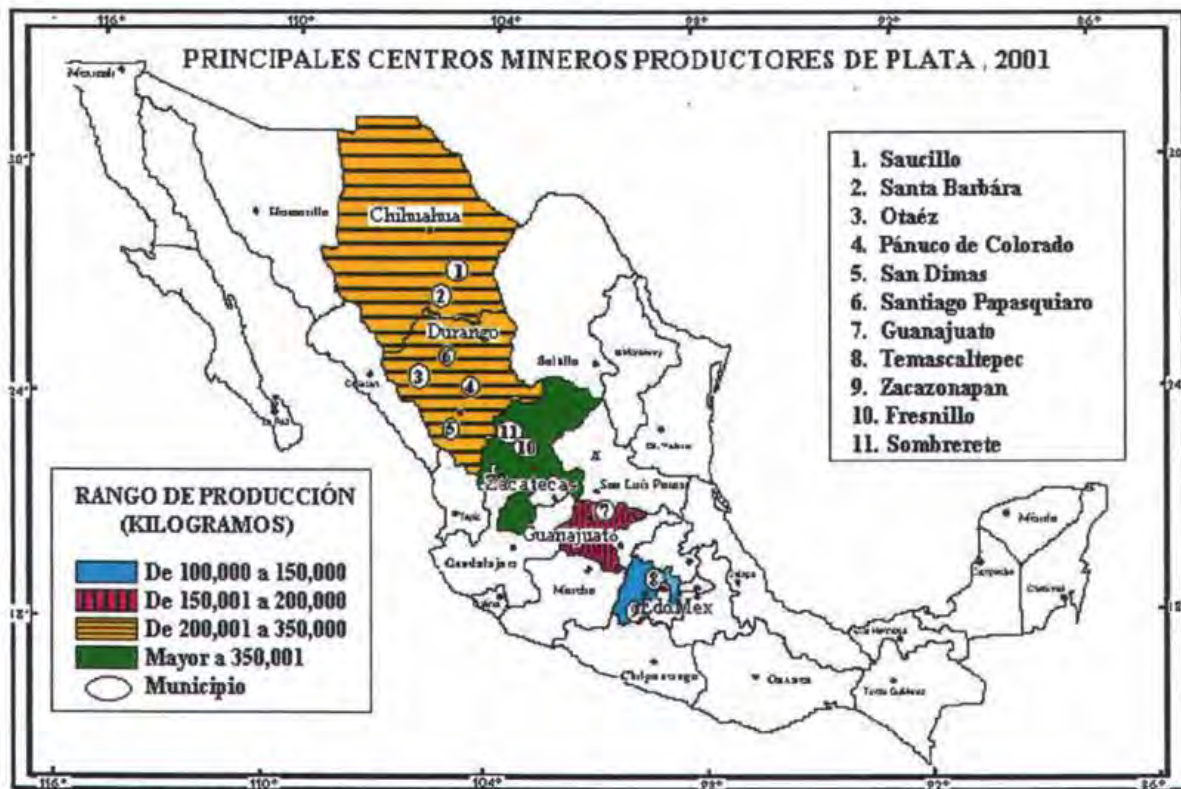
En el país existen al menos 1,350,000 km<sup>2</sup> susceptibles de contener yacimientos minerales, de los cuales solamente se ocupan 232,000 km<sup>2</sup> correspondientes a 21,532 concesiones de exploración y explotación minera (SIREM, 2001).

México es uno de los países latinoamericanos que se encuentra localizado en una región volcánica rica en minerales (INEGI, 2002b). La tradición minera se remonta a la época prehispánica en las zonas de Taxco, Pachuca, Guanajuato y Querétaro, pero fue hasta la época colonial cuando la minería adquiere una gran relevancia económica y social. El descubrimiento más importante de vetas de plata ocurrió en 1546 por el capitán Juan de Tolosa en el cerro de la Bufa, Zacatecas (Flores *et al.*, 1999).



Los yacimientos de plata de México se localizan a lo largo de la Sierra Madre Occidental desde Sonora hasta Tehuantepec, así como en la parte norte de la altiplanicie Mexicana en los estados de Chihuahua, Coahuila y Durango y en la parte central en las Sierras de Zacatecas, Guanajuato, Pachuca y Querétaro. El mineral en su estado nativo se encuentra principalmente en Batopilas Chihuahua, Guanajuato, Sonora, Durango y Zacatecas (Dana y Ford, 1984). En el caso particular de Zacatecas se localizan más de 15 distritos mineros y zonas mineralizadas potencialmente explotables, sobre la franja conocida como “Zona de la plata”.

A nivel mundial, México es el primer productor de plata en el mundo. La producción en octubre del 2002 ascendió a 245,894 Kg. (INEGI, 2002). De los cuales el 86.1% se extrae en 6 estados que son: Zacatecas, Chihuahua, Durango, Guanajuato, el Estado de México y Sonora, mientras que el restante 13.9% se obtiene de los estados de Guerrero, Coahuila, Hidalgo, Jalisco, Oaxaca, Querétaro, San Luis Potosí y Sinaloa. En la Figura 3.3 se muestra la ubicación de los principales centros mineros con producciones superiores a los 100,000 Kg.



FUENTE: Dirección General de Minas, Secretaría De Economía

FIGURA 3.3. Ubicación de los principales centros mineros productores de plata en México. (Modificado de CRM, 2002).

La amplia distribución de minas de plata en el país, origina agregados minerales los cuales pueden ser empleados para desinfectar las aguas residuales a bajos costos y sin generar problemas ambientales.



## 4. PRIMERA ETAPA EXPERIMENTAL

Como se mencionó en el Capítulo 2, esta primera etapa considerada como experimentación preliminar, tuvo la finalidad de conocer el fenómeno de desinfección con plata en sus diferentes presentaciones, para ello, se realizaron una serie de experimentos dirigidos a definir las variables que pudieran proporcionar información sobre el proceso de desinfección. En esta parte de la experimentación se eligieron y adecuaron las metodologías existentes y se fijaron las condiciones experimentales para realizar la segunda fase experimental. En este Capítulo se describen los materiales y métodos empleados, resultados obtenidos durante la experimentación preliminar, análisis y discusión de los mismos, y las recomendaciones para realizar la segunda etapa experimental.

### 4.1 Materiales y métodos

#### 4.1.1 Materiales

Los materiales empleados durante la realización de las dos etapas experimentales se enumeran a continuación:

- a) Agua residual parcialmente tratada (ARPT) proveniente de la planta de tratamiento de aguas residuales de C.U.
- b) Agua residual parcialmente tratada estéril (ARPTE).
- c) Agua residual experimental (ARE).
- d) Agua residual experimental concentrada (AREC).
- e) *Escherichia coli* cepa ATCC 25922.
- f) Diferentes medios de cultivo: Agar nutritivo Merck, Caldo nutritivo, agar Endo, agar M-FC y agar de dextrosa Sabouraud todos ellos BBL.
- g) Ácido rosólico de Hycel de México, al 1% en solución de 0.2 N. de NaOH.
- h) Agua peptonada al 0.1%.
- i) Solución salina isotónica al 0.85%.
- j) Solución de Tween 80 (Polisorbato 80), lecitina de soya y buffer de fosfatos al 0.25 M.
- k) Estándares para espectroscopia de Fe, Cu, Zn, As, Ag, Hg y Pb todos Perkin Elmer.
- l) Buffer para calibración de pH Corning, de pH 4.00, 7.00 y 10.00 con una precisión de  $\pm 0.01$  unidades de pH a 25°C.
- m) Solución comercial de plata coloidal al 0.35% (3500 mg/L), Microdyn, Roland de México, S.A. de C.V.
- n) Granalla de plata Merck con diámetro de partícula de 1 a 4 mm.
- o) Gránulos de acrílico de diámetro de partícula de 2 a 3.36 mm.
- p) Agregado mineral natural con plata (AMNP) proveniente de Zacatecas, México. Con dos diámetros de partículas de 0.6 mm y de 2 a 3.36 mm.
- q)  $\text{Ag}_2\text{S}$  marca Merck.
- r) Filtros de membrana Millipore con diámetro de poro de 0.45  $\mu\text{m}$  y 0.2  $\mu\text{m}$ .
- s) Vidrio molido grado alimenticio.
- t) Jeringas de 20 mL de capacidad, acondicionadas como columnas empacadas a pequeña escala (CAL) para las pruebas por lotes.

- u) Columnas empacadas a pequeña escala alimentadas en forma continua (CAC), la construcción a detalle de las columnas se presenta en el Anexo 2 de esta tesis, constituidas por:
  - Tubos de acrílico de 3 cm de diámetro externo, 2.5 cm de diámetro interno y 15 cm de altura, acondicionados como columnas.
  - Sistema de alimentación y agitación.
- v) Unidad de filtración por vacío Millipore.
- w) Autoclave.
- x) Incubadora con agitación orbital G24 New Brunswick.
- y) Rotavapor Büchi R-124 con baño de agua R-480.
- z) Medidor digital de campo Corning M-90 (pH/oxígeno disuelto/conductividad) con electrodo para pH/mV/°C, modelo 473619.
- aa) Microscopio óptico de campo claro con sistema de procesamiento de imágenes.
- bb) Microscopio electrónico de barrido JEOL JSM 5900 LV.
- cc) Difractómetro doble de rayos X Siemens D5000.
- dd) Espectrofotómetro UV/Visible Pharmacia Biotech, Ultrospec 3000, modelo 80-2106-20.
- ee) Espectrofotómetro de absorción atómica Perkin Elmer, modelo IC-3100.
- ff) Espectrómetro de emisión óptica con plasma acoplado por inducción (ICP-OES), Perkin Elmer, modelo 4300 DV.

#### 4.1.2 Metodología para obtener el agua residual parcialmente tratada y estéril (ARPTE)

El agua residual parcialmente tratada (ARPT) fue proporcionada por la planta de tratamiento de aguas residuales de C.U. Un lote de 100 L de ARPT fue recolectado del sistema de lodos activados a la salida del tanque sedimentador y antes de desembocar en el filtro de arena. El lote se mantuvo en el cuarto frío a 4°C hasta su esterilización.

Para esterilizar el ARPT se plantearon dos opciones principales: la esterilización en autoclave y la esterilización por filtración empleando membranas de 0.45  $\mu\text{m}$  y 0.2  $\mu\text{m}$ .

##### 1) Esterilización en autoclave

El ARPT, se dividió en lotes de 2.5 litros en garrafas de vidrio color ámbar de 4 litros de capacidad. Las condiciones de la esterilización en la autoclave fueron 1.1 kg/cm<sup>2</sup> de presión y 120°C de temperatura durante 15 minutos. Una vez estéril se guardó nuevamente en el cuarto frío hasta su uso.

##### 2) Esterilización por filtración con membranas de 0.45 y 0.2 $\mu\text{m}$

Para ello se utilizó una unidad de filtración por vacío Millipore estéril. Volúmenes de 100 mL del ARPT fueron filtrados, por una membrana estéril de 0.45  $\mu\text{m}$  y el agua obtenida fue nuevamente filtrada empleando una membrana estéril de 0.2  $\mu\text{m}$ .

La esterilidad del ARPTE se comprobó empleando la técnica de dilución y vaciado en placa empleando los medios de cultivo de agar nutritivo, agar M-FC para coliformes fecales y agar de dextrosa Sabouraud para hongos y levaduras, y mediante la técnica de filtro de membrana con el agar Endo para coliformes totales.



#### 4.1.3 Metodología para el crecimiento y conservación de la cepa de *Escherichia coli*

La cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922 empleada para la realización de esta tesis, fue proporcionada por el cepario de la Facultad de Química de la UNAM. Se conservó en agar nutritivo en el cuarto frío a la temperatura de 4°C y mensualmente se sembró en agar M-FC para mantenerla activa. El control de calidad de la cepa se realizaba mensualmente por medio de una tinción de Gram. En la Figura 4.1 se presenta una microfotografía tomada con el microscopio ocular de la tinción de Gram obtenida de la cepa de *E. coli* ATCC 25922. En ella se observan claramente las características morfológicas del microorganismo descritas en el Capítulo 3 (bacilos de extremos redondeados y Gram negativo). En la Figura 4.2 se presentan dos microfotografías de la misma cepa, tomadas con la técnica de microscopía electrónica de barrido (en el Anexo 1 se da una breve reseña del fundamento de la técnica), en la foto de la izquierda se observa un conglomerado de *E. coli*, obtenido con la técnica de secado a punto crítico y en la foto de la derecha se observa el momento en que la *E. coli* se está dividiendo, obtenida por secado al aire.



FIGURA 4.1. Tinción de Gram de la cepa de *E. coli* ATCC 25922.

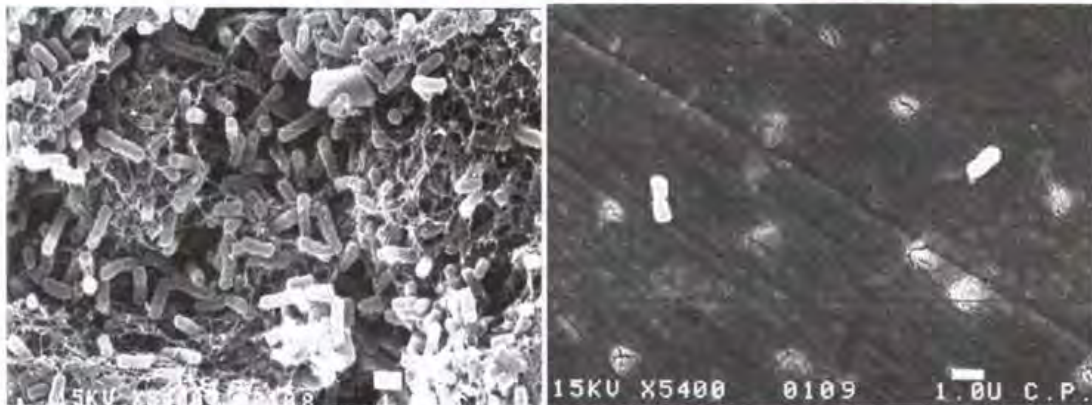


FIGURA 4.2. Microfotografías obtenidas con el microscopio electrónico de barrido de la cepa *E. coli* ATCC 25922.

#### 4.1.4 Metodología para la enumeración de *E. coli*

Para cuantificar la cantidad de *E. coli* durante las diferentes pruebas, se empleó la técnica de diluciones y vaciado en placa según métodos estandarizados Americanos (APHA, 1997). El medio de cultivo empleado fue agar M-FC, el cual es un medio selectivo para la cuantificación de microorganismos del grupo coliformes fecales. La selectividad la adquiere por los componentes del medio, la adición de ácido rosólico y la temperatura de



incubación de 44.5°C. Las diluciones se hicieron con agua peptonada al 0.1% en los casos que no se empleaba plata y en solución salina isotónica al 0.85 % en los casos que la muestra contenía plata en alguna de sus formas. La cuenta de los microorganismos se realizó después de 24 horas de incubación.

#### 4.1.5 Estandarización del inóculo de *E. coli*

La estandarización del inóculo se logró al encontrar las condiciones experimentales adecuadas para el crecimiento de *E. coli*. Para ello se obtuvieron las curvas de crecimiento de *E. coli* tanto en caldo nutritivo como en el ARPTE, con esta información se planteó la metodología para obtener los matraces de prueba para realizar los ensayos por lotes.

##### 4.1.5.1 Curva de crecimiento de *E. coli* en caldo nutritivo

Los pasos para obtener la curva de crecimiento de la cepa de *E. coli* se describen a continuación:

- I) *Activación*: Una asada de la cepa de *E. coli* preservada en agar nutritivo, se inoculó en un matraz conteniendo 150 mL de caldo nutritivo estéril. El matraz se colocó en una incubadora con agitación orbital. Las condiciones de incubación fueron 37°C y 250 rpm según lo sugerido por Pedahzur *et al.*, (1995 y 1997).
- II) A las 18 horas, se tomó un mL del inóculo, el cual es depositado a un matraz conteniendo 150 mL de caldo nutritivo, se mezcló y se introdujo en la incubadora. Esta operación se realizó por triplicado.
- III) A los intervalos en el tiempo de 0, 4, 8, 12, 14, 16, 20 y 24 horas, se midió la absorbancia de la muestra en la longitud de onda de 600 nm en el espectrofotómetro UV/Visible Pharmacia Biotech y simultáneamente, se efectuó la cuenta de bacterias por el método de diluciones y vaciado en placa empleando agar M-FC.

##### 4.1.5.2 Obtención del inóculo de *E. coli* en ARPTE

Una vez obtenida la curva de crecimiento de *E. coli* en caldo nutritivo, se procedió a determinar los pasos a seguir para obtener el inóculo de *E. coli* en ARPTE, es por ello que se obtuvo su curva de crecimiento en el medio en que se iban a realizar las pruebas. La finalidad de hacer la curva era estudiar la influencia que podría tener el nuevo medio en el crecimiento de la *E. coli*, al ser el ARPTE un sustrato con menor cantidad de alimento en comparación con el caldo nutritivo. El procedimiento seguido se describe a continuación:

- I) Un inóculo de 18 horas de incubación de *E. coli*, obtenido en caldo nutritivo en las condiciones descritas en la sección 4.1.5.1, se ajusta a una absorbancia de 1.4 en la longitud de onda de 600 nm, con caldo nutritivo. La concentración obtenida de *E. coli* fue del orden de  $10^9$  UFC/mL.
- II) Con el fin de no incrementar la cantidad de materia orgánica en el ARPTE se ejecutó un paso de dilución del inóculo, donde se tomó un mL del mismo y se diluyó en 99 mL de agua destilada estéril. De esta dilución decimal se tomó un mL y se inoculó a un matraz erlenmeyer conteniendo 150 mL de ARPTE. El matraz se colocó en una incubadora con agitación orbital a las condiciones de 37°C y 250 rpm.
- III) Posteriormente y por triplicado, a los intervalos en el tiempo de 0, 1, 2, 3, 4, 6, 12, 16, 20 y 24 horas, se midió la absorbancia a las longitudes de onda de 400, 450, 550, 580 y



600 nm y se cuantificó la abundancia de *E. coli*. En la Figura 4.3 se muestra en forma de esquema el procedimiento seguido para obtener el inóculo de *E. coli* en ARPTE.

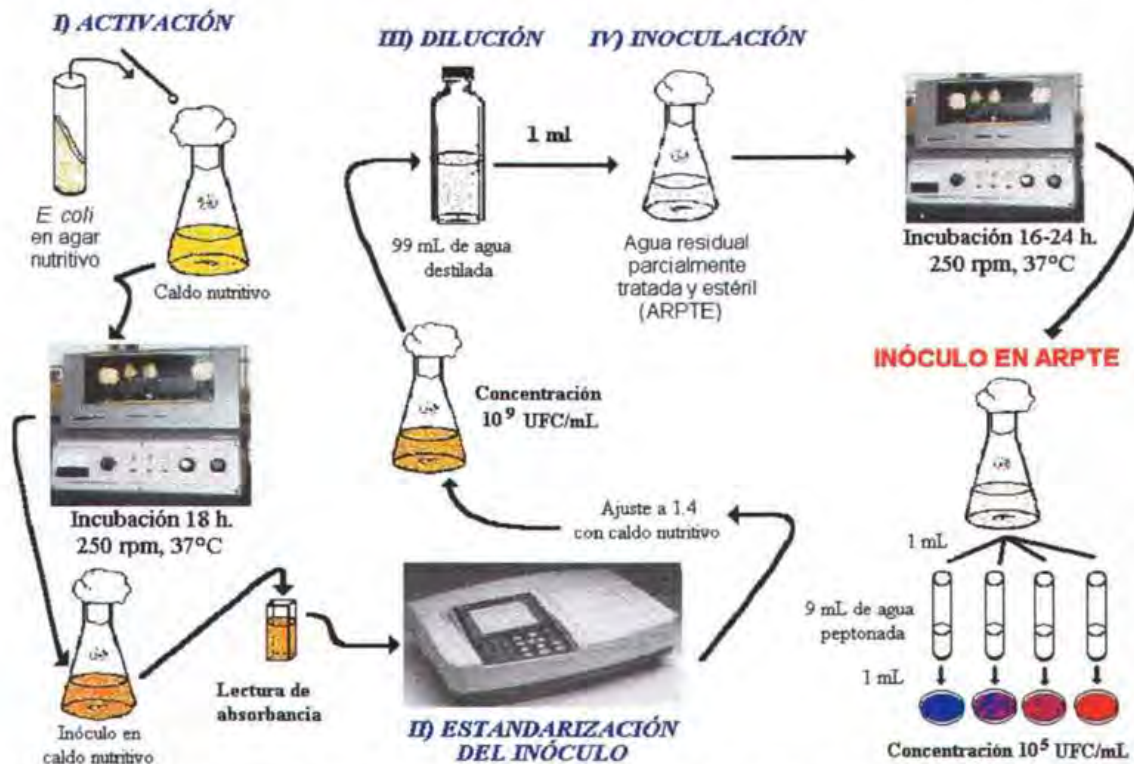


FIGURA 4.3. Secuencia de pasos para la obtención del inóculo de *E. coli* en el ARPTE.

#### 4.1.5.3 Agua residual experimental (ARE)

El agua residual experimental se obtuvo al adicionar 5 mL del inóculo de *E. coli* cultivado en ARPTE, a un matraz erlenmeyer conteniendo 140 mL de ARPTE para los matraces de la prueba con plata coloidal y 145 mL para los matraces de la prueba con granalla de plata y AMNP. Se homogenizó el matraz y se realizó la cuantificación de la *E. coli*, por la técnica de dilución y vaciado en placa. Este valor correspondió a la concentración inicial de *E. coli* en cada matraz. En la Figura 4.4 se presentan en forma de esquema los pasos seguidos.

#### 4.1.6 Metodología para la determinación de la concentración de plata y otros metales en el efluente

La determinación de la concentración de plata, tanto del agregado mineral natural con plata (AMNP) como plata en solución en las pruebas, se realizó por medio de dos técnicas: a) espectroscopia de absorción atómica de flama y b) espectroscopia de emisión atómica (APHA, 1997). En la primera etapa experimental, el equipo empleado fue un espectrofotómetro de absorción atómica, Perkin Elmer IC-300, con lámpara de plata y la mezcla de gases aire-acetileno. En la segunda etapa experimental, se empleó la técnica de espectroscopia de emisión atómica. El equipo empleado fue un espectrómetro de emisión óptica con plasma acoplado por inducción (ICP-OES) Perkin Elmer 4300 DV. Con ella se determinó nuevamente la concentración de plata y otros metales como hierro, cobre, zinc, arsénico, mercurio y plomo en el AMNP, en la prueba de disolución del AMNP en ARPTE.



y en el efluente de las pruebas en columnas. Para las curvas de calibración se emplearon estándares para espectroscopia Perkin Elmer, más información sobre estas técnicas se presenta en el Anexo 1, sección A1.1.4.3, de esta tesis.

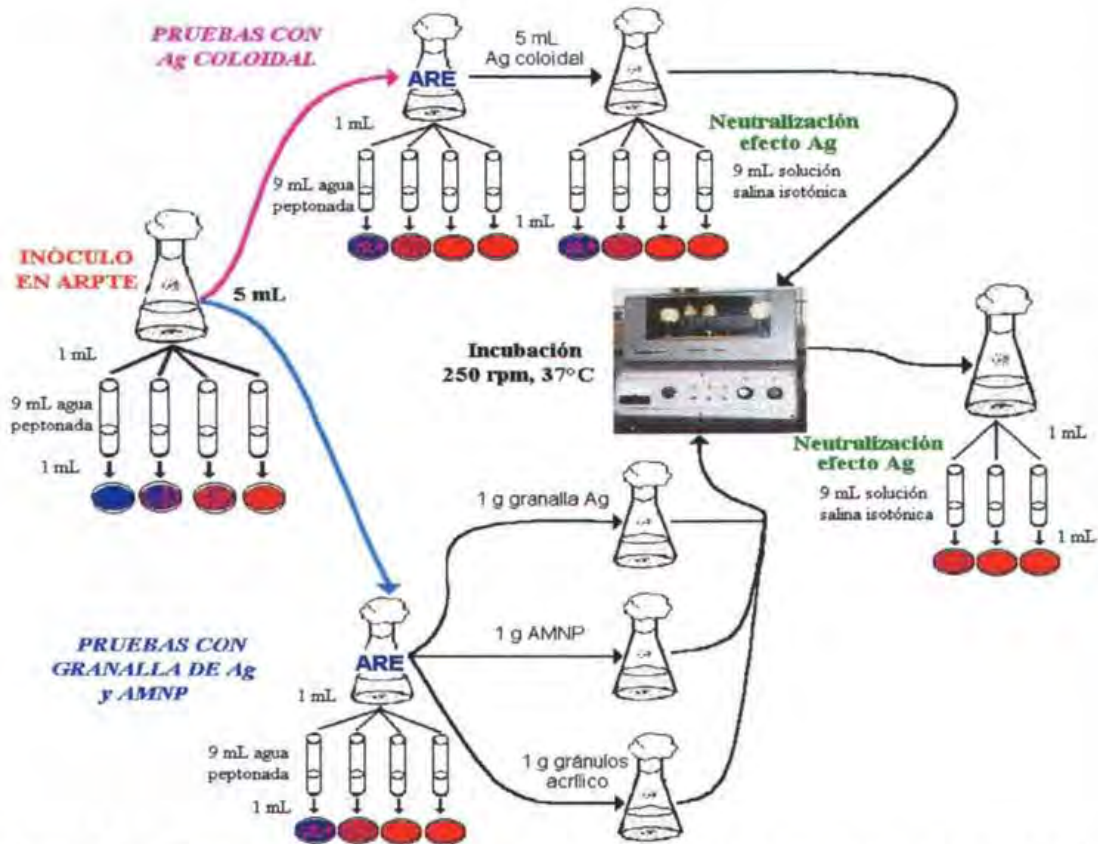


FIGURA 4.4. Secuencia de pasos de las pruebas preliminares con plata coloidal y AMNP.

## 4.2 Pruebas preliminares con plata coloidal

La finalidad de estas pruebas fue determinar la concentración y tiempo mínimos requeridos para inactivar una determinada concentración de *E. coli* empleando plata coloidal. Para ello, a partir de la solución stock de plata coloidal comercial de concentración 0.35% (3500 mg/L), se prepararon diluciones en agua destilada estéril y desionizada de concentraciones 15, 30, 60, 90, 180, 375, 750 y 1500 mg/L. Al adicionar 5 mL de las diferentes concentraciones a los matraces de prueba, las concentraciones finales en los matraces se encontrarían en el intervalo de 0.5 a 50 mg/L.

Se realizaron dos series de pruebas, en dos intervalos diferentes de concentraciones de plata coloidal, la primera en el intervalo de 1 a 50 mg/L y la segunda en el intervalo de 0.5 a 2 mg/L. El procedimiento seguido en ambos casos denominado prueba UNO y DOS se describe a continuación y se muestra en forma de esquema en la Figura 4.4.

- 1) A un matraz conteniendo ARE se le adicionó 5 mL de solución de plata coloidal de acuerdo con la Tabla 4.1. El volumen final en cada matraz fue de 150 mL. Inmediatamente después de la adición de plata coloidal, los matraces se pusieron a



incubar durante una hora a 250 rpm y 37°C. Transcurrido el tiempo se cuantificó el número de *E. coli* sobrevivientes.

- II) En la prueba DOS se introdujeron algunas variantes en el procedimiento. La cuenta en placa de *E. coli* se realizó inmediatamente después de la adición de la solución de plata coloidal y se disminuyó en un logaritmo la concentración de *E. coli* adicionada. Además, al día siguiente, se reinocularon los matraces de la prueba DOS con 5 ml de un nuevo inóculo de *E. coli* obtenido en ARPTE, se homogenizaron y se realizó nuevamente la cuenta en placa al inicio de la prueba y una hora después.

TABLA 4.1. CONCENTRACIONES DE PLATA COLOIDAL EN LOS MATRACES

PRUEBA UNO		
Código del matraz	Concentración de la solución de Ag coloidal adicionada (mg/L)	Concentración de Ag coloidal obtenida en el matraz (mg/L)
P1.1	0 (testigo)	0
P1.2	30	1
P1.3	90	3
P1.4	180	6
P1.5	375	12.5
P1.6	750	25
P1.7	1500	50
PRUEBA DOS		
Código del matraz	Concentración de la solución de Ag coloidal adicionada (mg/L)	Concentración de Ag coloidal obtenida en el matraz (mg/L)
P2.1	0 (testigo)	0
P2.2	15	0.5
P2.3	30	1
P2.4	60	2

### 4.3 Pruebas preliminares con granalla de plata y el AMNP en sistemas por lotes

La determinación del tiempo de contacto mínimo requerido para que el AMNP elimine una cantidad de *E. coli*, se estableció realizando dos tipos de pruebas en matraces y en columnas empacadas a pequeña escala alimentadas por lotes (CAL). En el Anexo 1, se describe la forma en que el AMNP fue acondicionado para su uso, así como los resultados obtenidos de la caracterización fisicoquímica realizada al mismo.

#### 4.3.1 Pruebas preliminares en matraces

Se realizaron tres series de pruebas, en las pruebas TRES y CUATRO se estableció el tiempo de contacto mínimo para que el AMNP elimine una cantidad de *E. coli* y en la prueba CINCO se observó el efecto bactericida cuando se realizan adiciones sucesivas del inóculo de *E. coli* en ARPTE. El procedimiento seguido se describe a continuación y se presenta, en forma de esquema en la Figura 4.4.

- I) *Prueba TRES y CUATRO*. A tres matraces conteniendo ARE se les adicionó, un gramo de granalla de plata al matraz 1, un gramo de AMNP al matraz 2 y un gramo de gránulos de acrílico al matraz 3 (testigo inerte). En el caso de la prueba TRES se



empleó como testigo un cuarto matraz conteniendo 150 mL de ARE. Todos los materiales fueron esterilizados en autoclave antes de su uso. Una vez adicionados, se incubaron los matraces a 250 rpm y 37°C. La cuenta en placa de *E. coli* se realizó a los 60 y 90 minutos para la prueba TRES y, 30 y 90 minutos para la prueba CUATRO.

- II) *Prueba CINCO*. A dos matraces conteniendo ARE se les adicionó, un gramo de AMNP al matraz 1 y un gramo de gránulos de acrílico al matraz 2 (testigo inerte). Todos los materiales fueron esterilizados en autoclave antes de su uso. Una vez adicionados se incubaron los matraces a 250 rpm y 37°C durante 30 minutos y se realizó la cuenta en placa de *E. coli*. Una hora después se reinocularon los matraces con 5 mL del inóculo de *E. coli* en ARPTE, se homogenizó la solución y nuevamente se realizó la cuantificación de *E. coli* en ese momento y después de 30 minutos de incubación. Esta operación se realizó en cuatro ocasiones.

#### 4.3.2 Pruebas preliminares en columnas empacadas a pequeña escala alimentadas por lotes (CAL)

En esta prueba se adaptaron dos jeringas de 20 mL como columnas. Las dimensiones de las columnas fueron: diámetro interno 1.8 cm y alto 7.5 cm. La parte interna de las mismas se raspó con la finalidad de disminuir la posibilidad de formación de canalización a través de ellas. La primera CAL se empacó con 18 g de AMNP y la segunda con 10.62 g de gránulos de acrílico, ambos materiales previamente esterilizados en autoclave. El volumen de empaque por columna fue de 15 mL. Como soporte de las columnas se emplearon tapones de hule, a los cuales se le practicaron dos horadaciones una en la parte media para soportar a las mismas y otra en un extremo para evitar la formación de vacío. Todo el sistema se montó sobre un matraz erlenmeyer de 250 mL, cuya función fue la de captar el ARE filtrada. En la Figura 4.5 se muestra el montaje de las columnas.

En total se realizaron dos adiciones en forma discontinua de ARE, la primera de 150 mL y la segunda de 300 mL, aumentando la concentración de *E. coli* en la segunda adición. La cuantificación de *E. coli* se realizó al ARE antes de adicinarla en las columnas y una vez que todo el volumen de ARE se había filtrado.



FIGURA 4.5. Montaje de las columnas alimentadas por lotes (CAL).



## 4.4 Resultados experimentación preliminar

### 4.4.1 Método de esterilización del ARPT

Los métodos de esterilización propuestos, la esterilización por autoclave y por filtro de membrana, produjeron los mismos resultados microbiológicos. No se observó crecimiento de microorganismos en las cajas de Petri, al sembrar por la técnica de diluciones y vaciado en placa el ARPTE en los medios de agar nutritivo, agar M-FC y Sabouraud y por la técnica de filtro de membrana con agar ENDO. Es por ello que de las dos opciones planteadas para esterilizar el ARPT, se decidió emplear la esterilización en autoclave. El principal motivo para la elección es que la esterilización por filtro de membrana presenta dos desventajas que no tiene la primera y son: el alto costo asociado y utilización de una gran cantidad de tiempo para realizarla, sin que redunde en una mejor calidad del agua experimental. Otra interrogante sobre el método de esterilización fue, si la esterilización en autoclave provocaba un gran cambio en las características fisicoquímicas del ARPT que pudiera afectar en la desinfección. En la Tabla 4.2 se presenta parte de la caracterización fisicoquímica y microbiológica realizada al ARPT y al ARPTE. En ella se observa que si bien es cierto que algunos parámetros fisicoquímicos presentan una pequeña variación, esta variación no fue significativa.

TABLA 4.2. CARACTERIZACIÓN FISICOQUÍMICA Y MICROBIOLÓGICA DEL ARPT Y ARPTE

PARÁMETRO	ANTES DE ESTERILIZAR (ARPT)	DESPUÉS DE ESTERILIZAR POR AUTOCLAVE (ARPTE)	OBSERVACIONES
DBO	20 <sup>a</sup>	ND	
DQO (mg/L)	16 <sup>a</sup>	38	Método colorimétrico, reflujo cerrado (APHA, 1997)
SST	33 <sup>a</sup>	ND	
Nitratos (mg/L)	12	7	Empleando Kit para determinación de nitratos marca Merck
Fosfatos (mg/L)	0.4	0.2	Empleando Kit para determinación de fosfatos marca Merck
pH (25°C)	7.3	7.2	Medidor digital de campo Corning M-90 (pH/ oxígeno disuelto /conductividad)
Coliformes totales (UFC/100 mL)	ND	0	Método de filtro de membrana, agar ENDO
Coliformes fecales (UFC/mL)	7.5×10 <sup>3</sup>	0	Método de diluciones y vaciado en placa, agar M-FC
Cuenta total (UFC/mL)	2.11×10 <sup>5</sup>	0	Método de diluciones y vaciado en placa, agar nutritivo
Hongos (UFC/mL)	ND	0	Método de diluciones y vaciado en placa, agar de dextrosa Sabouraud

Nota: ND= no determinado. <sup>a</sup>Valor proporcionado por la planta de tratamiento de aguas residuales de C.U.



#### 4.4.2 Curvas de crecimiento de *E. coli*

Las curvas de crecimiento de la cepa de estudio realizadas tanto en caldo nutritivo como en ARPTE se presentan en las Figuras 4.6 y 4.7 respectivamente. En ambas se presenta el resultado de la cuenta en placa de *E. coli* obtenida en cada uno de los intervalos de tiempo determinados. En la misma gráfica se presenta el valor de la absorbancia medida en cada uno de los intervalos del tiempo, sólo para la curva en caldo nutritivo. En el caso de la curva obtenida en ARPTE el valor de absorbancia presentó valores negativos o muy cercanos a cero para las seis longitudes de onda probadas, es por ello que no se presenta en la gráfica ni puede ser empleado como valor de referencia.

En la Figura 4.6 se observa que en el intervalo de tiempo de 16 a 24 horas se encuentra la fase de crecimiento estacionario, zona en la cual se decidió utilizar el inóculo. El tiempo de generación calculado para la cepa en las condiciones de incubación fue de 23 minutos.

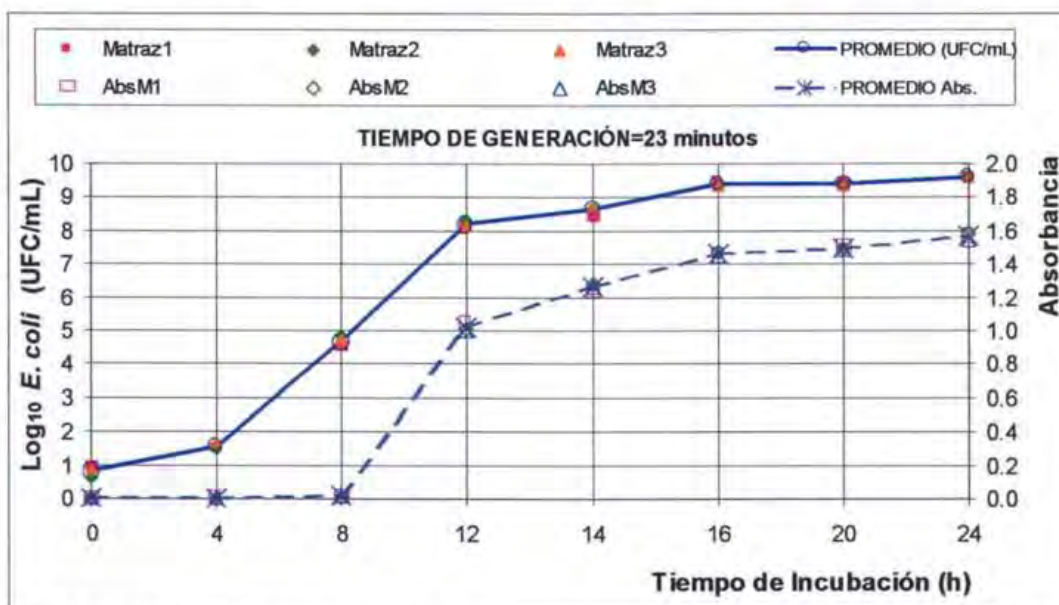


FIGURA 4.6. Curva de crecimiento de *E. coli* en caldo nutritivo a la longitud de onda de 600 nm.

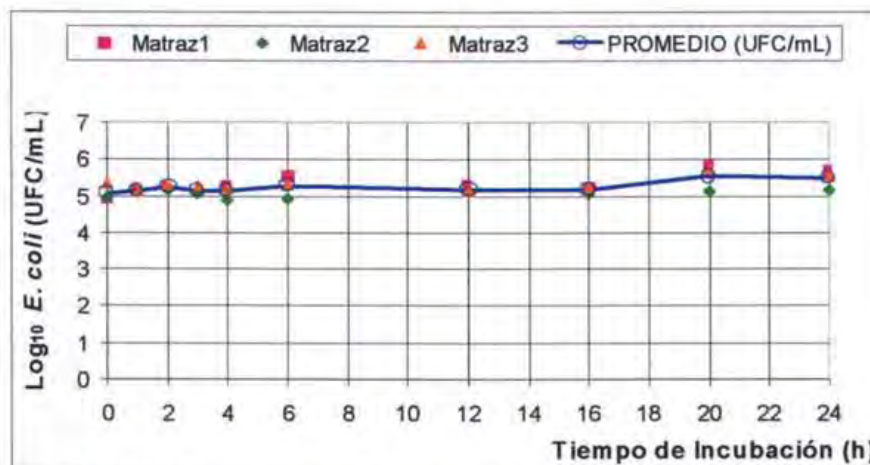


FIGURA 4.7. Curva de crecimiento de *E. coli* en ARPTE.

#### 4.4.3 Pruebas preliminares con plata coloidal

Los resultados obtenidos durante la prueba UNO se presentan en la Tabla 4.3, en ella se observó que en todos los matraces a los que se les aplicó plata coloidal no hubo crecimiento de *E. coli*, mientras que en el matraz testigo se mantuvo la concentración de *E. coli* después de una hora de incubación. Además, al final de la prueba, se observó la disminución de la concentración de plata soluble, determinada por espectroscopia de absorción atómica.

Para observar la capacidad de inhibición que el agar M-FC pudiera tener sobre la plata coloidal, al día siguiente, se emplearon las cajas de Petri obtenidas de la siembra por diluciones de la prueba UNO. Para ello, las cajas de Petri donde no existió crecimiento de microorganismos, se reinocularon, por el método de extensión superficial, con 0.1 mL de un nuevo inóculo de *E. coli* conteniendo  $1.5 \times 10^9$  UFC/mL, se incubaron nuevamente y a las 24 horas se observó crecimiento abundante sobre la superficie del agar.

TABLA 4.3. RESULTADOS DE LA PRUEBA UNO CON CONCENTRACIONES DE PLATA COLOIDAL EN EL INTERVALO DE 1 A 50 mg/L

Código del matraz	Tiempo de contacto		0 (min)	1 (h)
	Concentración Ag coloidal calculada (mg/L)	Concentración Ag soluble determinada por AAS al final de la prueba (mg/L)	Concentración inicial de <i>E. coli</i> (UFC/mL)	Concentración final de <i>E. coli</i> (UFC/mL)
P1.1	0 (testigo)	0 (testigo)	$79 \times 10^3$	$80 \times 10^3$
P1.2	1	ND	$73 \times 10^3$	0
P1.3	3	ND	$76 \times 10^3$	0
P1.4	6	ND	$57 \times 10^3$	0
P1.5	12.5	7.37	$61 \times 10^3$	0
P1.6	25	8.33	$65 \times 10^3$	0
P1.7	50 <sup>a</sup>	9.13 <sup>a</sup>	$65 \times 10^3$	0

Notas: AAS= espectroscopia de absorción atómica. ND= no se determinó.

<sup>a</sup>El resultado obtenido de Ag soluble cuando se ponen 145 mL de agua desionizada y 5 mL de la solución de Ag coloidal de concentración 1500 mg/L es de 50 mg/L y corresponde al valor calculado.

En la Tabla 4.4 se presentan los resultados obtenidos de la prueba DOS. Al igual que en la prueba UNO, se observó que los matraces que contienen Ag coloidal no presentaron crecimiento de *E. coli*, al realizar su cuantificación inmediatamente después de la adición de Ag coloidal, después de una hora de incubación y al reinocular al día siguiente los matraces con un nuevo inóculo de *E. coli*, mientras que en el matraz testigo la cantidad de microorganismos se mantuvo casi constante. Nuevamente, se observa la disminución de la concentración de plata soluble al final de la prueba.



TABLA 4.4. RESULTADOS DE LA PRUEBA DOS CON CONCENTRACIONES DE PLATA COLOIDAL EN EL INTERVALO DE 0.5 A 2 mg/L

Código del matraz	Concentración Ag coloidal calculada (mg/L)	Concentración Ag soluble determinada por AAS al final de la prueba (mg/L)	Reinoculación				
			0 (min)	1 (min)	1 (h)	24 (h)	25 (h)
P2.1	0(testigo)	0(testigo)	$5.6 \times 10^3$	ND	$5.8 \times 10^3$	$5.4 \times 10^3$	$5.3 \times 10^3$
P2.2	0.5 <sup>a</sup>	0.26 <sup>a</sup>	$3.1 \times 10^3$	0	0	0	0
P2.3	1	0.53	$4.8 \times 10^3$	0	0	0	0
P2.4	2	1.16	$5.4 \times 10^3$	0	0	0	0

Notas: AAS= espectroscopia de absorción atómica. ND= no se determinó.

<sup>a</sup>El resultado de Ag soluble cuando se ponen 145 mL de agua desionizada y 5 mL de la solución de plata coloidal de concentración 15 mg/L es de 0.84 mg/L, la concentración calculada es de 0.5 mg/L.

#### 4.4.4 Pruebas preliminares con granalla de plata, AMNP y gránulos de acrílico en sistemas por lotes

Los resultados obtenidos en las pruebas TRES y CUATRO se presentan en la Tabla 4.5 y en la Figura 4.8. Se observó que el tiempo necesario para alcanzar el 100 % de desinfección con granalla de plata puede llegar a ser hasta de 90 minutos, mientras que con el AMNP fue de solamente 30 minutos. Es importante mencionar que parte del AMNP se pulverizó con la agitación después de una hora de incubación. Los gránulos de acrílico, como era de esperarse, no presentaron efecto desinfectante por lo que pueden emplearse como material inerte en las columnas.

TABLA 4.5. RESULTADOS DE LAS PRUEBAS TRES Y CUATRO EMPLEANDO ARE Y LOS TRES MATERIALES DE EMPAQUE A DOS TIEMPOS DE CONTACTO

PRUEBA TRES					
Tiempo de contacto	0 (min)	60 (min)		24 (h)	
Contenido del matraz	Concentración inicial de <i>E. coli</i> (UFC/mL)	Concentración final de <i>E. coli</i> (UFC/mL)	Porcentaje de Desinfección	Concentración final de <i>E. coli</i> (UFC/mL)	Porcentaje de Desinfección
Testigo (ARE)	$7.5 \times 10^3$	$7.8 \times 10^3$	NA	$21 \times 10^3$	NA
Granalla de Ag	$2.8 \times 10^3$	$0.24 \times 10^3$	91.43	0	100%
AMNP	$3.5 \times 10^3$	0	100	0	100%
Gránulos de acrílico	$4.9 \times 10^3$	$5.5 \times 10^3$	-12.25 <sup>a</sup>	$24 \times 10^3$	-336.3% <sup>a</sup>
PRUEBA CUATRO					
Tiempo de contacto	0 (min)	30 (min)		90 (min)	
Contenido del matraz	Concentración inicial de <i>E. coli</i> (UFC/mL)	Concentración final de <i>E. coli</i> (UFC/mL)	Porcentaje de Desinfección	Concentración final de <i>E. coli</i> (UFC/mL)	Porcentaje de Desinfección
Granalla de Ag	$5.3 \times 10^3$	$2.4 \times 10^3$	54.72%	0	100.00%
AMNP	$5.4 \times 10^3$	0	100.00%	0	100.00%
Gránulos de acrílico	$1.2 \times 10^3$	$1.4 \times 10^3$	-16.67% <sup>a</sup>	$1.6 \times 10^3$	-33.33% <sup>a</sup>

Nota: NA= no aplica. <sup>a</sup>El número negativo indica un incremento en la población.



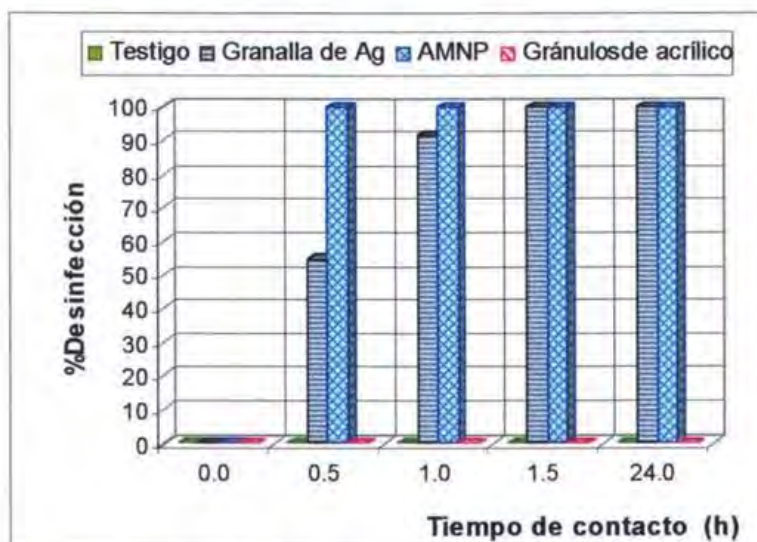


FIGURA 4.8. Comparación del efecto desinfectante de los materiales de prueba con respecto al tiempo de contacto pruebas TRES y CUATRO.

Para conocer la cantidad de plata soluble en la prueba TRES, se prepararon unos matraces similares a los de esta prueba a los cuales no se les inoculó *E. coli* y contenían 150 mL de ARPTE más un gramo de granalla de plata, o ARPTE más un gramo de AMNP ó 150 mL de agua desionizada más un gramo de granalla de plata y agua desionizada más un gramo de AMNP. Estos matraces se incubaron al mismo tiempo y bajo las mismas condiciones de los matraces de la prueba TRES y en los intervalos de tiempo de 30 y 60 minutos, se tomaron muestras para determinar la cantidad de Ag soluble por la técnica de espectroscopia de absorción atómica. Como resultado de esta prueba no se pudo determinar dentro del límite de detección del equipo Ag soluble.

Al aumentar la concentración de *E. coli* en  $10^4$  UFC/mL en el ARE y efectuar adiciones sucesivas del inóculo de *E. coli* en ARPTE a los matraces (prueba CINCO), se notó que el efecto bactericida del AMNP se mantiene en un nivel del 99%. Estos resultados se presentan en la Tabla 4.6 y la Figura 4.9.

TABLA 4.6. RESULTADOS DE LA PRUEBA CINCO EN MATRACES CON ADICIONES SUCESIVAS DE ARE

PRUEBA CINCO						
Adición/ Tiempo (min)	AMNP			GRÁNULOS DE ACRÍLICO		
	Concentración inicial de <i>E. coli</i> (UFC/mL)	Concentración final de <i>E. coli</i> (UFC/mL)	Porcentaje de Desinfección	Concentración inicial de <i>E. coli</i> (UFC/mL)	Concentración final de <i>E. coli</i> (UFC/mL)	Porcentaje de Desinfección
1) 0	$72 \times 10^3$	$0.31 \times 10^3$	99.57%	$112 \times 10^3$	$122 \times 10^3$	-8.93% <sup>a</sup>
2) 60	$73 \times 10^3$	$0.076 \times 10^3$	99.90%	$119 \times 10^3$	$135 \times 10^3$	-13.45% <sup>a</sup>
3) 120	$61 \times 10^3$	$0.017 \times 10^3$	99.97%	$117 \times 10^3$	$167 \times 10^3$	-42.74% <sup>a</sup>
4) 240	$69 \times 10^3$	$0.015 \times 10^3$	99.98%	$255 \times 10^3$	$265 \times 10^3$	-3.92% <sup>a</sup>

Nota: <sup>a</sup>El número negativo indica un incremento en la población.

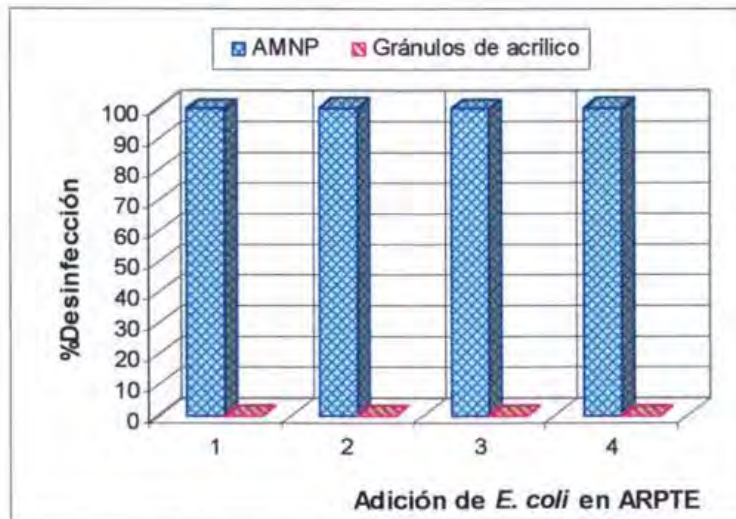


FIGURA 4.9. Comparación del efecto desinfectante del AMNP con adiciones sucesivas del inóculo de *E. coli* en ARPTE en sistema por lotes prueba CINCO.

#### 4.4.4.1 Pruebas preliminares en columnas empacadas a pequeña escala alimentadas por lotes (CAL)

Los resultados de las pruebas usando CAL se presentan en la Tabla 4.7 y Figura 4.10. Se observó que en la primera adición de ARE se logra un porcentaje de eliminación de la concentración de *E. coli* del 100% disminuyendo a 97.32% en la segunda. Al aumentar en un 50% en la segunda adición la cantidad de ARE que se pasó por la CAL y 3.3 veces la concentración de *E. coli*, la disminución en el porcentaje de desinfección fue de solamente 2.68%. Lo que indica que un aumento del 50% en la relación {volumen de agua y microorganismos (ARE) /volumen de AMNP}, afecta la capacidad de remoción del AMNP.

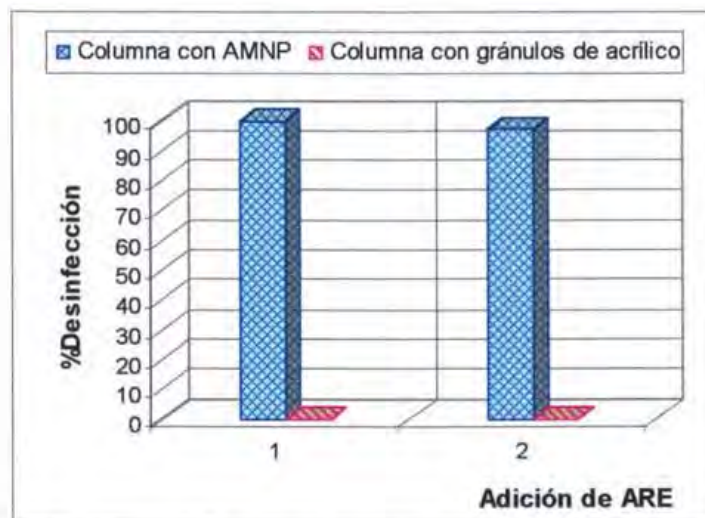


FIGURA 4.10. Comparación del efecto desinfectante del AMNP con adiciones sucesivas de ARE en las columnas alimentadas por lotes (CAL).



TABLA 4.7. RESULTADOS DE REMOCIÓN DE *E. coli* EN LAS CAL EMPACADAS CON AMNP Y GRÁNULOS DE ACRÍLICO

Adición/ Volumen (mL)	COLUMNA CON AMNP			COLUMNA CON GRÁNULOS DE ACRÍLICO		
	Concentración inicial de <i>E. coli</i> (UFC/mL)	Concentración final de <i>E. coli</i> (UFC/mL)	Porcentaje de Desinfección	Concentración inicial de <i>E. coli</i> (UFC/mL)	Concentración final de <i>E. coli</i> (UFC/mL)	Porcentaje de Desinfección
1) 150	$5.4 \times 10^3$	0	100.00%	$7.9 \times 10^3$	$27.5 \times 10^3$	-248.10% <sup>a</sup>
2) 300	$17.9 \times 10^3$	$0.48 \times 10^3$	97.32%	$16 \times 10^3$	$32 \times 10^3$	-18.75% <sup>a</sup>

Nota: <sup>a</sup>El número negativo indica un incremento en la población.

## 4.5 Discusión de los resultados

### 4.5.1 Pruebas con plata coloidal

Los resultados obtenidos en esta parte experimental muestran un porcentaje de desinfección del 100% a concentraciones de *E. coli* contenida en ARE del orden de  $10^3$  y  $10^4$  UFC/mL, con concentraciones de Ag coloidal de 0.5, 1, 2, 3, 6, 12.5, 25 y 50 mg/L, efecto remanente y podrían indicar un efecto casi inmediato del desinfectante. Con respecto a este último punto, las consideraciones realizadas fueron que la solución salina isotónica empleada para realizar las diluciones tiene la capacidad de inhibir el efecto de la plata y, con la prueba de reinoculación de las cajas de Petri obtenidas en la siembra por diluciones de la prueba UNO, el agar M-FC demostró ser capaz de inhibir el efecto de la plata. La base para realizar estas consideraciones se tomaron de la bibliografía que reporta que los iones cloro interfieren con la inactivación microbiana al reaccionar con la plata (Wang *et al.*, 2003; Silver, 2003) y que los componentes de diferentes agares como son EMB (agar eosina azul de metileno), TSA (agar tripticasa y soya) y TGE (agar de extracto de glucosa y triptona), neutralizan la actividad de la plata iónica al funcionar como quelantes (Tilton y Rosenberg, 1978). A pesar de ello, no se observó inhibición del efecto desinfectante de la plata coloidal en tiempos de contactos menores a los empleados en las pruebas.

Por otra parte, la disminución de la concentración de plata soluble en las diferentes pruebas, podría no solamente ser atribuible a que la plata reaccionó con los microorganismos, también, es probable que con la materia orgánica disuelta del ARPTE.

### 4.5.2 Pruebas con granalla de plata, AMNP y gránulos de acrílico

En estas pruebas se observó, que el tiempo necesario para alcanzar 100% de eliminación de  $5.4 \times 10^3$  UFC/mL de *E. coli* con la granalla de plata es de 90 minutos, mientras que con el AMNP fue de solamente 30 minutos, una hora menos. Por otra parte, el AMNP tiene la tendencia a perder cohesión durante la agitación aumentando su área de contacto.

Al aumentar la concentración de *E. coli* contenida en el ARE en  $7 \times 10^4$  UFC/mL y realizar adiciones sucesivas del inóculo de *E. coli* en ARPTE a los matraces de prueba, se observó que el efecto bactericida del AMNP osciló entre el 99.57 al 99.98 %, lo que indica que al aumentar un logaritmo<sub>10</sub>, la concentración de *E. coli*, disminuye el porcentaje de desinfección del orden de 0.5% en comparación con lo obtenido a concentraciones menores de *E. coli* y que las adiciones sucesivas, en sistemas por lotes, no tienen un efecto

importante en la desinfección. El no detectar la presencia de plata soluble por espectroscopia de absorción atómica al final de la prueba con la granalla de plata y AMNP, (lo que se corroboró en la prueba de disolución de metales en ARPTE, Tabla A1.5, Anexo 1), podría indicar que la plata contenida en el AMNP se encuentra principalmente como  $\text{Ag}_2\text{S}$ , compuesto muy insoluble en agua y por lo tanto, la desinfección probablemente se realizaría sobre la superficie de los materiales de prueba. Eso podría explicar las diferencias entre la capacidad desinfectante de la granalla de plata y del AMNP. En primer lugar, la pérdida de cohesión del AMNP aumentó el área efectiva de contacto en consideración con la granalla y por otra parte, la composición mineral del AMNP puede tener un efecto sinérgico en la desinfección y posiblemente no solamente sea atribuible a la plata contenida en el material.

Con respecto a las pruebas empleando CAL empacadas con el AMNP, se observó que al aumentar un 50% la relación del {volumen de ARE /volumen de AMNP}, disminuyó la cantidad de bacterias eliminadas, de no encontrarse en el efluente a encontrar  $4.8 \times 10^2$  UFC/mL, partiendo de una concentración alimentada de  $1.79 \times 10^4$ . Provocando la disminución del porcentaje de remoción en un 2.67%, al pasar de 100% a 97.32% de eliminación de *E. coli*.

Estos resultados dan indicios para suponer que la composición mineralógica del AMNP permite que sea empleado como desinfectante de aguas residuales parcialmente tratadas.

#### **4.6 Recomendaciones para la siguiente fase experimental**

Para observar el efecto bactericida de la plata en intervalos de tiempo menores a 15 minutos, se propone emplear como neutralizante del efecto desinfectante una solución de Tween 80, lecitina de soya y solución buffer de fosfatos. Se ha reportado que esta mezcla tiene la capacidad de cubrir la pared celular de las bacterias y por lo tanto neutraliza la acción de los desinfectantes (Bloomfield, 1991).

Para poder confirmar que el  $\text{Ag}_2\text{S}$  contenido en el AMNP tiene capacidad germicida, se deberá plantear un nuevo experimento en el que se comparen sus capacidades desinfectantes.

Con respecto al diseño de las columnas en la siguiente fase experimental se deberá modificar para poder analizar el efecto que tiene la adición continua de ARE en la capacidad desinfectante del AMNP y si bajo esas condiciones se detectan en el efluente metales.



## 5. SEGUNDA ETAPA EXPERIMENTAL

Una vez establecidos algunos parámetros y definidas las técnicas y metodologías a emplear se realizó la segunda parte de la estrategia de trabajo. En esta fase se mejoraron algunos aspectos de la metodología, se obtuvo más información sobre el efecto desinfectante y con base en las experiencias obtenidas en la experimentación previa, se realizó un nuevo diseño de las columnas con la finalidad de conseguir una dosificación continua y simular el comportamiento que podría obtenerse en un filtro. Esta parte del trabajo de tesis se dividió en dos secciones que corresponden a: pruebas de sobrevivencia de *E. coli* frente a compuestos de plata y pruebas en columnas empacadas a pequeña escala alimentadas en continuo. Las modificaciones principales se plantean en la primera parte de este Capítulo y las bases de diseño de las columnas a pequeña escala se presentan en el Anexo 2.

### 5.1 Adecuación de metodologías experimentales

Se plantean dos adecuaciones, la primera para estandarizar el ARE (agua residual experimental) y la segunda la forma de neutralizar el efecto bactericida de los desinfectantes en los tiempos de contacto establecidos. A continuación se describen estas modificaciones.

#### 5.1.1 Estandarización del agua residual experimental ARE

En la etapa preliminar el ARE se obtuvo inoculando cada uno de los matraces de prueba con el inóculo de *E. coli* obtenido en ARPTE, en esta etapa se obtuvo inoculando un solo matraz, para posteriormente repartirlo en los matraces de prueba en proporciones de 100 mL para el matraz testigo y 99 mL para los demás.

#### 5.1.2 Neutralización de la plata en las alicuotas utilizadas para la enumeración de *E. coli*

La solución neutralizante se preparó con 280.0 mL de Polisorbato 80 (también llamado Tween 80 el cual es un detergente no iónico), 40.0 g de Lecitina de Soya, 1.25 mL de solución amortiguadora de fosfatos 0.25 M y agua destilada la necesaria para completar 1000 mL (Bloomfield, 1991), una vez homogenizada se esterilizó en autoclave. Esta solución se empleó colocando 1.0 mL en las cajas de Petri en donde se realizó la siembra directa o en proporción de 9.0 mL en los tubos de ensayo empleados para preparar la dilución decimal  $10^{-1}$ .

### 5.2 Pruebas de sobrevivencia de *E. coli* frente a compuestos de plata

#### 5.2.1 Pruebas con plata coloidal

Se realizaron tres tipos de pruebas con la plata coloidal. En la primera se emplearon concentraciones de Ag coloidal inferiores a 0.5 mg/L sobre dos concentraciones de *E. coli*, en la segunda se observó el efecto de diferentes concentraciones de *E. coli* empleando la

misma concentración de Ag coloidal y por último se estudió el efecto que tiene la materia orgánica del agua residual en la desinfección.

#### 5.2.1.1 Pruebas con concentraciones de plata coloidal de 0.05, 0.1 y 0.5 mg/L

En esta etapa se probó el efecto de tres concentraciones de plata coloidal 0.05, 0.1 y 0.5 mg/L sobre dos concentraciones de *E. coli* del orden de  $10^2$  UFC/mL (prueba "a") y  $10^3$  UFC/mL (prueba "b"), además de realizar la cuenta de *E. coli* en tiempos menores a los utilizados en la fase de experimentación preliminar. La metodología empleada se describe a continuación:

- I) Obtención del inóculo en ARPTE (agua residual parcialmente tratada y estéril). Las condiciones para su preparación fueron descritas previamente en el apartado 4.1.5.2 del Capítulo 4 de esta tesis y esquemáticamente se mostró la secuencia de pasos en la Figura 4.3.
- II) Obtención del ARE para la prueba "a": A 396 mL de ARPTE se le adicionó 4 mL del inóculo de *E. coli* en ARPTE, se homogenizó la solución y se realizó la cuantificación de *E. coli*. El ARE obtenida se distribuyó en 4 matraces erlenmeyer de 250 mL en proporción de 99 mL por matraz.
- III) Obtención del ARE para la prueba "b": A 384 mL de ARPTE se le adicionó 16 mL del inóculo de *E. coli* en ARPTE, se homogenizó la solución y se realizó la cuantificación de *E. coli*. El ARE obtenida se distribuyó en 4 matraces erlenmeyer de 250 mL en proporción de 99 mL por matraz.
- IV) A los matraces de prueba conteniendo 99 mL de ARE, se les agregó un mL de la solución de plata coloidal de concentración de 5 mg/L, 10 mg/L ó 50 mg/L, para obtener las concentraciones de 0.05, 0.1 ó 0.5 mg/L, respectivamente. Se homogenizó la solución, se colocaron los matraces en la incubadora con agitación a 250 rpm y 37°C y se realizó la cuantificación de *E. coli* en los intervalos de tiempo de 1, 15 y 30 minutos.

#### 5.2.1.2 Efecto del aumento de la concentración de *E. coli* sobre la desinfección

En las pruebas que se efectuaron previamente, la cantidad de microorganismos se encontraba en el orden de  $10^2$  y  $10^3$  UFC/mL, puesto que uno de los factores que afectan la desinfección es la cantidad de bacterias en el agua, era importante observar el comportamiento del desinfectante bajo concentraciones mayores a éstas. El procedimiento seguido se describe a continuación.

- I) Obtención del inóculo en ARPTE con mayor concentración de *E. coli*. A partir del inóculo de 18 horas de incubación de *E. coli* en caldo nutritivo (37°C y 250 rpm) se diluyó un mL del mismo en 99 mL de agua destilada estéril. De esta dilución decimal se tomaron 5 mL y se inocularon a un matraz erlenmeyer conteniendo 95 mL de ARPTE. El matraz se colocó en una incubadora con agitación orbital a las condiciones de 37°C y 250 rpm.
- II) Obtención del ARE prueba "c": A 184 mL de ARPTE se le adicionó 16 mL del inóculo del paso I, se homogenizó la solución y se realizó la cuantificación de *E. coli*. El ARE obtenida se distribuyó en 2 matraces erlenmeyer de 250 mL en proporción de 99 mL por matraz.

- III) Obtención del ARE prueba “d”: A 170 mL de ARPTE se le adicionó 30 mL del inóculo del paso I, se homogenizó la solución y se realizó la cuantificación de *E. coli*. El ARE obtenida se distribuyó en 2 matraces erlenmeyer de 250 mL en proporción de 99 mL por matraz.
- IV) A los matraces de prueba conteniendo 99 mL de ARE, se le agregó un mL de la solución de plata coloidal de concentración 50 mg/L, para obtener la concentración de 0.5 mg/L. Se homogenizó la solución, se colocaron en la incubadora con agitación a 37°C y 250 rpm y se realizó la cuantificación de *E. coli* en los intervalos de tiempo de 1, 15 y 30 minutos para la prueba “c” y 1, 15, 30 y 45 minutos para la prueba “d”.

### 5.2.1.3 Efecto del aumento de materia orgánica sobre la desinfección

Para observar el efecto del aumento de la materia orgánica contenida en el ARPTE sobre la capacidad bactericida de la plata coloidal, se procedió a concentrar en el rotavapor Büchi un volumen de 600 mL de ARPTE. Las condiciones fueron 58 mm Hg de vacío y 100 rpm. El volumen final obtenido fue de 300 mL, de esta forma se obtuvo el agua residual parcialmente tratada estéril concentrada (ARPTEC). Tanto el ARPTE y ARPTEC fueron analizadas para determinar su contenido de DQO (APHA, 1997). La metodología seguida en esta prueba fue la siguiente:

- I) Obtención del AREC (agua residual experimental concentrada) prueba “e”: A 285 mL de ARPTEC se le adicionó 15 mL del inóculo de *E. coli* en ARPTE, se homogenizó la solución y se realizó la cuantificación de *E. coli*. El AREC obtenida se distribuyó en 3 matraces erlenmeyer de 250 mL en proporción de 99 mL por matraz.
- II) Obtención del ARE prueba “f”: A 285 mL de ARPTE se le adicionó 15 mL del inóculo de *E. coli* en ARPTE, se homogenizó la solución y se realizó la cuantificación de *E. coli*. El ARE obtenida se distribuyó en 3 matraces erlenmeyer de 250 mL en proporción de 99 mL por matraz.
- III) A los matraces de prueba conteniendo 99 ml de AREC (prueba “e”) ó ARE (prueba “f”) se les agregó un mL de solución de plata coloidal de 50 mg/L, para obtener la concentración de 0.5 mg/L. Se homogenizó la solución, se colocaron los matraces en la incubadora con agitación a 37°C y 250 rpm y se realizó la cuantificación de *E. coli* en los intervalos de tiempo de 1, 15 y 30 minutos.

## 5.2.2 Pruebas con el AMNP

Se realizaron tres tipos de pruebas con el AMNP, en la primera se analizó el efecto que produce la esterilización del AMNP sobre la desinfección, en la segunda se comparó el efecto germicida del AMNP con respecto al sulfuro de plata y en la tercera se observó el comportamiento del AMNP cuando se alimenta continuamente con ARE.

### 5.2.2.1 Efecto de la esterilización del AMNP sobre su capacidad desinfectante

Durante las pruebas realizadas en la primera etapa experimental se empleó el AMNP esterilizado por autoclave, por ello, era importante observar el efecto que tendría esta variable en la desinfección, ya que la presión y temperatura a la cual se sometió podría influir sobre el estado de oxidación y disposición de los diferentes compuestos del material. En consecuencia, se planteó un experimento donde se empleó AMNP estéril y sin esterilizar. El procedimiento seguido se describe a continuación:



- I) Obtención del ARE: A 285 mL de ARPTE se le adicionó 15 mL del inóculo de *E. coli* en ARPTE, se homogenizó la solución y se realizó la cuantificación de *E. coli*. El ARE obtenida se distribuyó en 3 matraces erlenmeyer de 250 mL en proporción de 99 mL por matraz.
- II) A los matraces de prueba conteniendo 99 mL de ARE, se les agregó un gramo del AMNP sin esterilizar al primero y un gramo de AMNP estéril al segundo, que correspondieron a 51 y 52 piezas de AMNP de diámetro de 0.2 a 3.36 mm.
- III) Se homogenizó la solución, se colocaron en la incubadora con agitación a 37°C y 250 rpm y en los intervalos de tiempo de 1, 15 y 30 minutos se realizó cuantificación de *E. coli*.

#### 5.2.2.2 Pruebas con Sulfuro de Plata

Al ser el  $\text{Ag}_2\text{S}$  la forma principal en que la plata se encuentra en estado nativo en nuestro país y tener como propiedades el ser una molécula muy estable, lo que le confiere una solubilidad muy baja  $\{k_s = 1.6 \times 10^{-49}$  (Silver, 2003);  $s = 3.42 \times 10^{-17}\}$ , era importante investigar su participación en la desinfección. Bajo la hipótesis de que el efecto desinfectante del AMNP se debe principalmente a la acción de la plata, el realizar un experimento donde la única variable existente fuera el  $\text{Ag}_2\text{S}$ , podría dar indicios de la influencia en la desinfección de los demás metales contenidos en el material de prueba. Como se mencionó en el Capítulo 3, el Fe, Cu, y Zn en cantidades importantes pueden inactivar a la *E. coli*. Es por ello que se procedió a preparar una mezcla de un material inerte y  $\text{Ag}_2\text{S}$ . El material inerte elegido fue vidrio empleado para contener alimentos. El vidrio fue molido y tamizado con la malla Tyler 28 (0.6 mm. ó 0.0234 pulg.). Conociendo que la concentración de plata en el AMNP es de 0.0159% w/w, y bajo la suposición de que ese porcentaje corresponde exclusivamente a la plata contenida en la molécula de  $\text{Ag}_2\text{S}$ , se mezclaron 0.0183 g de  $\text{Ag}_2\text{S}$  con 99.98 g del vidrio molido estéril. De esta mezcla se empleó un gramo para la prueba. Como comparación se empleó un gramo de polvo de AMNP, la forma en que fue acondicionado se describió en el Anexo 1. La metodología seguida para esta prueba se describe a continuación:

- I) Obtención del ARE: A 384 mL de ARPTE se le adicionó 16 mL del inóculo de *E. coli* en ARPTE, se homogenizó la solución y se realizó la cuantificación de *E. coli*. El ARE obtenida se distribuyó en 4 matraces erlenmeyer de 250 mL en proporción de 99 mL por matraz.
- II) A los matraces de prueba conteniendo 99 mL de ARE, se les agregó al primero un gramo de AMNP estéril, al segundo un gramo de AMNP sin esterilizar (ambos con diámetro de partícula de 0.6 mm) y al tercero un gramo de la mezcla de  $\text{Ag}_2\text{S}$  y vidrio molido.
- III) Se homogenizó la solución, se colocaron los matraces en la incubadora con agitación a 37°C y 250 rpm y en los intervalos de tiempo de 1, 15 y 30 minutos se realizó la cuantificación de *E. coli*.

#### 5.2.3 Pruebas en columnas empacadas a pequeña escala con alimentación continua (CAC)

El diseño, construcción y montaje de las columnas se presenta en el Anexo 2 de esta tesis. Se empacaron cada una de las columnas con 100 g de granalla de plata, 19.53 g de AMNP

y 9.31 g de gránulos de acrílico. El material de empaque no se esterilizó antes de su uso y el volumen de empaque por columna fue de 16.9 mL. En la Figura 5.1 se muestran los diferentes materiales de empaque empleados.



FIGURA 5.1. Materiales de empaque de las columnas: (a) granalla de Ag, (b) AMNP y (c) gránulos de acrílico.

El montaje de las columnas se presenta en la Figura A2.2 del Anexo 2 y se realizó en un cuarto de incubación, el cual mantiene una temperatura constante de 32°C. El procedimiento seguido se describe a continuación:

- I) Obtención del ARE: A 1920 mL de ARPTE se le adicionan 80 mL del inóculo de *E. coli* obtenido en ARPTE.
- II) Diariamente el tanque de alimentación se llenaba con 2000 mL del ARE obtenida en el paso anterior, después de homogenizar la solución se realizaba la cuantificación de *E. coli*. El ARE se mantuvo en constante agitación durante todos los días de prueba.
- III) Al arrancar la prueba, las columnas se inundaron con ARE y las llaves de paso de alimentación y de salida de las columnas se mantuvieron cerradas por 30 minutos, tiempo que corresponde al tiempo de contacto determinado en la primera etapa de experimentación. Transcurrido ese tiempo se abrieron las llaves y se ajustó el flujo de salida a 0.2 mL/min y el flujo de alimentación a 0.25 mL/min, con el fin de mantener las columnas inundadas durante todo el experimento.
- IV) Se tomaron muestras para las pruebas microbiológicas durante seis días en los intervalos de tiempo de 0.5, 3, 6, 11, 24, 35, 48, 59, 78, 101 y 150 horas.
- V) Al final de la prueba se cuantificó la cantidad de *E. coli* que quedó adherida a los materiales de empaque, para ello se realizó el análisis microbiológico de un gramo de cada uno de los materiales de empaque contenidos en las columnas
- VI) A determinados intervalos de tiempo se tomaron muestras compuestas del efluente de la alimentación y del efluente de cada una de las columnas. En estas muestras, una vez medido el valor de pH de la solución, se determinó la concentración de metales empleando un espectrómetro de emisión óptica con plasma acoplado por inducción (ICP- OES), información a detalle sobre esta técnica se presenta en el Anexo 1 de esta tesis (APHA,1997). Los metales analizados fueron Fe, Cu, Zn, As, Ag y Pb.
- VII) Esta determinación de metales también se realizó a un gramo del AMNP antes del inicio de la prueba y al final de la misma al AMNP contenido en la columna y por duplicado. La técnica seguida se describe en el inciso A1.1.4.3 del Anexo 1.



### 5.3 Resultados segunda etapa experimental

A continuación se presentan las tablas de resultados experimentales obtenidos, las gráficas para cada una de las pruebas y la interpretación del análisis estadístico efectuado. El desarrollo del análisis estadístico realizado a las diferentes pruebas y los resultados obtenidos del mismo se encuentran en el Anexo 3, mientras que en el Anexo 4, se muestran los resultados de la regresión no lineal realizada para obtener las constantes de las ecuaciones que describen la cinética de desinfección con compuestos de plata.

#### 5.3.1 Pruebas con concentraciones de plata coloidal de 0.05, 0.1 y 0.5 mg/L

Los resultados de las pruebas con concentraciones de *E. coli* de  $3.2 \times 10^2$  y  $2.85 \times 10^3$  para las pruebas "a" y "b" respectivamente se presentan en las Tablas 5.1 y 5.2 y en las Figuras 5.2 y 5.3. En ellas se observó que al aumentar la concentración de Ag coloidal la eliminación de *E. coli* en un tiempo de contacto determinado fue mayor y por lo tanto, disminuye el tiempo de contacto requerido para eliminar completamente a la bacteria. La eliminación total de la *E. coli* para las concentraciones de 0.05 y 0.1 mg/L de Ag coloidal requirió de menos de 15 minutos para la prueba "a" y menos de 30 minutos para la prueba "b", mientras que para la concentración de 0.5 mg/L el tiempo necesario es de menos de un minuto para la prueba "a" y menos de 15 minutos para la prueba "b". A una misma concentración de Ag coloidal, al disminuir la concentración de *E. coli*, la desinfección requirió de menor tiempo de contacto.

TABLA 5.1. RESULTADOS DE LA PRUEBA "a" EMPLEANDO TRES CONCENTRACIONES DE Ag COLOIDAL Y  $3.2 \times 10^2$  UFC/mL DE *E. coli*

Concentración Ag coloidal (mg/L)	Tiempo de contacto (min)	Concentración de <i>E. coli</i> (UFC/mL)	Porcentaje de Desinfección	Unidades Log <sub>10</sub> removidas
0 (Testigo)	0	$3.2 \times 10^2$	NA	NA
	1	ND	NA	NA
	15	$3.15 \times 10^2$	NA	NA
	30	$3.10 \times 10^2$	NA	NA
0.05	0	$3.2 \times 10^2$	NA	NA
	1	$0.125 \times 10^2$	96.09%	1.41
	15	0	100.00%	2.51
	30	0	100.00%	2.51
0.1	0	$3.2 \times 10^2$	NA	NA
	1	$0.01 \times 10^2$	99.69%	2.51
	15	0	100.00%	2.51
	30	0	100.00%	2.51
0.5	0	$3.2 \times 10^2$	NA	NA
	1	0	100.00%	2.51
	15	0	100.00%	2.51
	30	0	100.00%	2.51

Nota: NA= no aplica, ND= no determinado.



TABLA 5.2. RESULTADOS DE LA PRUEBA “b” EMPLEANDO TRES CONCENTRACIONES DE Ag COLOIDAL Y  $2.85 \times 10^3$  UFC/mL DE *E. coli*

Concentración Ag coloidal (mg/L)	Tiempo de contacto (min)	Concentración de <i>E. coli</i> (UFC/mL)	Porcentaje de Desinfección	Unidades Log <sub>10</sub> removidas
0 (Testigo)	0	$2.85 \times 10^3$	NA	NA
	1	ND	NA	NA
	15	$2.84 \times 10^3$	NA	NA
	30	$2.63 \times 10^3$	NA	NA
0.05	0	$2.85 \times 10^3$	NA	NA
	1	$0.48 \times 10^3$	83.19%	0.77
	15	$0.013 \times 10^3$	99.54%	2.34
	30	0	100.00%	3.45
0.1	0	$2.85 \times 10^3$	NA	NA
	1	$0.258 \times 10^3$	90.96%	1.04
	15	$0.001 \times 10^3$	99.96%	3.45
	30	0	100.00%	3.45
0.5	0	$2.85 \times 10^3$	NA	NA
	1	$0.0055 \times 10^3$	99.81%	2.71
	15	0	100.00%	3.45
	30	0	100.00%	3.45

Nota: NA= no aplica, ND= no determinado.

El análisis estadístico de los resultados de las pruebas “a” y “b” demostró que las diferencias observadas entre el testigo y los matraces a los cuales se les aplicó las diferentes concentraciones de Ag coloidal fueron estadísticamente significativas ( $\alpha = 0.05$ ), lo que denota un efecto desinfectante. De la comparación del porcentaje de desinfección en un tiempo determinado entre las pruebas “a” y “b”, se encontró que las diferencias en el tiempo de contacto son significativas ( $\alpha = 0.10$ ,  $P < 0.075$ ) y que el porcentaje de desinfección en el tiempo de contacto de un minuto es estadísticamente diferente al porcentaje de desinfección obtenido en los tiempos de contacto de 15 y 30 minutos. En la Figura 5.4 se observa que al tiempo de un minuto el porcentaje de desinfección para la prueba “a” fue mayor que para la prueba “b”, en proporciones de 12.90%, 8.73% y 0.19% a las concentraciones de 0.05, 0.1 y 0.5 mg/L respectivamente. A los 15 minutos este porcentaje disminuyó a 0.46%, 0.04% y 0.0% respectivamente y finalmente a los 30 minutos no hay diferencia entre ellos.

Las ecuaciones cinéticas que describen la inactivación de *E. coli* con plata coloidal se presentan en la Tabla 5.3. En ella se observa que para una misma concentración de *E. coli*, al aumentar la concentración de plata coloidal, el valor absoluto de la constante “k” de rapidez de inactivación aumenta, por el contrario, para una misma concentración de plata coloidal la constante “k” disminuye al aumentar la concentración de *E. coli*. En el caso de la prueba “b”, con mayor concentración de *E. coli*, el exponente al cual se eleva el tiempo de contacto indica que la rapidez de inactivación disminuye con el tiempo para las concentraciones de 0.05 y 0.1 mg/L de Ag coloidal.

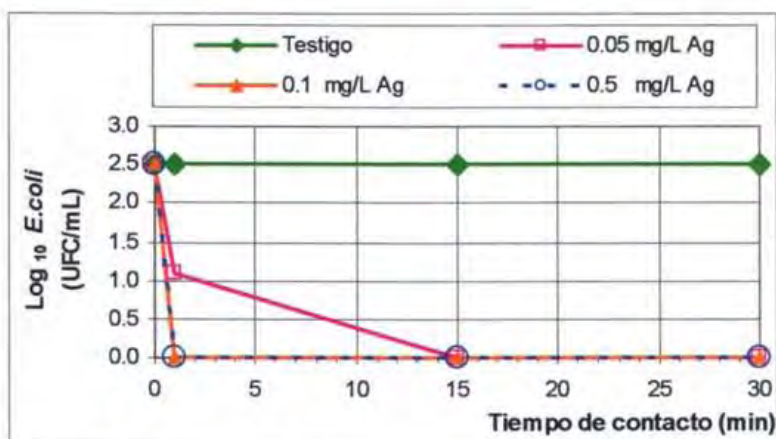


FIGURA 5.2. Efecto desinfectante de tres concentraciones de Ag coloidal sobre  $3.2 \times 10^2$  UFC/mL de *E. coli* (Prueba "a").

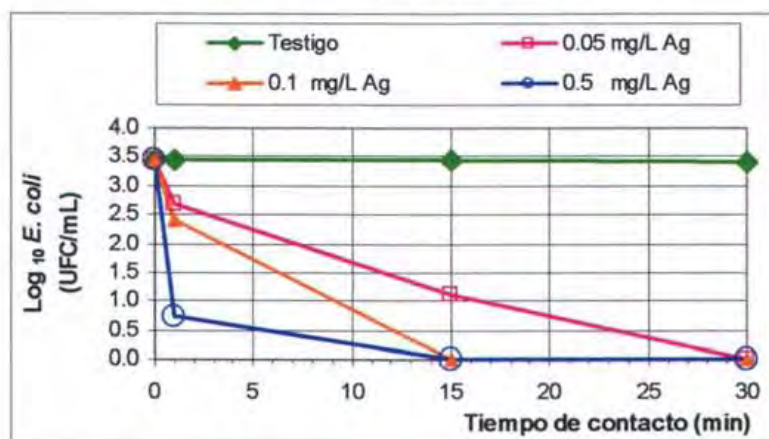


FIGURA 5.3. Efecto desinfectante de tres concentraciones de Ag coloidal sobre  $2.85 \times 10^3$  UFC/mL de *E. coli* (Prueba "b").

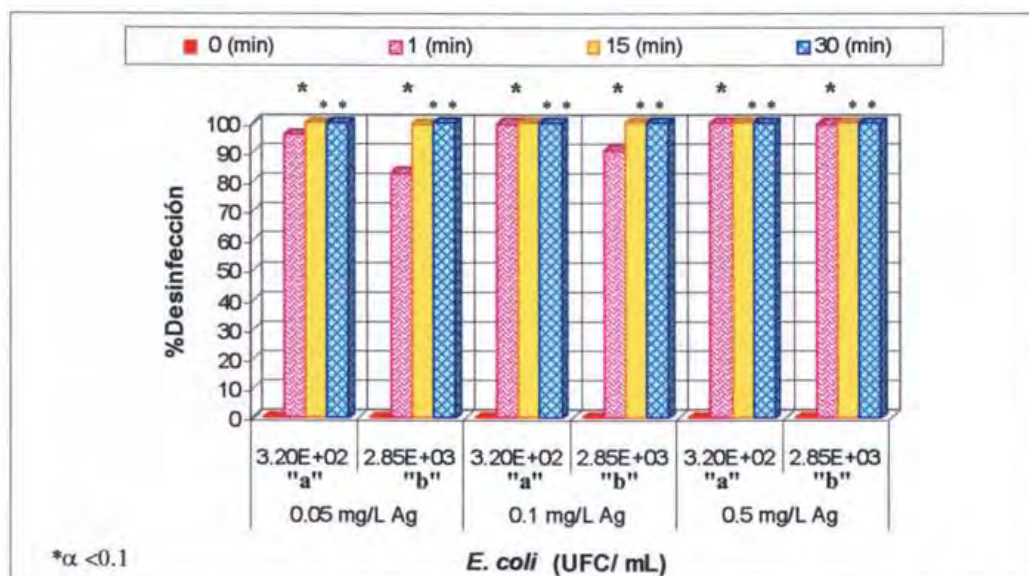


FIGURA 5.4. Comparación del porcentaje de desinfección de 0.05, 0.1 y 0.5 mg/L de Ag coloidal sobre dos concentraciones de *E. coli*.



TABLA 5.3. ECUACIONES CINÉTICAS PRUEBAS "a" Y "b"

Prueba	Concentración Ag coloidal (mg/L)	Ecuación $N_t/N_0 = \exp(-k \times t)$
a	0.05	$N_t/N_0 = \exp(-3.25 \times t)$
	0.1	$N_t/N_0 = \exp(-5.77 \times t)$
	0.5	$N_t/N_0 = \exp(-15.41 \times t)$
b	0.05	$N_t/N_0 = \exp(-1.78 \times t^{0.41})$
	0.1	$N_t/N_0 = \exp(-2.40 \times t^{0.44})$
	0.5	$N_t/N_0 = \exp(-6.27 \times t)$

Donde: t = tiempo de contacto,  $N_t$  y  $N_0$  = microorganismos al tiempo "t" y al tiempo t = 0.

### 5.3.2 Efecto del aumento de la concentración de *E. coli* sobre la desinfección

Los resultados de esta prueba con concentraciones de *E. coli* de  $7.35 \times 10^4$  UFC/mL para la prueba "c" y de  $2.82 \times 10^5$  UFC/mL para la prueba "d" se presentan en la Tabla 5.4 y en la Figura 5.5. En ellas se observa que la concentración de *E. coli* disminuyó más rápidamente para la prueba "c" en comparación con la prueba "d". La eliminación total de *E. coli* requirió de 15 minutos para la prueba "c" y de 45 minutos para la prueba "d", treinta minutos más.

TABLA 5.4. RESULTADOS DE LAS PRUEBAS "c" Y "d" EMPLEANDO 0.5 mg/L DE Ag COLOIDAL

	Tiempo de contacto (min)	Concentración de <i>E. coli</i> (UFC/mL)		Porcentaje de Desinfección	Unidades $\text{Log}_{10}$ removidas
		Testigo	Matraz 0.5 mg/L de Ag coloidal		
Prueba "c"	0	$7.35 \times 10^4$	$7.35 \times 10^4$	NA	NA
	1	ND	$0.16 \times 10^4$	97.82%	1.66
	15	$6.35 \times 10^4$	0.0	100.00%	4.87
	30	$6.45 \times 10^4$	0.0	100.00%	4.87
Prueba "d"	0	$2.82 \times 10^5$	$2.82 \times 10^5$	NA	NA
	1	ND	$0.32 \times 10^5$	88.65%	0.95
	15	$2.8 \times 10^5$	$0.000495 \times 10^5$	99.98%	3.76
	30	$2.99 \times 10^5$	$0.00003 \times 10^5$	99.99%	4.97
	45	$3.5 \times 10^5$	0.0	100%	5.45

Nota: NA = no aplica, ND= no determinado.

El análisis estadístico de los resultados demostró que las diferencias observadas entre el testigo y los matraces a los cuales se les aplicó 0.5 mg/L de Ag coloidal, fueron estadísticamente significativas tanto para la prueba "c" como la prueba "d" ( $\alpha < 0.05$  para ambos), lo que indica un efecto desinfectante. La comparación entre el efecto desinfectante de las pruebas se presenta en la Figura 5.6. En ella se observa que al tiempo de contacto de un minuto el porcentaje de desinfección para la prueba "c" fue 9.17% mayor que para la prueba "d", a los 15 minutos la diferencia disminuyó a 0.02%, y finalmente a los 30 minutos fue de solamente 0.01%.



Para cada prueba se obtuvo que las ecuaciones que describen el comportamiento cinético fueron:  $N_t/N_0 = \exp(-3.83 \times t)$  para la prueba "c" y  $N_t/N_0 = \exp(-2.18 \times t^{0.51})$  para la prueba "d", nuevamente se observa que al aumentar la concentración de *E. coli* disminuye la constante "k" y en el caso de concentraciones de  $10^5$  UFC/mL la rapidez de inactivación disminuye con el tiempo de contacto, al ser el exponente al cual está elevado el tiempo menor a la unidad.

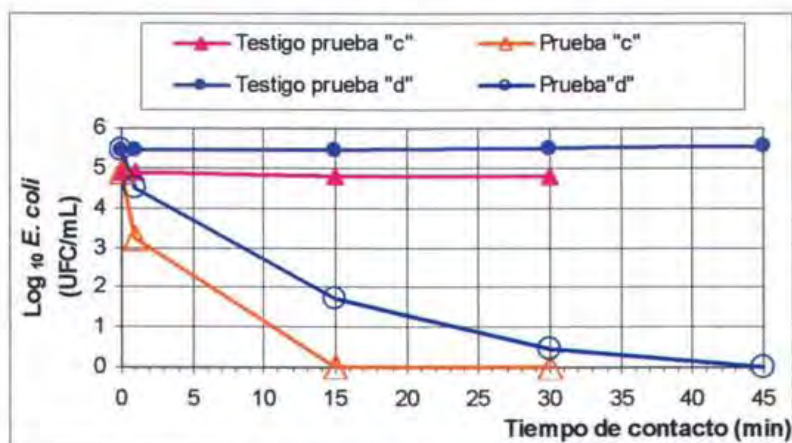


FIGURA 5.5. Efecto en la desinfección del aumento de la concentración de *E. coli* pruebas "c" y "d" ( $7.35 \times 10^4$  y  $2.82 \times 10^5$  UFC/mL) con 0.5 mg/L de Ag coloidal.

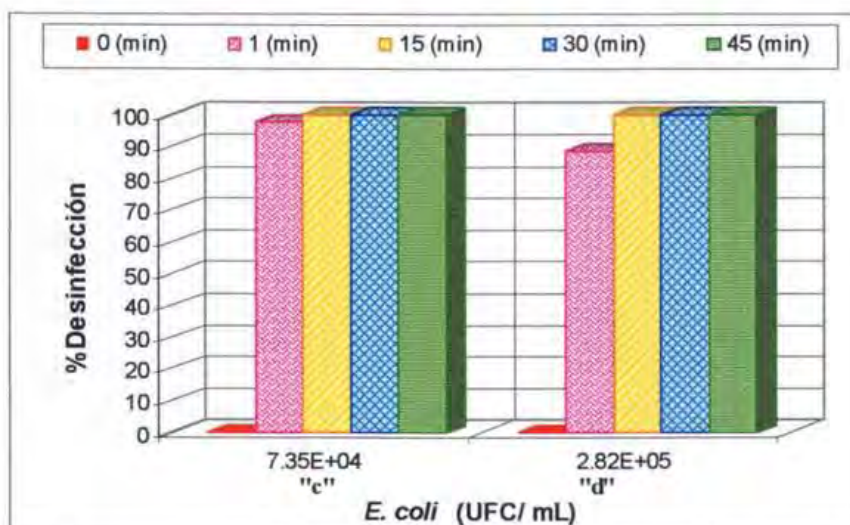


FIGURA 5.6. Comparación del porcentaje de desinfección entre las pruebas "c" y "d".

### 5.3.3 Efecto del aumento en la materia orgánica sobre la capacidad bactericida de la plata coloidal

Los resultados de esta prueba se presentan en la Tabla 5.5 y en la Figura 5.7. En ellas se observa que la concentración de *E. coli* eliminada fue menor en los tiempos de contacto de 1 y 15 minutos para la prueba "e", con 2.4 veces más contenido de materia orgánica, en comparación con lo obtenido para la prueba "f". La eliminación total de la *E. coli* requirió



de 15 minutos para la prueba “f” mientras que para la prueba “e” de 30 minutos, quince minutos más.

TABLA 5.5. EFECTO DEL AUMENTO DE LA MATERIA ORGÁNICA EN LA DESINFECCIÓN PRUEBAS “e” Y “f” CON 0.5 mg/L DE Ag COLOIDAL

	DQO (mg/L)	Tiempo de contacto (min)	Concentración de <i>E.coli</i> (UFC/mL)			Porcentaje de Desinfección promedio	Unidades Log <sub>10</sub> removidas promedio
			Testigo	0.5 mg/L de Ag coloidal			
				Matraz1	Matraz2		
Prueba “e” AREC	91.79	0	$6.6 \times 10^3$	$6.6 \times 10^3$	$6.6 \times 10^3$	NA	NA
		1	ND	$1.23 \times 10^3$	$1.12 \times 10^3$	82.19%	0.75
		15	$7.7 \times 10^3$	$0.01 \times 10^3$	$0.045 \times 10^3$	99.58%	2.38
		30	$5.4 \times 10^3$	0	0	100%	3.73
Prueba “f” ARE	38	0	$8.4 \times 10^3$	$8.4 \times 10^3$	$8.4 \times 10^3$	NA	NA
		1	ND	$0.019 \times 10^3$	$0.020 \times 10^3$	99.77%	2.63
		15	$9.9 \times 10^3$	0	0	100%	3.92
		30	$11 \times 10^3$	0	0	100%	3.92

Nota: NA= no aplica, ND= no determinado.

El análisis estadístico de los resultados experimentales demostró que las diferencias observadas entre el testigo y los matraces a los cuales se les aplicó 0.5 mg/L de Ag coloidal, fueron estadísticamente significativas para ambas pruebas ( $\alpha < 0.05$ ), lo que indica que existió un efecto desinfectante. La comparación realizada entre el porcentaje de desinfección obtenido en la prueba “e” y la prueba “f”, demostró que existió diferencia significativa entre el tiempo de contacto de un minuto con respecto al tiempo de contacto de 15 minutos ( $\alpha < 0.10$ ,  $P = 0.081$ ) y de un minuto con respecto a los 30 minutos ( $\alpha < 0.05$ ,  $P = 0.014$ ). En la Figura 5.8 se observa que en el tiempo de contacto de un minuto el porcentaje de desinfección de *E. coli* para la prueba “f” fue 17.6% mayor que para la prueba “e”, a los 15 minutos disminuyó a 0.42%, para finalmente no existir diferencia a los 30 minutos ya que el porcentaje de desinfección fue de 100% para ambos. En consecuencia el aumentar 2.4 veces la cantidad de materia orgánica del ARE (medido como DQO) implica la disminución en un 17.6% de la capacidad desinfectante de 0.5 mg/L de Ag coloidal en intervalos en el tiempo menores a 15 minutos.

Para cada prueba se obtuvo que las ecuaciones que describen el comportamiento cinético fueron:  $N_t/N_0 = \exp(-1.73 \times t^{0.43})$  para la prueba “e” y  $N_t/N_0 = \exp(-6.07 \times t)$  prueba “f”. Se observa que al aumentar la cantidad de materia orgánica del ARE disminuye la constante “k” de rapidez de inactivación, además, para la prueba “e” la rapidez de inactivación disminuye con el tiempo de contacto ya que el exponente al cual se eleva el tiempo es menor a la unidad.



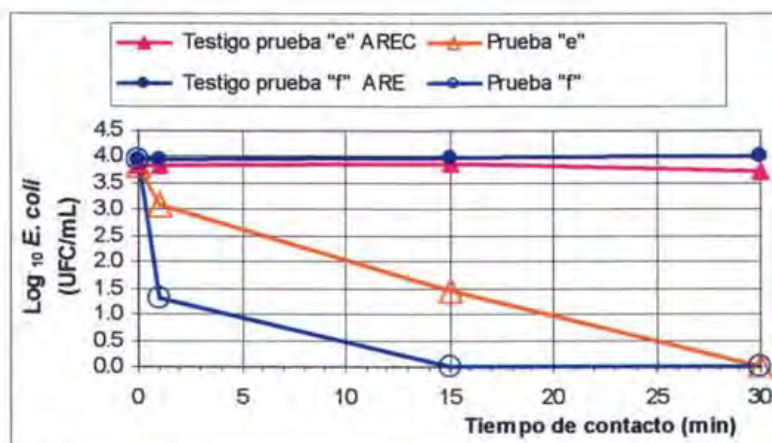


FIGURA 5.7. Efecto en la desinfección del aumento en la materia orgánica del ARE pruebas "e" y "f" (91.79 y 38 mg/L DQO) con 0.5 mg/L de Ag coloidal.

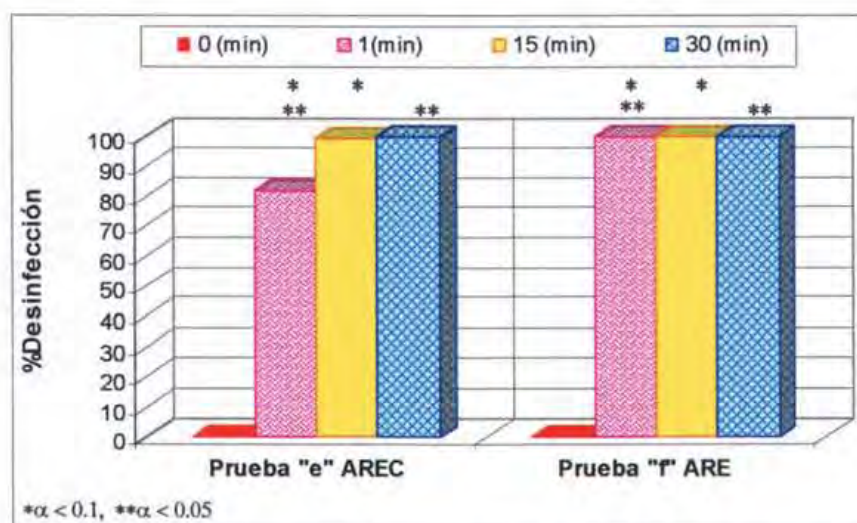


FIGURA 5.8. Comparación del porcentaje de desinfección entre las pruebas "e" y "f".

#### 5.3.4 Efecto de la esterilización del AMNP sobre su capacidad desinfectante

Los resultados de esta prueba empleando AMNP de diámetro de partícula de 2 a 3.36  $\mu\text{m}$ , se presentan en la Tabla 5.6 y en la Figura 5.9. En ellas se observa que la concentración de *E. coli* eliminada fue menor para el AMNP estéril en comparación con lo obtenido para el AMNP sin esterilizar. En cuanto al pH no se observa variación entre el testigo y los matraces conteniendo AMNP estéril y sin esterilizar al final de la prueba.

El análisis estadístico demostró diferencias significativas entre el testigo y los matraces a los cuales se les adicionó AMNP ( $\alpha = 0.10$ ), pero no así entre ellos. En cuanto al tiempo de contacto la cantidad de *E. coli* sobreviviente en el tiempo de un minuto con respecto a la sobreviviente en los tiempos de contacto de 15 y 30 minutos fueron significativamente diferentes ( $\alpha < 0.15$ ,  $P = 0.1137$  y  $P = 0.0744$ ). Para el tiempo de contacto de un minuto el porcentaje de desinfección de *E. coli* contenida en el matraz con AMNP sin esterilizar fue 9.93% mayor que lo obtenido en el matraz con AMNP estéril, Figura 5.10. Al tiempo de



contacto de 15 minutos la diferencia entre ambos aumentó a 35.15% y por último a los 30 minutos la diferencia disminuyó a 0.14%.

TABLA 5.6. EFECTO DE LA ESTERILIDAD DEL AMNP EN LA DESINFECCIÓN

Tiempo de contacto (min)	Concentración de <i>E.coli</i> (UFC/mL)			Porcentaje de Desinfección		Unidades Log <sub>10</sub> Removidas	
	Testigo	AMNP estéril	AMNP sin esterilizar	AMNP estéril	AMNP sin esterilizar	AMNP estéril	AMNP sin esterilizar
0	$7.4 \times 10^3$	$7.4 \times 10^3$	$7.4 \times 10^3$	NA	NA	NA	NA
1	ND	$6.5 \times 10^3$	$5.8 \times 10^3$	11.16%	21.09%	0.05	0.10
15	$7.0 \times 10^3$	$2.6 \times 10^3$	$0.017 \times 10^3$	64.63%	99.78%	0.45	2.65
30	$7.7 \times 10^3$	$0.013 \times 10^3$	$0.003 \times 10^3$	99.83%	99.97%	2.77	3.47
pH al final de la prueba (23.5°C)	8.24	8.24	8.23	NOTA: NA= no aplica. ND= no determinado.			

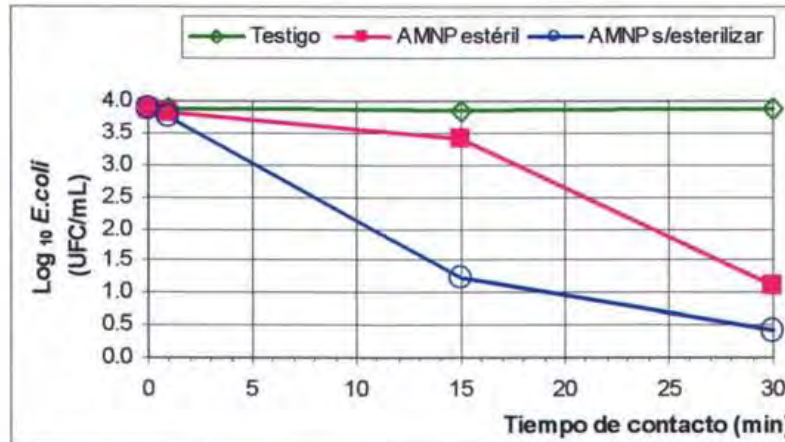


FIGURA 5.9. Efecto en la desinfección al emplear AMNP estéril y sin esterilizar.

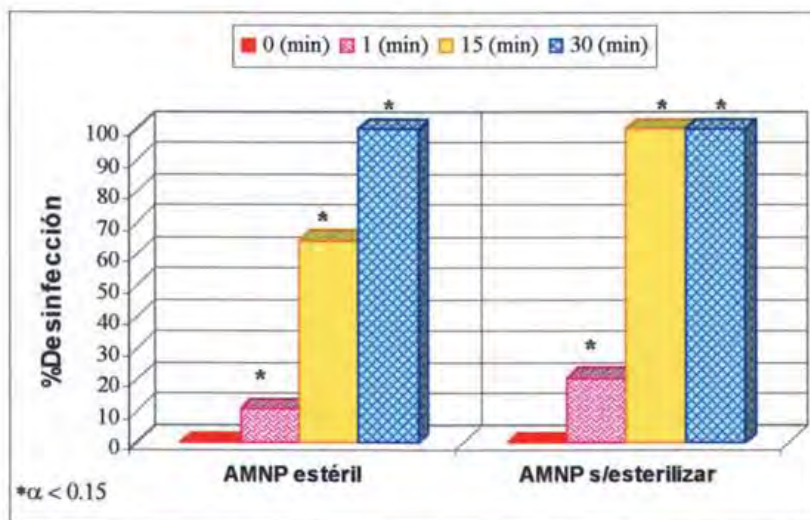


FIGURA 5.10. Comparación del porcentaje de desinfección con AMNP.

Para cada prueba se obtuvo que las ecuaciones que describen su comportamiento cinético fueron:  $N_t/N_0 = \exp(-0.044 \times t^{1.21})$  para el AMNP estéril y  $N_t/N_0 = \exp(-0.237 \times t^{1.20})$  para el AMNP sin esterilizar. Se observa que en ambos casos el exponente al cual se eleva el tiempo de contacto es casi el mismo y mayor a la unidad, lo que indica que la rapidez de inactivación aumenta con el tiempo de contacto. Por otra parte se puede apreciar que la constante "k" de rapidez de inactivación es menor en el AMNP estéril en comparación con la obtenida para el AMNP sin esterilizar.

### 5.3.5 Pruebas con sulfuro de plata

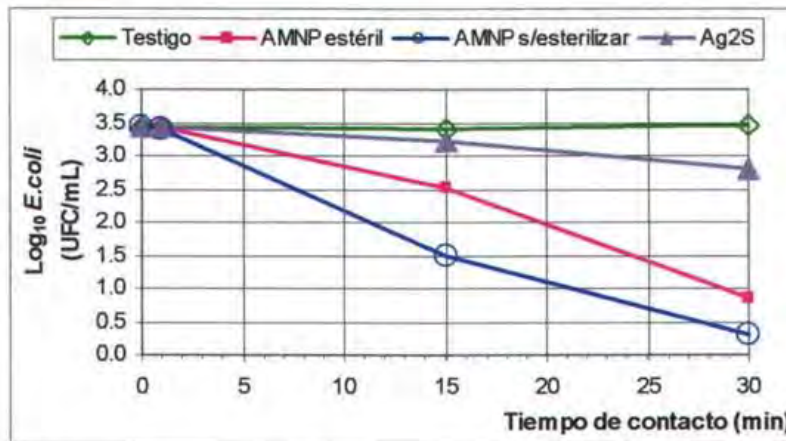
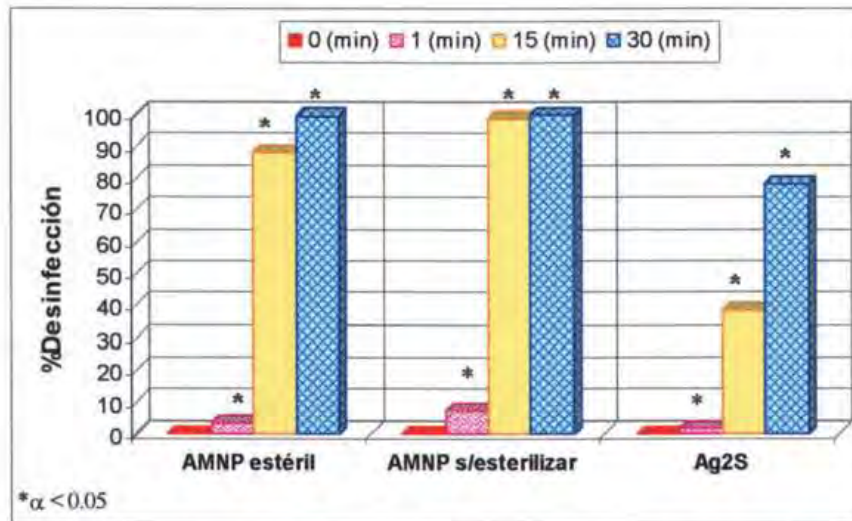
Los resultados de esta prueba empleando AMNP de diámetro de partícula de 0.6 mm se presentan en la Tabla 5.7 y en la Figura 5.11. En ella se observa que la concentración de *E. coli* eliminada fue menor para el Ag<sub>2</sub>S en comparación con lo obtenido con el AMNP estéril y sin esterilizar, los cuales presentaron capacidad desinfectante similar. A los 30 minutos de tiempo de contacto la concentración de *E. coli* en los matraces conteniendo AMNP estéril y sin esterilizar fue mínima (7 y 2 UFC/mL respectivamente) pero no así para el matraz con Ag<sub>2</sub>S el cual contenía 600 UFC/mL. En cuanto al pH determinado al final de la prueba fue casi dos y tres décimas de pH mayor para el matraz conteniendo Ag<sub>2</sub>S en comparación con los matraces conteniendo el AMNP.

TABLA 5.7. COMPARACIÓN DE LA CAPACIDAD DESINFECTANTE DEL SULFURO DE PLATA vs AMNP

Tipo de material	Tiempo de contacto (min)	Concentración de <i>E. coli</i> (UFC/mL)	Porcentaje de Desinfección	Unidades Log <sub>10</sub> removidas	pH al final de la prueba (23.5 °C)
Testigo	0	$2.75 \times 10^3$	NA	NA	8.2
	1	ND	NA	NA	
	15	$2.55 \times 10^3$	NA	NA	
	30	$2.81 \times 10^3$	NA	NA	
AMNP estéril	0	$2.75 \times 10^3$	NA	NA	8.4
	1	$2.65 \times 10^3$	3.64%	0.02	
	15	$0.325 \times 10^3$	88.20%	0.93	
	30	$0.007 \times 10^3$	99.75%	2.59	
AMNP sin esterilizar	0	$2.75 \times 10^3$	NA	NA	8.3
	1	$2.55 \times 10^3$	7.27%	0.03	
	15	$0.031 \times 10^3$	98.89%	1.96	
	30	$0.002 \times 10^3$	99.93%	3.14	
Ag <sub>2</sub> S (Sulfuro de plata)	0	$2.75 \times 10^3$	NA	NA	8.6
	1	$2.70 \times 10^3$	1.82%	0.01	
	15	$1.69 \times 10^3$	38.73%	0.21	
	30	$0.6 \times 10^3$	78.18%	0.66	

Nota: NA= no aplica, ND= no determinado.



FIGURA 5.11. Efecto en la desinfección al emplear AMNP y Ag<sub>2</sub>S.FIGURA 5.12. Comparación del porcentaje de desinfección entre el AMNP estéril, sin esterilizar y Ag<sub>2</sub>S.

El análisis estadístico demostró que existió diferencia significativa entre el testigo y los matraces conteniendo AMNP estéril y sin esterilizar ( $\alpha = 0.10$ ), lo que indica un efecto desinfectante. Con respecto al Ag<sub>2</sub>S esta diferencia es significativa con un nivel de 0.15 ( $\alpha = 0.15$ ). En cuanto al tiempo de contacto existió diferencia significativa entre el porcentaje de desinfección al tiempo de contacto de un minuto con respecto al porcentaje obtenido a los 15 y 30 minutos con un nivel de significación de 0.05 ( $P = 0.026$ ). En la Figura 5.12 se observa que al tiempo de un minuto el porcentaje de desinfección alcanzado con el AMNP sin esterilizar es 3.63% y 5.45% mayor que con el AMNP estéril y el Ag<sub>2</sub>S respectivamente, y entre el AMNP estéril y el Ag<sub>2</sub>S de 1.82%. A los 15 minutos, la diferencia en el porcentaje de desinfección entre el AMNP sin esterilizar aumentó al ser 10.69% y 60.16% mayor con respecto al AMNP estéril y al Ag<sub>2</sub>S y, entre estos últimos fue de 49.47%. Al final de la prueba, tiempo de contacto de 30 minutos, la diferencia entre el AMNP sin esterilizar disminuyó 0.18% con respecto al AMNP estéril y, entre el AMNP sin esterilizar y estéril y el Ag<sub>2</sub>S fue casi la misma 21.75% y 21.57% respectivamente. Es



importante mencionar que tanto el AMNP sin esterilizar y estéril lograron alcanzar al final de la prueba porcentajes de desinfección del orden de 99% mientras que el Ag<sub>2</sub>S solamente alcanzó un 78%.

Las ecuaciones que describen el comportamiento cinético para las pruebas fueron:  $N_t/N_0 = \exp(-0.075 \times t^{1.51})$  para el AMNP sin esterilizar,  $N_t/N_0 = \exp(-0.037 \times t^{1.49})$  para el AMNP estéril y  $N_t/N_0 = \exp(-0.006 \times t^{1.63})$  para el Ag<sub>2</sub>S. Se observa que para el AMNP sin esterilizar y estéril, el exponente al cual se eleva el tiempo de contacto es el mismo y 0.12 unidades mayor para el Ag<sub>2</sub>S, pero en los tres casos mayor a la unidad, lo que indica que la rapidez de inactivación aumenta con el tiempo de contacto. Por otra parte se puede apreciar que la constante "k" es menor para el Ag<sub>2</sub>S en comparación con lo obtenido para el AMNP sin esterilizar y estéril.

### 5.3.6 Pruebas en columnas empacadas a pequeña escala con alimentación continua (CAC)

Los resultados de los parámetros físicos determinados a los tres materiales de empaque se presentan en la Tabla 5.8. La metodología empleada para obtenerlos se describe en el inciso A1.1.3 del Anexo I.

TABLA 5.8. PARÁMETROS FÍSICOS DE LOS MATERIALES DE EMPAQUE DE LAS COLUMNAS

	Gránulos de Acrílico	Granalla de Ag	AMNP
DA (g/cm <sup>3</sup> )	0.5727 ± 0.0089 <sup>a</sup>	5.7213 ± 0.1580 <sup>a</sup>	1.2888 ± 0.0102 <sup>a</sup>
DR	1.00 ± 0.00 <sup>a</sup>	8.45 ± 0.98 <sup>a</sup>	2.18 ± 0.21 <sup>a</sup>
% P	42.73	32.25	40.88

Notas: <sup>a</sup>Con un nivel de significación de 0.05. DA= densidad aparente. DR= densidad real.  
%P= porcentaje de espacio poroso o porosidad.

Los resultados obtenidos de la cuenta en placa realizada durante la prueba se presentan en la Tabla 5.9. En ella se observa que el primer día los porcentajes de desinfección estuvieron muy cerca del 100% para los tres materiales de empaque a excepción de las 6 horas donde los gránulos de acrílico mostraron una disminución del 30% en su capacidad filtrante. A las 24 horas el flujo de salida de la columna de gránulos de acrílico se interrumpió es por ello que el porcentaje de desinfección alcanzó el 100%. Al paso de los días, se puede observar variabilidad en la capacidad de eliminación de *E. coli* de los tres materiales, en especial con los gránulos de acrílico ya que el comportamiento de la granalla de Ag y del AMNP fue similar. Es importante señalar que a las 59 horas se observó disminución en la capacidad desinfectante de la granalla de Ag y del AMNP, al parecer atribuible a un efecto de lavado del material. A las 150 horas la concentración de *E. coli* adicionada aumentó un logaritmo, provocando la disminución del porcentaje de desinfección para las columnas empacadas con gránulos de acrílico y granalla de Ag.

Los resultados obtenidos de la cuenta en placa por diluciones de un gramo del material de empaque al final de la prueba fueron 91 UFC/g para los gránulos de acrílico, 0.0 UFC/g para la granalla de Ag y 82 UFC/g para el AMNP. Lo que indica que tanto los gránulos de acrílico como el AMNP tienden a acumular *E. coli* en su superficie. Es importante

mencionar que el resultado de la cuenta en placa por diluciones de un gramo de AMNP, antes de ser utilizado en las columnas, en medio de agar nutritivo da como resultado 25 UFC/g y 0.0 UFC/g en agar M-FC.

TABLA 5.9. RESULTADOS OBTENIDOS DE LAS PRUEBAS EN COLUMNAS (CAC)

Volumen de ARE Adicionado (mL)	Tiempo (h)	Concentración de <i>E. coli</i> (UFC/mL)				Porcentaje de desinfección puntual		
		Alimentación	Gránulos de acrílico	Granalla de Ag	AMNP	Gránulos de acrílico	Granalla de Ag	AMNP
0	0	$1.28 \times 10^3$	$1.28 \times 10^3$	$1.28 \times 10^3$	$1.28 \times 10^3$	0.0%	0.0%	0.0%
6	0.5	$1.28 \times 10^3$	$0.020 \times 10^3$	$0.003 \times 10^3$	$0.059 \times 10^3$	98.4%	99.8%	95.4%
36	3	$1.57 \times 10^3$	$0.060 \times 10^3$	0	$0.022 \times 10^3$	96.2%	100.0%	98.6%
72	6	$1.71 \times 10^3$	$0.640 \times 10^3$	0	$0.046 \times 10^3$	62.6%	100.0%	97.3%
132	11	$1.86 \times 10^3$	$0.011 \times 10^3$	$0.001 \times 10^3$	0	99.4%	99.9%	100%
288	24	$2.58 \times 10^3$	$0.001 \times 10^3$	$0.001 \times 10^3$	0	100%	100%	100%
420	35	$0.30 \times 10^3$	$0.255 \times 10^3$	$0.004 \times 10^3$	$0.002 \times 10^3$	15.0%	98.8%	99.3%
576	48	$0.37 \times 10^3$	$0.045 \times 10^3$	$0.118 \times 10^3$	$0.008 \times 10^3$	88.0%	68.1%	98.0%
708	59	$0.27 \times 10^3$	$0.26 \times 10^3$	$0.460 \times 10^3$	$0.320 \times 10^3$	2.6%	-73.4%*	-20.8%*
936	78	$0.25 \times 10^3$	$0.039 \times 10^3$	$0.085 \times 10^3$	$0.022 \times 10^3$	84.3%	65.9%	91.2%
1212	101	$4.20 \times 10^3$	$3.43 \times 10^3$	$1.35 \times 10^3$	$2.23 \times 10^3$	18.5%	67.9%	47.0%
1800	150	$10.75 \times 10^3$	$8.10 \times 10^3$	$7.65 \times 10^3$	$0.73 \times 10^3$	24.7%	28.8%	93.2%

Nota: \*El número negativo indica un incremento en la población de bacterias.

Los resultados de la determinación de metales en el efluente de las columnas y el pH se presentan en la Tabla 5.10. Es importante mencionar que los resultados reportados como 0 indican que el valor obtenido por el equipo se encuentra por debajo del límite de cuantificación de la técnica<sup>1</sup>. En la Tabla 5.10 se observa que en el día 3 (48-59 h) se detectó Ag soluble para la columna conteniendo granalla de Ag, coincidiendo con un porcentaje bajo de desinfección puntual (68%). Para el caso de la columna conteniendo AMNP, solamente tres metales se detectaron en el efluente en cuatro ocasiones diferentes: Fe días 3 (48-59h), 4 (78-101 h) y 5 (101-123 h); Zn días 1 (0-11 h) y 3 (48-59h y 59-78h); y Pb día 3 (48-59h y 59-78h), todos en concentraciones por debajo de lo marcado por la norma NOM-001-SEMARNAT-1996. La detección en el día 3 de los tres metales coincide con un alto porcentaje de desinfección puntual (98%), lo que da indicios para suponer un efecto sinérgico en la desinfección. En cuanto al pH, se observó el aumento de menos de una unidad de pH a la salida de las columnas en comparación con lo obtenido en la alimentación en los días 1 a 6. En el día 7 se observa la disminución en decimales para las columnas conteniendo gránulos de acrílico y granalla de Ag, coincidiendo con la disminución de la capacidad desinfectante de ambas columnas y el aumento en la concentración de *E. coli* en la alimentación. Es importante mencionar que el pH de una solución conteniendo un gramo de AMNP en 10 mL de agua desionizada es de 7.6 unidades de pH y que en ARPTE aumenta a 8.4 unidades de pH a la temperatura de 23.5 °C. Esto se debe a que el agua residual parcialmente tratada contiene materia orgánica y diferentes compuestos que provocan que el pH se vea modificado.

<sup>1</sup> NOTA: Los límites de cuantificación para los metales analizados fueron: Fe =0.3558 mg/L, Cu =0.1554 mg/L, Zn = 0.3124 mg/L, As = 0.1294 mg/L, Ag = 0.059 mg/L y Pb =0.0563 mg/L. {Espectroscopia de emisión atómica (ICP-OES)}

TABLA 5.10. RESULTADOS DE LA DETERMINACIÓN DE METALES Y pH EN LAS COLUMNAS

Columna	Lapso de tiempo	Metal (mg/L)						pH
		Fe	Cu	Zn	As	Ag	Pb	
ALIMENTACIÓN	DIA 1 (0- 11h)	0	0	0	0	0	0	8.3
	DIA 2 (24-34 h)	0	0	0	0	0	0	7.6
	DIA 2 (34-48 h)	0	0	0	0	0	0	7.6
	DIA 3 (48-59 h)	0	0	0	0	0	0	7.5
	DIA 3 (59-78 h)	0	0	0	0	0	0	7.7
	DIA 4 (78-101 h)	0	0	0	0	0	0	8.0
	DIA 5 (101-123 h)	0	0	0	0	0	0	7.3
	DIA 6 (123-150 h)	0	0	0	0	0	0	7.4
	DIA 7 (150-152 h)	0	0	0	0	0	0	7.4
GRÁNULOS DE ACRÍLICO	DIA 1 (0- 11 h)	0	0	0	0	0	0	8.3
	DIA 2 (24-34 h)	0	0	0	0	0	0	8.2
	DIA 2 (34-48 h)	0	0	ND	ND	0	ND	8.2
	DIA 3 (48-59 h)	0	0	ND	ND	0	ND	8.4
	DIA 3 (59-78 h)	0	0	ND	ND	0	ND	8.6
	DIA 4 (78-101 h)	0	0	ND	ND	0	ND	8.5
	DIA 5 (101-123 h)	0	0	ND	ND	0	ND	8.4
	DIA 6 (123-150 h)	0	0	ND	ND	0	ND	8.2
	DIA 7 (150-152 h)	0	0	ND	ND	0	ND	7.2
GRANALLA DE Ag	DIA 1 (0- 11 h)	0	0	0	0	0	0	8.1
	DIA 2 (24-34 h)	0	0	0	0	0	0	8.3
	DIA 2 (34-48 h)	0	0	ND	ND	0	ND	8.6
	DIA 3 (48-59 h)	0	0	ND	ND	0.07	ND	8.1
	DIA 3 (59-78 h)	0	0	ND	ND	0	ND	8.4
	DIA 4 (78-101 h)	0	0	ND	ND	0	ND	8.4
	DIA 5 (101-123 h)	0	0	ND	ND	0	ND	8.4
	DIA 6 (123-150 h)	0	0	ND	ND	0	ND	8.5
	DIA 7 (150-152 h)	0	0	ND	ND	0	ND	7.4
AMNP	DIA 1 (0- 11 h)	0	0	0.58	0	0	0	8.3
	DIA 2 (24-34 h)	0	0	0	0	0	0	8.5
	DIA 2 (34-48 h)	0	0	0	0	0	0	8.5
	DIA 3 (48-59 h)	1.21	0	0.54	0	0	0.09	8.2
	DIA 3 (59-78 h)	0	0	0.48	0	0	0.09	8.7
	DIA 4 (78-101 h)	0.91	0	0	0	0	0	8.2
	DIA 5 (101-123 h)	0.79	0	0	0	0	0	8.6
	DIA 6 (123-150 h)	0	0	0	0	0	0	8.2
	DIA 7 (150-152 h)	0	0	0	0	0	0	7.3

Nota: ND= no determinado.



Los resultados del análisis multielemental del AMNP realizado antes de emplearlo en las columnas y a las 152 horas de uso se muestran en la Tabla 5.11. En ella se observa que las concentraciones de Fe, Zn y Pb disminuyeron, concordando con la detección de estos metales en el efluente de la columna y no obstante, la disminución de la concentración de Cu, Ag y As, estos metales no fueron detectados en el efluente.

TABLA 5.11. ANÁLISIS ELEMENTAL DEL AMNP ANTES Y DESPUÉS DE SU USO EN LAS COLUMNAS (ICP-OES)

ELEMENTO (mg/L)	Fe	Cu	Zn	As	Ag	Pb
Antes de uso en la columna (promedio dos determinaciones)	178.0	1.03	7.43	0.37	1.01	4.48
Después de uso en la columna (promedio dos determinaciones)	167.0	0.84	7.06	0.27	0.82	3.56
<b>DIFERENCIA</b>	11.0	0.19	0.37	0.10	0.18	0.92

Al ser las columnas alimentadas continuamente el efecto desinfectante estará influido por la cantidad de ARE que ha pasado en un tiempo determinado. Es por ello que se toman los valores acumulados, es decir, la concentración de *E. coli* que ha sido alimentada a las columnas en el tiempo “t” será la suma de la concentración en el tiempo “t<sub>i</sub>” más la concentración en el tiempo “t<sub>i+1</sub>” Estos resultados se presentan en la Tabla 5.12, con ellos se construyeron tanto para las bacterias sobrevivientes como para las eliminadas, las curvas de operación para los tres materiales de empaque que se presentan en la Figura 5.13. En ellas se observa que el AMNP presenta una mayor remoción de *E. coli* en comparación con la granalla de Ag y los gránulos de acrílico.

TABLA 5.12. RESULTADOS OBTENIDOS DE LAS PRUEBAS EN COLUMNAS VALORES ACUMULADOS

Volumen Adicionado (mL)	Tiempo (h)	Concentración acumulada de <i>E. coli</i> (UFC/mL) sobrevivientes				Porcentaje de desinfección acumulado		
		Alimentación	Gránulos de acrílico	Granalla de Ag	AMNP	Gránulos de acrílico	Granalla de Ag	AMNP
0	0	$1.28 \times 10^3$	$1.28 \times 10^3$	$1.280 \times 10^3$	$1.28 \times 10^3$	0.0%	0.0%	0.0%
6	0.5	$2.56 \times 10^3$	$1.30 \times 10^3$	$1.283 \times 10^3$	$1.34 \times 10^3$	49.2%	49.9%	47.7%
36	3	$4.13 \times 10^3$	$1.36 \times 10^3$	$1.283 \times 10^3$	$1.36 \times 10^3$	67.1%	68.9%	67.1%
72	6	$5.84 \times 10^3$	$2.00 \times 10^3$	$1.283 \times 10^3$	$1.406 \times 10^3$	65.7%	78.0%	75.9%
132	11	$7.69 \times 10^3$	$2.01 \times 10^3$	$1.284 \times 10^3$	$1.406 \times 10^3$	73.9%	83.3%	81.7%
288	24	$10.27 \times 10^3$	$2.01 \times 10^3$	$1.285 \times 10^3$	$1.406 \times 10^3$	80.4%	87.5%	86.3%
420	35	$10.57 \times 10^3$	$2.27 \times 10^3$	$1.289 \times 10^3$	$1.408 \times 10^3$	78.6%	87.8%	86.7%
576	48	$10.94 \times 10^3$	$2.31 \times 10^3$	$1.41 \times 10^3$	$1.415 \times 10^3$	78.9%	87.1%	87.1%
708	59	$11.21 \times 10^3$	$2.57 \times 10^3$	$1.87 \times 10^3$	$1.73 \times 10^3$	77.1%	83.4%	84.5%
936	78	$11.46 \times 10^3$	$2.61 \times 10^3$	$1.95 \times 10^3$	$1.76 \times 10^3$	77.2%	82.9%	84.7%
1212	101	$15.66 \times 10^3$	$6.03 \times 10^3$	$3.30 \times 10^3$	$3.98 \times 10^3$	61.5%	78.9%	74.6%
1800	150	$26.41 \times 10^3$	$14.13 \times 10^3$	$10.95 \times 10^3$	$4.71 \times 10^3$	46.5%	58.5%	82.2%

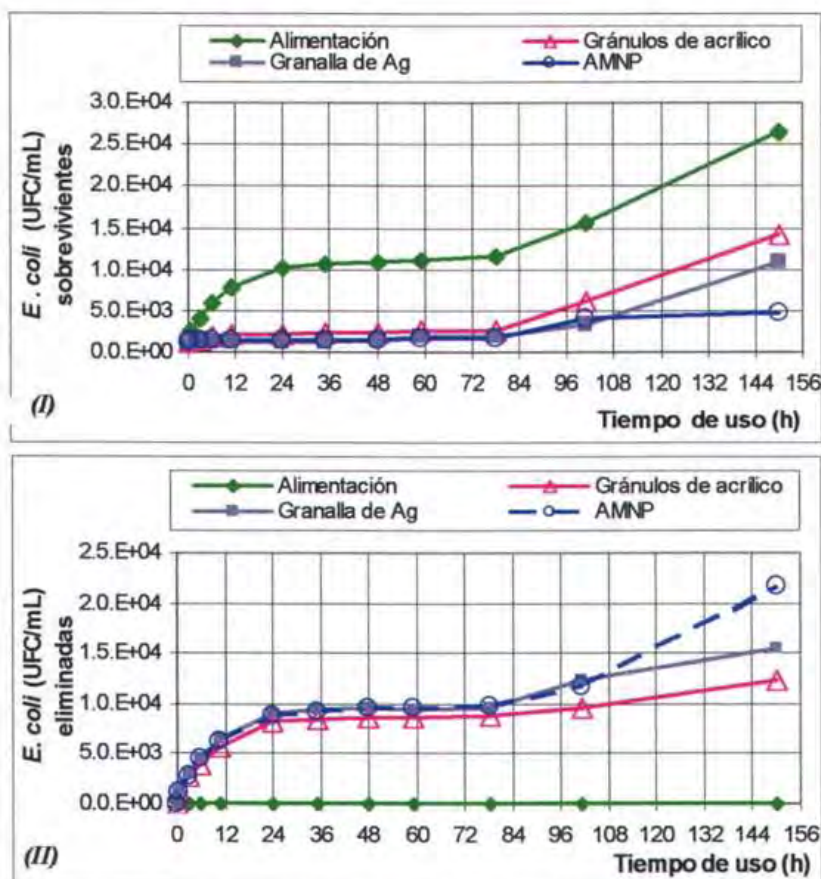


FIGURA 5.13. Curvas de operación de las CAC. (I) *E. coli* acumulada sobreviviente. (II) *E. coli* acumulada eliminada.

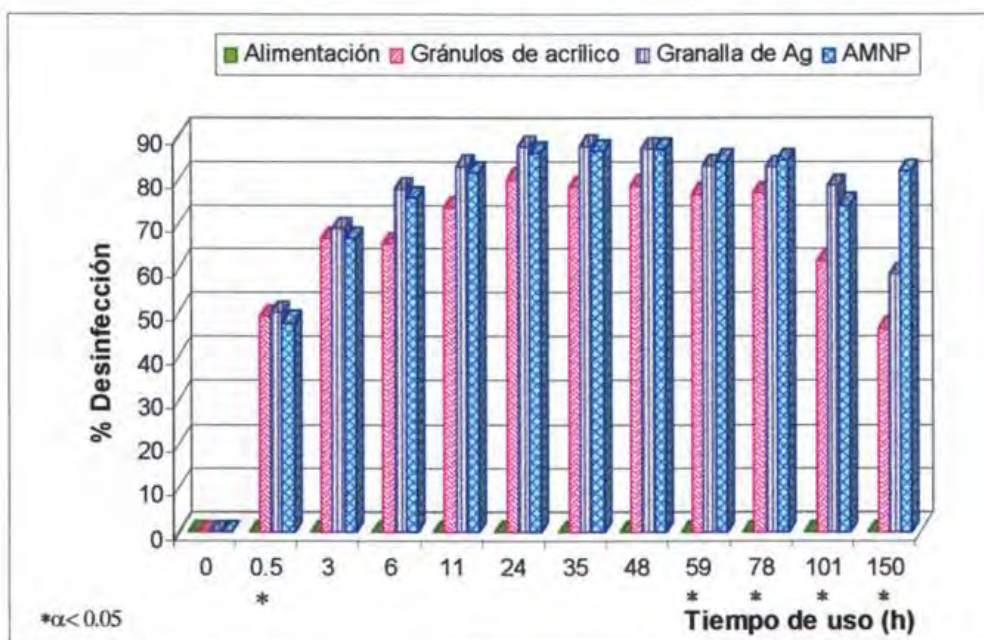


FIGURA 5.14. Comparación del porcentaje de desinfección acumulado en las CAC.

Mediante el análisis estadístico de los valores acumulados de las columnas, se demostró que existió un efecto desinfectante entre las columnas y la alimentación, el cual no solamente se debe a un efecto de filtración y que no existe diferencia significativa entre la capacidad desinfectante de la granalla de plata y el AMNP, con un nivel de significancia de 0.05. En relación con el tiempo de uso de las mismas, se observó diferencia significativa con respecto al tiempo de 30 minutos y los demás tiempos de contacto a partir de las 59 horas, coincidiendo con el momento en que se observó disminución de la capacidad desinfectante de la granalla y el AMNP. En cuanto al porcentaje de desinfección acumulado, se puede observar en la Figura 5.14 que presentó variación durante la prueba, el porcentaje mínimo observado se obtuvo a los 30 minutos de tiempo de uso para los tres materiales y los porcentajes máximos a las 24 horas (80.4%) para los gránulos de acrílico, 35 horas (87.8%) para la granalla de Ag y 48 horas (87.1%) para el AMNP momento en que se detecta en el efluente Fe, Zn y Pb.

El área bajo la curva de operación de las CAC, se obtuvo mediante la técnica del trapecio al integrar en un solo valor la respuesta de la columna (UFC/mL eliminadas acumuladas) y el tiempo de uso. Los resultados obtenidos se presentan en la Tabla 5.13. En ella se observa que el área obtenida que corresponde a la tasa de remoción de *E. coli* por el AMNP, es decir, las UFC/mL de *E. coli* eliminadas por hora es 21.7% y 7.6% mayor que la tasa de remoción de los gránulos de acrílico y la granalla de Ag respectivamente. Considerando que los gránulos de acrílico remueven a las bacterias por un efecto solamente de filtración, al restar este efecto a la tasa de desinfección obtenida para la granalla de Ag y al AMNP se obtiene que la tasa de remoción debida al efecto químico es 34.9% mayor para el AMNP en comparación con la granalla de Ag.

TABLA 5.13. RESULTADOS INTEGRACIÓN DE LAS CURVAS DE OPERACIÓN DE LAS COLUMNAS

Columna	Tasa de remoción efecto filtrante y químico [UFC/mL(eliminadas)]×h	Tasa de remoción efecto químico [UFC/mL(eliminadas)]×h
Gránulos de acrílico	$1.34 \times 10^6$	-
Granalla de Ag	$1.58 \times 10^6$	$2.42 \times 10^5$
AMNP	$1.71 \times 10^6$	$3.71 \times 10^5$

Con la distribución de partículas de los diferentes materiales se calculó el volumen por partícula el cual se presenta en la Tabla 5.14. Para calcular el volumen se consideró que tanto los gránulos de acrílico como la granalla de Ag presentan una forma esférica, mientras que la forma irregular del AMNP es más parecida a un cilindro con tapas cóncavas, como se puede observar en la Figura 5.1. Con el volumen total obtenido y la tasa de remoción por hora, se calculó la tasa de remoción por volumen efectivo de los tres materiales de empaque. Los resultados obtenidos fueron: gránulos de acrílico  $0.501 \times 10^5$ , granalla de plata  $0.545 \times 10^5$  y AMNP  $1.640 \times 10^5$  [UFC/mL(eliminadas)]×h×cm<sup>3</sup>]. Nuevamente se observa que el AMNP presenta una tasa mayor de remoción por volumen efectivo que los gránulos de acrílico y la granalla de Ag en proporciones de 69.45% y 66.79% respectivamente.



TABLA 5.14. DISTRIBUCIÓN DE TAMAÑOS Y VOLUMEN DE LOS TRES MATERIALES DE EMPAQUE

Material	Tamaño cm	Tamaño promedio	Numero de Piezas	Área cm <sup>2</sup>	ÁREA TOTAL cm <sup>2</sup>	% Distribución de tamaños	Volumen cm <sup>3</sup>	VOLUMEN TOTAL cm <sup>3</sup>
GRÁNULOS DE ACRÍLICO	0.3-0.36	0.33	406	0.34	138.90	78.53%	0.06	23.15
	0.2-0.3	0.25	111	0.2	21.79	21.47%	0.03	3.63
	total		517	0.54	160.70	100.00%	0.09	<b>26.78</b>
GRANALLA DE PLATA	0.5	0.5	16	0.79	12.57	2.73%	0.13	2.09
	0.4-0.5	0.45	63	0.64	40.08	10.75%	0.11	6.68
	0.3-0.4	0.35	189	0.38	72.74	32.25%	0.06	12.12
	0.2-0.3	0.25	211	0.20	41.43	36.01%	0.03	6.90
	0.1-0.2	0.15	107	0.07	7.56	18.26%	0.01	1.26
	total		586	2.07	174.37	100.00%	0.35	<b>29.06</b>
AMNP	0.3-0.4	0.35	269	0.38	103.52	33.33%	0.022	6.04
	0.2-0.3	0.25	538	0.2	105.64	66.67%	0.01	4.40
	total		807	0.58	209.16	100.00%	0.03	<b>10.44</b>

El rendimiento por gramo de material de empaque se calculó con los resultados de la integración de la curva de operación (Tabla 5.13, granalla de Ag  $1.58 \times 10^6$  y AMNP  $1.71 \times 10^6$  [UFC/mL(eliminadas)] $\times$ h), el volumen total de ARE alimentado a las columnas (1800 mL), la cantidad de material de empaque en gramos que contenía cada columna (granalla 100 g, AMNP 19.53 g) y el tiempo de uso de las mismas (150 h). Los rendimientos obtenidos fueron de  $0.19 \times 10^6$  UFC/g de granalla de Ag y  $1.05 \times 10^6$  UFC/g de AMNP, lo que indica que el AMNP presenta un rendimiento por gramo de material de empaque 81.95% mayor que la granalla de Ag.

## 5.4 Discusión de los resultados segunda etapa experimental

### 5.4.1 Pruebas con plata coloidal

La literatura establece que las variables que afectan principalmente a la desinfección son: la concentración del desinfectante empleado, el tiempo de contacto, concentración de microorganismos y la cantidad de materia orgánica del medio (Bitton, 1994; Arana, 2000). En el caso de las pruebas realizadas con Ag coloidal, el tiempo de contacto requerido para alcanzar un determinado porcentaje de desinfección, es el parámetro que se ve afectado al modificar las variables mencionadas. Conforme aumenta la cantidad de *E. coli* en el ARE se requiere de un tiempo de contacto mayor para alcanzar el mismo porcentaje de desinfección con una misma concentración de desinfectante (Figura 5.15). Para concentraciones de  $3.2 \times 10^2$  UFC/mL de *E. coli*, el 100% de desinfección se alcanza un minuto después de adicionar la Ag coloidal, mientras que para concentraciones del orden de  $2.85 \times 10^3$ ,  $8.4 \times 10^3$  y  $7.35 \times 10^4$  UFC/mL se consigue a los 15 minutos de tiempo de contacto y para concentraciones de *E. coli* de  $2.8 \times 10^5$  se obtiene a los 45 minutos. De igual manera, al disminuir la concentración de Ag coloidal adicionada el tiempo de contacto aumenta. Cuando se aplican concentraciones de plata coloidal de 0.05, 0.1 y 0.5 mg/L a una concentración de *E. coli* de  $2.85 \times 10^3$  UFC/mL, el 100% de desinfección se consigue a los 30 minutos para el caso de 0.05 y 0.1 mg/L de Ag coloidal y a los 15 minutos para la

concentración de 0.5 mg/L. Las mismas concentraciones de Ag coloidal aplicadas a una concentración menor de *E. coli*  $3.2 \times 10^2$  UFC/mL, ocasionan que el tiempo requerido para alcanzar el 100 % de desinfección disminuya a 15 minutos para las concentraciones de 0.05 y 0.1 mg/L y un minuto para la concentración de 0.5 mg/L. Finalmente al aumentar la cantidad de materia orgánica del medio en 2.4 veces (medida como DQO) el tiempo de contacto también se ve afectado alcanzándose el 100% de desinfección hasta los 30 minutos en el matraz con mayor contenido de materia orgánica, quince minutos más en comparación con el matraz de contenido de materia orgánica menor.

En la Figura 5.16 se compara en forma gráfica el valor de la constante de rapidez de inactivación "k" obtenido a diferentes concentraciones de Ag coloidal. En ella se observa que para una misma concentración de *E. coli*, al aumentar la concentración de Ag coloidal la constante "k" también aumenta, además, para las concentraciones de 0.05 y 0.1 mg/L de la prueba "b" la constante "m" fue menor a uno lo que ocasiona que la rapidez de inactivación disminuya con el tiempo de contacto. Esta fase de decrecimiento es provocada por la menor concentración de Ag coloidal disponible en el medio.

Al comparar los valores obtenidos para la constante de rapidez de inactivación a diferentes concentraciones de *E. coli* y 0.5 mg/L de Ag coloidal, Figura 5.17, se observa que la constante "k" disminuye conforme aumenta la concentración de *E. coli* y en el caso de concentraciones del orden de  $10^5$  UFC/mL, prueba "d", se presenta nuevamente la fase de decrecimiento disminuyendo la rapidez de inactivación con el tiempo de contacto al ser la constante "m" menor a la unidad. Es importante mencionar que el valor de la constante "k" obtenido para la prueba "d" ( $k = 2.18$ ), donde se empleó 0.5 mg/L de Ag coloidal y  $2.82 \times 10^5$  UFC/mL de *E. coli*, es similar al obtenido en la prueba "b" ( $k = 2.40$ ) con 0.1 mg/L de Ag coloidal y  $2.85 \times 10^3$  UFC/mL, la diferencia es de 0.22 unidades. En el caso de la constante "m" la diferencia es de 0.06 unidades ( $m = 0.51$  y  $0.44$  respectivamente).

En la prueba "e" con 2.4 veces más concentración de materia orgánica en el medio,  $6.6 \times 10^3$  UFC/mL de *E. coli* y 0.5 mg/L de Ag coloidal, se observó que el valor de la constante "k" ( $k = 1.73$  y  $m = 0.43$ ) fue similar al valor obtenido en la prueba "b" ( $k = 1.78$ ) con  $2.85 \times 10^3$  UFC/mL y 0.05 mg/L de Ag coloidal, la diferencia es de 0.05 unidades y, el valor de la constante "m" es un valor intermedio a los obtenidos en la prueba "b" con concentraciones de 0.05 y 0.1 mg/L de Ag coloidal ( $m = 0.41$  y  $0.44$  respectivamente). En esta prueba con mayor contenido de materia orgánica, se presentó nuevamente la fase de decrecimiento al consumirse la Ag coloidal no solamente por la *E. coli*, ya que también reaccionó con la materia orgánica del ARE.

Al aumentar la cantidad de bacterias en el ARE o la materia orgánica, la concentración de Ag coloidal necesaria para la desinfección es mayor y conforme transcurre el tiempo la cantidad disponible es menor, provocando la disminución en la rapidez de inactivación, fenómeno similar a lo que ocurre al tener menor concentración de Ag coloidal.

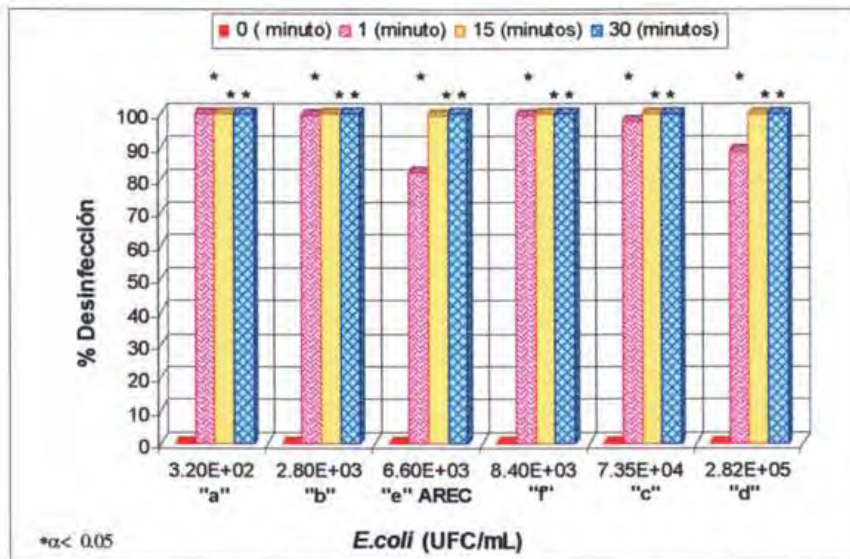


FIGURA 5.15. Comparación del porcentaje de desinfección obtenido con 0.5 mg/L de Ag coloidal sobre seis concentraciones de *E. coli*

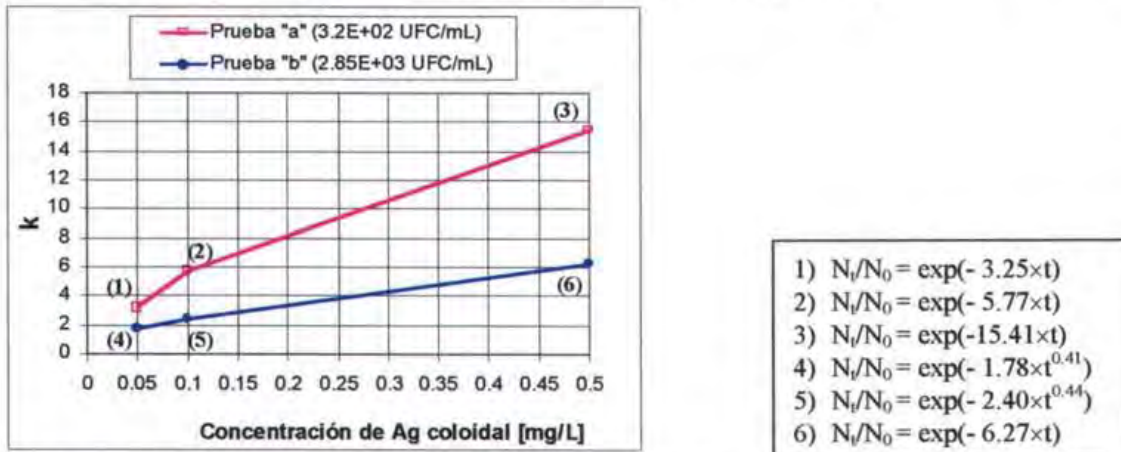


FIGURA 5.16. Comparación de las constantes de rapidez de inactivación obtenidas en las pruebas "a" y "b" con 0.05, 0.1 y 0.5 mg/L de Ag coloidal.

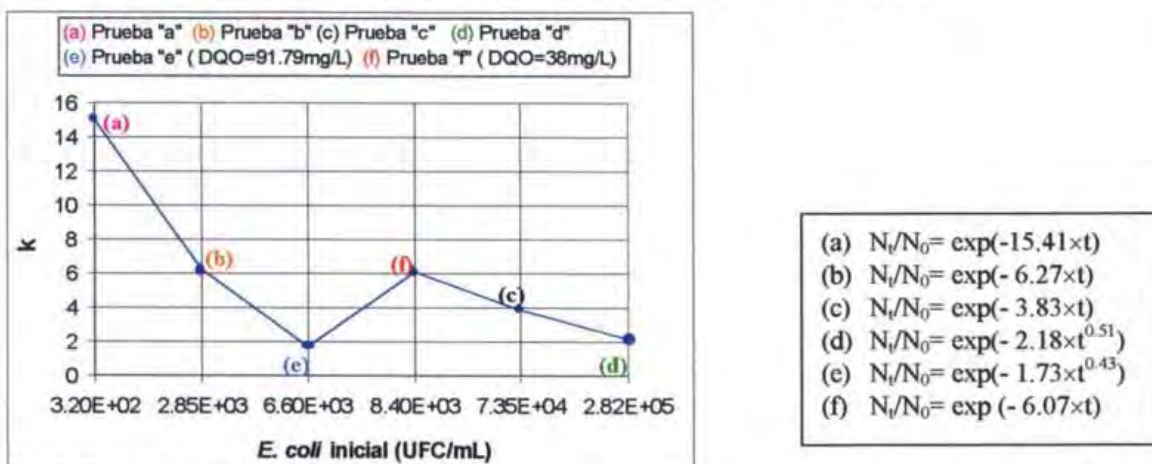


FIGURA 5.17. Comparación de las constantes de rapidez de inactivación obtenidas en las pruebas con 0.5 mg/L de Ag coloidal.



## 5.4.2 Pruebas con AMNP

En esta prueba se observó que al esterilizar el AMNP el tiempo de contacto para alcanzar un determinado porcentaje de desinfección es una variable importante solamente para tiempos menores a 15 minutos. Puesto que el tiempo de contacto estimado en la fase preliminar de esta tesis, para alcanzar el 100% de desinfección con el AMNP fue de 30 minutos, no es una variable que influya en los resultados, además, de que en la práctica el material se emplearía sin esterilizar. Pero sí proporciona información con respecto a que en las condiciones en las cuales se llevó a cabo la desinfección del AMNP (1.1 kg/cm<sup>2</sup> de presión y 120 °C de temperatura durante un tiempo de 15 minutos), algunos de los compuestos que lo forman pudieran haber modificado su estructura y disponibilidad, lo que afectó al tiempo de contacto.

Es importante notar que la diferencia en eliminación de *E. coli* entre el AMNP estéril y sin esterilizar fue menor al emplear material con diámetro de 0.6 mm en comparación a lo obtenido con el AMNP estéril y sin esterilizar de diámetro 2-3.36 mm, atribuible a la mayor área de contacto del AMNP en el primer caso.

En cuanto a la comparación del efecto desinfectante del AMNP con respecto al Ag<sub>2</sub>S, se observó que este último compuesto presenta propiedades desinfectantes y, como se esperaba, es menor que el del AMNP, lo que indica que el efecto desinfectante del AMNP no solo se debe al Ag<sub>2</sub>S.

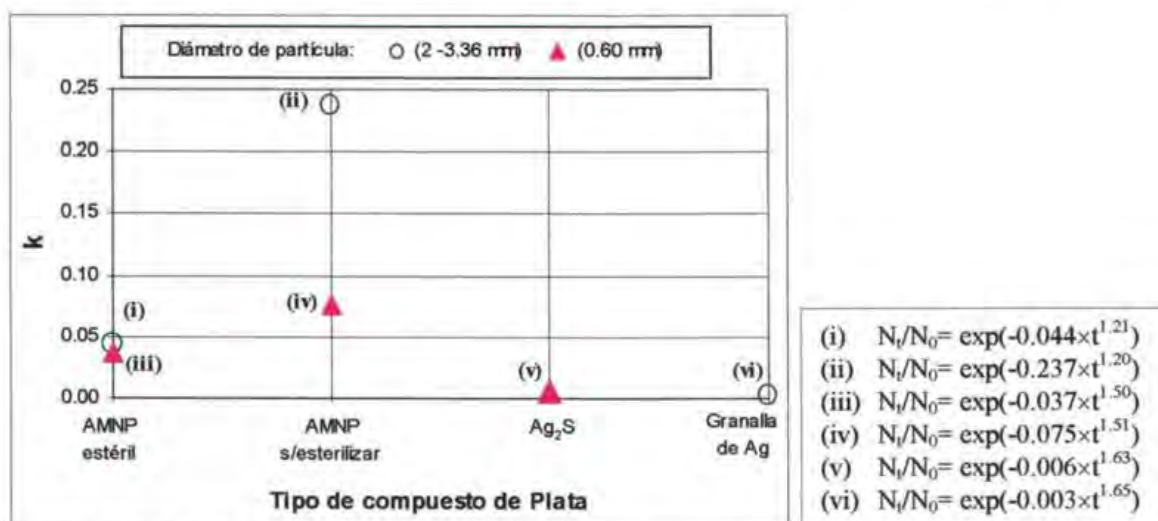


FIGURA 5.18. Comparación de las constantes de rapidez de inactivación en las pruebas con granalla de plata, Ag<sub>2</sub>S y AMNP.

En la Figura 5.18 se presenta la comparación de las constantes de rapidez de inactivación obtenidas para la granalla de Ag, el Ag<sub>2</sub>S y el AMNP estéril y sin esterilizar a dos diámetros de partícula diferentes. Se observa que la constante "k" de rapidez de inactivación para el AMNP sin esterilizar y diámetro de partícula de 2-3.36 mm (k= 0.237), fue la mayor de todas las constantes de esta fase y, al disminuir el diámetro de partícula la constante (k= 0.075) disminuyó 0.165 unidades acercándose más al valor obtenido para el AMNP estéril (k= 0.044 y 0.037). Lo contrario a lo sucedido con el AMNP estéril, al cual no le afecta la disminución del diámetro de partícula ya que el valor de la constante "k" no disminuyó significativamente, la diferencia entre ambas es de solamente 0.007 unidades.

Para la granalla de Ag y el  $\text{Ag}_2\text{S}$  el valor de la constante “k” y la constante “m” del tiempo de contacto son similares ( $k= 0.003$  y  $0.006$ ,  $m= 1.65$  y  $1.63$ , respectivamente) la diferencia entre ellas es de solamente  $0.003$  y  $0.02$  unidades, por lo que se puede admitir que la capacidad bactericida de ambos materiales es similar. El menor valor de la constante “m” se obtuvo para el AMNP sin esterilizar y diámetro de partícula de  $2-3.36$  mm ( $m= 1.20$ ), aumentando  $0.31$  unidades al disminuir el diámetro ( $m= 1.51$ ), indicando que la rapidez de inactivación aumenta al incrementarse el área de contacto entre las bacterias y el AMNP. En todos los casos la constante “m” fue mayor a la unidad, mostrando que la capacidad bactericida de los materiales empleados en esta fase, no disminuye con el tiempo de contacto, al contrario al aumentar este, la probabilidad de que entren en contacto con la *E. coli* contenida en el ARE es mayor, resultando en el incremento de la rapidez de inactivación. Este comportamiento es atribuible a la combinación de dos fenómenos, el primero relacionado con la disolución de algunos metales en el ARE que con el tiempo es mayor y los vuelve disponibles y, el segundo por la probable existencia de un fenómeno de desinfección en la superficie de los materiales de prueba.

#### 5.4.3 Pruebas en columnas empacadas a pequeña escala (CAC)

La adición continua de ARE sobre el AMNP, permitió observar que el comportamiento de la granalla de Ag y AMNP son similares hasta las 48 horas de uso, y que el porcentaje de desinfección obtenido no se debe simplemente a un efecto de filtración del medio. Al comparar la tasa de remoción por hora o por volumen efectivo de los tres materiales de empaque se obtuvo que es mayor para el AMNP  $\{1.71 \times 10^6$  [UFC/mL(eliminadas)] $\times h$  y  $1.64 \times 10^5$  [UFC/mL(eliminadas)] $\times h \times \text{cm}^3\}$  en comparación con los gránulos de acrílico y la granalla de Ag  $\{1.34 \times 10^6$  y  $1.58 \times 10^6$  [UFC/mL(eliminadas)] $\times h$ ;  $5.01 \times 10^4$  y  $5.45 \times 10^4$  [UFC/mL(eliminadas)] $\times h \times \text{cm}^3\}$ , provocado por varios fenómenos de igual importancia. Brown *et al.*, (2002), menciona que las capas de óxido de los minerales incrementan significativamente la unión de las bacterias a ellos debido a la alteración de las propiedades electrostáticas de la superficie mineral. En el caso del AMNP, el análisis petrográfico, la coloración rojiza típica, la detección de óxido de Fe (III) por difracción de rayos X y el alto contenido de Fe obtenido por espectroscopia de emisión atómica (ICP-OES)  $178$  mg/L, demuestran la existencia de óxidos de Fe, lo cual incrementó la capacidad de adhesión de los microorganismos a su superficie. Esta propiedad explica la razón de haber encontrado  $82$  UFC/g de AMNP adheridas a ese material al final de la prueba. Además, la diferencia en la concentración de los metales al inicio y al final de la prueba, demuestra que reaccionaron con el ARE. Lo que también hace que el rendimiento por gramo de material sea mayor para el AMNP ( $1.05 \times 10^6$  UFC/g de AMNP contra  $1.9 \times 10^5$  UFC/g para la granalla de plata).

Por otra parte, tanto los resultados de la prueba comparativa realizada entre el AMNP y el  $\text{Ag}_2\text{S}$ , como los resultados de la determinación de metales en el efluente, dan indicios para suponer que la capacidad desinfectante del AMNP, se debe probablemente al efecto sinérgico desinfectante del hierro, cobre, zinc y plata entre otros elementos contenidos en el mineral. Por lo que los resultados obtenidos indican que se trata de un material promisorio para ser empleado en sistemas de filtración desinfectante de aguas residuales.

## 6. CONCLUSIONES

- Los resultados experimentales obtenidos en sistemas alimentados por lotes, conteniendo agua residual parcialmente tratada estéril (ARPTE), inoculada con *E. coli* para obtener concentraciones del orden de  $1 \times 10^3$  y  $1 \times 10^4$  UFC/mL y plata coloidal en concentración de 0.5 mg/L, demostraron que se logra el 100% de desinfección a los 15 minutos de tiempo de contacto. Al reducir la concentración de *E. coli* a  $1 \times 10^2$  UFC/mL el tiempo de contacto necesario para conseguir el 100% de desinfección disminuye a un minuto, por el contrario, al aumentar la concentración de *E. coli* a  $1 \times 10^5$  UFC/mL el tiempo de contacto aumenta a 45 minutos. De manera complementaria, al disminuir la concentración de plata coloidal a valores de 0.05 y 0.1 mg/L, con concentraciones de *E. coli* del orden de  $1 \times 10^2$  UFC/mL en ARPTE, fueron necesarios 15 minutos para lograr el 100% de su eliminación, mientras que para una concentración del orden de  $1 \times 10^3$  UFC/mL se requirió de 30 minutos. Es importante señalar que para esta última concentración, al incrementar la cantidad de materia orgánica del ARPTE 2.4 veces, el tiempo para lograr el 100% de desinfección también son 30 minutos.
- Los resultados de las pruebas por lotes realizadas en matraces conteniendo *E. coli* en concentración de  $5 \times 10^3$  UFC/mL, muestran que la granalla de plata requiere de 90 minutos para alcanzar la eliminación del 100 % de *E. coli* contenida en ARPTE. Mientras que para el AMNP, el tiempo de contacto requerido es de 30 minutos para lograr ese mismo porcentaje de desinfección. En el caso de adiciones sucesivas de *E. coli* en ARPTE a matraces conteniendo AMNP, en donde se incrementó la concentración de *E. coli* a  $7 \times 10^4$  UFC/mL, la eficiencia de desinfección osciló del 99.57 al 99.98%.
- En las pruebas empleando las columnas empacadas a pequeña escala alimentadas por lotes (CAL), se observó que al aumentar un 50% el volumen de ARE adicionada y 3.3 veces la concentración de *E. coli*, disminuyó la cantidad de bacterias eliminadas, de no encontrarse en el efluente a encontrar  $4.8 \times 10^2$  UFC/mL, partiendo de una concentración alimentada de  $1.79 \times 10^4$  UFC/mL. Provocando la disminución del porcentaje de remoción de *E. coli* de 100% a 97.32%.
- Aunque en las pruebas realizadas con AMNP, no se detectó plata soluble, mediante análisis por espectroscopia de absorción atómica y emisión atómica (ICP-OES) (LD= 0.02 mg/L), sí se observó efecto bactericida. Esto hace suponer que se trata de la combinación de dos fenómenos uno de superficie en donde la Ag no se disuelve en el medio o se disuelve en cantidades no detectables por el equipo de detección empleado y el efecto sinérgico entre los metales que lo conforman. Lo anterior proporciona elementos para explicar porqué el  $Ag_2S$ , el cual presenta una solubilidad muy baja, permite obtener hasta un 78% de desinfección.



- El AMNP y la granalla de plata presentaron comportamientos de desinfección similares en las pruebas realizadas en columnas empacadas a pequeña escala alimentadas en continuo (CAC). No obstante, el AMNP presentó una tasa de remoción mayor  $\{1.71 \times 10^6 \text{ UFC/mL(eliminadas)} \times h\}$  que la observada con la granalla de plata  $\{1.58 \times 10^6 \text{ UFC/mL(eliminadas)} \times h\}$ . En consecuencia, la tasa de remoción por centímetro cúbico de empaque también resulta mayor para el AMNP  $\{1.64 \times 10^5 \text{ UFC/mL(eliminadas)} \times h \times \text{cm}^3\}$  en comparación con lo obtenido para la granalla de plata  $\{5.45 \times 10^4 \text{ UFC/mL(eliminadas)} \times h \times \text{cm}^3\}$ , correspondiendo a un rendimiento por gramo de material de empaque para el AMNP de  $1.05 \times 10^6 \text{ UFC/g}$ , 81.95% superior al de la granalla de plata que fue de  $1.9 \times 10^5 \text{ UFC/g}$ .
- Las constantes de rapidez de inactivación calculadas para los sistemas por lotes empleando plata coloidal, demostraron que las variables que afectan la desinfección son: a) la concentración del desinfectante, ya que al incrementar la concentración de la plata coloidal la rapidez de inactivación aumenta; b) la concentración de microorganismos contenidos en el ARE, al aumentar la concentración de *E. coli* la rapidez de inactivación disminuye y, c) la cantidad de materia orgánica del ARE, al aumentar disminuye la rapidez de inactivación.
- Los compuestos de plata empleados presentaron diferentes capacidades bactericidas. Las constantes de rapidez de inactivación obtenidas con los compuestos de plata en estado sólido en orden de disminución son: AMNP ( $k= 0.24$  a  $0.075$ ) >  $\text{Ag}_2\text{S}$  ( $k= 0.006$ ) > granalla de plata ( $k= 0.003$ ), en contraste, al emplear plata coloidal, las constantes obtenidas son mayores ( $k= 15.41$  a  $1.73$ ). En el caso de los tratamientos con AMNP, granalla de Ag y  $\text{Ag}_2\text{S}$ , la rapidez de inactivación se incrementa con el tiempo de contacto.
- Los resultados experimentales obtenidos con el AMNP, dan indicios de que se trata de un material promisorio para ser empleado en la desinfección de aguas residuales domésticas parcialmente tratadas.

## 7. BIBLIOGRAFÍA

- ☞ Acher A., Fischer E., Turnheim R. y Manor Y. 1997. *Ecologically friendly wastewater disinfection techniques*. Water Res., 31(6):1398-1404.
- ☞ Andreadakis A., Mamais D., Christoulas D. y Kabylafka S. 1999. *Ultraviolet disinfection of secondary and tertiary effluent in the Mediterranean region*. Water. Sci. Technol., 40(4-5):253-260.
- ☞ APHA, AWWA, WEF 1997. *Standard Methods for the examination of water and wastewater*. American Public Health Association/American Water Works Association/Water Environment Federation, Washington DC, USA.
- ☞ Arana I., Santorum A., Muela A. y Barcina I. 2000. *Effect of disinfection upon dissolved organic carbon (DOC) in wastewater: bacterial bioassays*. Lett. Appl. Microbiol., 31:157-162.
- ☞ ATSDR. 1999. *Silver*. Agencia para sustancias tóxicas y registro de enfermedades USA Servicios públicos de salud. [en línea]. [20 Septiembre 2000]. Disponible en: [http://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es\\_tfacts146.pdf](http://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es_tfacts146.pdf).
- ☞ Bahri A. 1999. *Agricultural reuse of wastewater and global water management*. Water Sci. Technol., 40(4-5):339-346.
- ☞ Baldry M.G.C y French M.S. 1989. *Disinfection of sewage effluent with peracetic acid*. Water Sci. Technol., 22(3):203-206.
- ☞ Beer C. W. 2003. *Recreational water disinfection by copper/silver ions (Synergistically with chlorine)*. [en línea] [16 diciembre 2003] Disponible en: <http://www.biophysica.com/microbiology.html>
- ☞ Bitton G. 1994. *Wastewater Microbiology*. John Wiley and Sons. Inc. USA. Pp. 101-111.
- ☞ Blanc D.S., Carrara P.H., Zanetti G. y Francioli P. 2005. *Water disinfection with ozone, copper and silver ions, and temperature increase to control Legionella: seven years of experience in a university teaching hospital*. J. of Hosp. Infect., 60(1):69-72.
- ☞ Bloomfield S.F. 1991. *Methods for assessing antimicrobial activity*. En: Mechanisms of action of chemical biocides. Their study and exploitation. The society for applied bacteriology Technical series No. 27. Editado por S. P. Denyer and W. B. Hugo. Blackwell scientific publications. Oxford. Gran Bretaña. Pp 1-21.
- ☞ Blumenthal U.J., Duncan M.D., Peasey A., Ruiz-Palacios G. y Stott R. 2000. *Guidelines for the microbiological quality of treated wastewater used in agriculture: recommendations for revising WHO guidelines*. Bulletin of the WHO., 78(9):1104-1116.
- ☞ Bragg P.D. y Rainnie D.J. 1974. *The effect of silver ions on the respiratory chain of Escherichia coli*. Can. J. Microbiol., 20:883-889.
- ☞ Brix H. 1994. *Capítulo 12: Vertical flow and multi-stage constructed wetlands*. En: Role of Wetlands for the Control of Pollution. Cursos impartido por CHEAM-IAWQ. Zaragoza, España. Pp. 226-246.
- ☞ Brooks A.S., Rozenwald M.N., Geohring L.D., Lion L.W. y Steenhuis T.S. 2000. *Phosphorus removal by wallastonite: A constructed wetland substrate*. Ecol. Eng., 15:121-132.

- ☞ Brown E.G., Stencel J.R. y Jaffé P.R. 2002. *Effect of porous media preparation on bacterial transport through laboratory columns*. Water Res., 36:105-114.
- ☞ Butkus M.A., Labare M. P., Starke J. A., Moon K. y Talbot M. 2004. *Use of aqueous silver to enhance inactivation of coliphage MS-2 by UV disinfection*. Appl. Environ. Microb., 70(5):2848-2853.
- ☞ Campos C. 2003. *Capítulo 21. Comportamiento de los indicadores de contaminación fecal en los diferentes sistemas de desinfección*. En: Agua potable para comunidades rurales, reuso y tratamientos avanzados de aguas residuales domésticas [Libro digital]. C. D. Delgado (ed.). CYTED, México, Pp. 230-239.
- ☞ Cardot C. 1999. *Capítulo IV: Desinfección*. En: Les Traitements de L'eau. Proc'edes Physico- Chimiques et Biologiques Cours et Problèmes Résolus. Ellipses. Paris, Francia. Pp. 55-70.
- ☞ Cassells J.M., Yahya M.T., Gerba C.P. y Rose J.B. 1995. *Efficacy of combined system of copper and silver and free chlorine for inactivation of Naegleria Fowleri amoebas in water*. Water Sci. Technol., 31(5-6):119-122.
- ☞ Collado L.R. 1992. *Depuración de aguas residuales en pequeñas comunidades*. Colegio de Ingenieros de Caminos Canales y Puertos. Colección Señor No. 12 Editorial Paraninfo S.A. Madrid, España. Pp.49-72.
- ☞ Collivignarelli C., Bertanza G. y Pedrazzani R. 2000. *A comparison among different wastewater disinfection systems: Experimental results*. Environ. Technol., 21:1-16.
- ☞ CRM. 2002. *Capítulo VII: Centros productores. PLATA*. En: Anuario estadístico de la Minería Mexicana, 2001. Consejo de recursos minerales. Secretaría de Economía. México, D.F. Pp. 397-398.
- ☞ Cuenca A. E., Riestra D. D., Pérez M. J., Echegaray A. A. 2001. *Uso de aguas residuales y control de organismos patógenos en la producción de cebolla*. Agrociencia, 35:255-265.
- ☞ Dana S. E. y Ford W. E. 1984. *Tratado de Mineralogía. Mineralogía Descriptiva*. Cia. Editorial Continental, S. A. De C. V. México, D. F. 11ª Impresión. Pp. 446-498.
- ☞ Daniel, W.W. 2002. *Bioestadística. Base para el análisis de las ciencias de la salud*. Limusa Wiley. México, D. F. 4ª Edición. Pp. 658-736.
- ☞ Dantz A. 1999. *What really kills those germs?*. [en línea]. [22 Noviembre 1999]. Disponible en: [http://www.parish-supply.com/what\\_really\\_kills\\_those\\_germs.htm](http://www.parish-supply.com/what_really_kills_those_germs.htm).
- ☞ Davies R.L. y Etris, S.F. 1997. *The development and function of silver in water purification and disease control*. Catal. Today, 36:107-114.
- ☞ Droste R.L. 1997. *Capítulo 16: Desinfección*. En: Theory and practice of water and wastewater treatment. John Wiley and Sons Inc. USA. Pp. 538.
- ☞ Dutka B.J. 1979. *Capítulo 18: Microbiological indicators, problems and potential of new microbial indicators of water Quality*. En: Biological Indicators of Water Quality. John Wiley & Sons. Great Britain. Pp.18-118-24.
- ☞ Encinas J.L.E. 2001. *Unidad de Microscopía Electrónica*. [en línea]. [24 Marzo 2001]. Disponible en: <http://www.geocities.com/CapeCanaveral/Lab/1987/fundam5.html>
- ☞ Escape, 1999. *Silver, Nature's Purifier*. [en línea]. [22 Noviembre 1999]. Disponible en: <http://www.escape.ca/-revive/purify.txt>.
- ☞ Etris S. 1997. *Silver ions from "oxides" kill bacterias faster, more effectively in pools: clinical trials also show promise as medicine*. Silver News desk. The silver institute. [en línea]. [29 Noviembre 1999]. Disponible en: <http://www.silverinstitut.org/silvnews/1997/4d1997.htm>.



- Flores J.O., De Vega M., Kuntz F.S. y Alizal L. 1999. *La minería en Zacatecas*. [en línea]. [Junio 2002]. Disponible en: [http://lectura.ilce.edu.mx:300/sites/estados/libros/zacateca/htm/sec\\_26.htm](http://lectura.ilce.edu.mx:300/sites/estados/libros/zacateca/htm/sec_26.htm).
- Foust A.S., Wenzel L.A., Clump, C.W., Maus L. y Andersen L. B. 1990. *Apéndice B: Descripción de los sólidos en forma de partículas*. En: Principios de Operaciones Unitarias. Cia. Ed. Continental. México. 3ª Impresión. Pp. 697-712.
- Gallegos E., Warren A., Robles E., Campoy A., Calderón A., Sainz M., Bonilla P. y Escolero O. 1999. *The effects of wastewater irrigation on groundwater quality in Mexico*. Water. Sci. Technol., 40(2):45-52.
- García A.T. 1981. *Propiedades fisicoquímicas del suelo*. En: Experimentos en Microbiología del Suelo. CECSA. México, D. F. Pp. 28-31.
- Gaudy A.F. y Gaudy E.T. 1981. *Microbiology for environmental scientist and engineers*. McGraw Hill International. Tokio, Japón. Pp. 665-703.
- Gill J.L. 1978. *Volumen 1: Capítulo 1: Introduction and Review*. En: Design and Analysis of Experiments. In the Animal and Medical Sciences. The Iowa State University Press. USA. Pp. 52-53.
- Gill J. L. 1978a. *Volumen 3: Appendices*. En: Design and Analysis of Experiments. In the Animal and Medical Sciences. The Iowa State University Press. USA. Pp. 19-20
- Greenwood N.N y Earnshaw A. 1984. *Capítulo 28: Cobre, plata y oro*. En: Química de los Elementos. Pergamon, Press. Gran Bretaña. Pp.1364-1394.
- Gyürek L.L y Finch G.R. 1998. *Modeling water treatment chemical disinfection Kinetics*. J. Environ. Eng., 124(9):783-793.
- Harnett D. y Murphy J. 1987. *Capítulo13: Series cronológicas y números índices*. En: Introducción al análisis estadístico. Addison Wesley. México, D. F. P.p. 590-619.
- Hassen A., Heyouni A., Shayeb H., Cherif M. y Boudabous A. 2000 *Inactivation of indicators bacteria in wastewater by chorine-a kinetics study*. Bioresource Technol., 72:85-93.
- Holt J.G. 1994. *Group 5 Facultative anaerobic Gram negative rods*. En: Bergey's. Manual of determinative Bacteriology. Williams and Wilkins. 9a Ed. USA. Pp. 175-180
- Hurst C.J. 1997. *Capítulo 14: Overview of water microbiology as it relates to public health*. En: Manual of Environmental Microbiology. ASM Press. USA. Pp. 133-135.
- INEGI 2002. *Industria Minerometalúrgica en México. Boletines informativos Número 031*. [en línea]. [28 Marzo 2002]. Disponible en: <http://www.inegi.gob.mx/difusion/espanol/acercainegi/bolecon/minbol.html>.
- INEGI. 2002a. *El territorio y sus recursos*. Atlas de México, Estado actual del territorio. [en línea]. [28 Marzo 2002]. Disponible en: <http://www.inegi.gob.mx/territorio/español/prodyserv/atlas/geolog.htm>.
- INEGI. 2002b. *Geología de Zacatecas*. [en línea]. [28, Marzo,2002]. Disponible en: <http://zac.inegi.gob.mx/territorio/español/geolo.html>.
- Kasahara M. y Anraku Y. 1972. *Inhibition of the respiratory chain of Escherichia coli by Zinc ions*. J. Biochem., 72(3):777-781.
- Lau P.J. 1997. *Applying disinfection alternatives to wastewater treatment*. Pollution Engineering Online. [en línea]. [9 Noviembre 1999]. Disponible en: <http://www.manufacturing.net/magazine/polleng/archives/1997/pol0901.97/09akc1f0.html>.
- Lazarova V., Savoye P. y Janex M.L. 1999. *Advanced wastewater disinfection technologies: state of art and perspectives*. Water Sci. Technol., 40(4-5):203-213.

- 
- Liberti L., Notarnicola M. 1999. *Advanced treatment and disinfection for municipal wastewater reuse in agriculture*. Water. Sci. Technol., 40(4-5):235-245.
- Little M. 2004. *Antimicrobial powder coatings*. PF Online. [en línea]. [28 Noviembre 2004]. Disponible en: [http://www.pfonline.com/articles/article\\_print1.cfm](http://www.pfonline.com/articles/article_print1.cfm)
- López-Pila J.M., Dizer H. y Dorau W. 1996. *Wastewater treatment and elimination of pathogens: new prospects for an old problem*. Microbiologia, 12(4):525-536.
- Lurie J. 1978. *Handbook of Analytical Chemistry*. Mir Publishers. 2ª Impresión. Ex U.R.S.S. 300 p.
- Madigan M.T., Martinko J.M. y Parker J. 1999. Brock. Biología de los Microorganismos. Prentice Hall Iberia. 8ª Ed. Madrid, España. Pp. 56-58, 710-711.
- Margolin A.B. 1997. *Capítulo 20: Control of microorganisms in source water and drinking water*. En: Manual of Environmental Microbiology. ASM Press. USA. Pp. 195-202.
- Martínez P.F. 2001. *Paradigmas emergentes para el manejo del agua en el siglo XXI*. Ingeniería Hidráulica en México, XVI(4):127-143.
- Maskew F.G., Geyer J.C. y Okum D.A. 1971. *Capítulo 17: Disinfection*. En: Elements of water supply and water disposal. John Wiley and Sons Inc. 2ª. Ed. USA. Pp. 500-524.
- Melaiye A. y Youngs W.J. 2005. *Silver and its applications as an antimicrobial agent*. Expert Opin. Ther. Pat., 15(2):125-130
- Mesta H. A. 2001 Comunicación personal.
- Metcalf E. y Eddy C. 1996. *Capítulo 7: Procesos químicos unitarios*. En: Ingeniería de aguas residuales, tratamiento, vertido y reutilización. Vol. I. McGraw Hill Inc. 3ª Ed. México. Pp. 369-401.
- Miller J.C. y Miller J.N. 1993. *Capítulo 5: Errores en análisis instrumental; regresión y correlación*. En: Estadística para Química Analítica. Addison-Wesley-Iberoamericana. 2ª. Ed. U.S.A. Pp. 87-121.
- Moe C.L. 1997. *Capítulo 15: Waterborne transmission of infectious agents*. En Manual of Environmental Microbiology. ASM Press. USA. Pp.133-135
- Montgomery, D.C. 1991. *Capítulo 7. Introducción a los diseños factoriales*. En: Diseño y Análisis de Experimentos. Grupo Editorial Iberoamérica. México. Pp.194-197.
- Moreno B., Goñi F., Fernández, O., Martínez J.A. y Astigarraga M. 1997. *The disinfection of wastewater by ultraviolet light*. Water Sci. Technol., 35(11-12):233-235.
- Mujeriego R. y Asano T. 1999. The role of advanced treatment in wastewater reclamation and reuse. Water Sci. Technol., 40(4-5):1-9.
- Nataro P.J. y Kaper J. B. 1998. *Diarrheagenic Escherichia coli*. Clin. Microbiol. Rev., II(1):142-201.
- Neidhardt F.C. 1996. *Capítulo 1: Enteric bacterial cell and the age of bacteria*. En: Escherichia coli and Salmonella. Cellular and Molecular Biology. ASM Press. 2ª. Edición, U.S.A. Pp. 1-3.
- Nies D.H. 2004. *Microbial heavy metal resistance: Molecular biology and utilization for biotechnological processes*. [en línea]. [24 Mayo 2004]. Disponible en: <http://binomie.mikrobiologie.uni-halle.de/Reviews/Review%201999.html>
- NOM-001-SEMARNAT-1996. Norma oficial mexicana que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales. Diario oficial de la federación. Junio 22 de 1997, México, D.F.
-

- ☞ NOM-003-SEMARNAT-1997. Norma oficial mexicana que establece los límites máximos permisibles de contaminantes para las aguas residuales tratadas que se reusen en servicios al público. Diario oficial de la federación. Septiembre 21 de 1998, México, D.F.
- ☞ Peavy S.H., Rowe R.D., Tchobanoglous G. 1985. *Capítulo 2: Water Quality: Definitions, characteristics and perspectives*. En: Water Resources and Environmental Engineering. Mac Graw Hill. U.S.A. Pp. 50-51
- ☞ Pedahzur R., Lev O., Fattal B. y Shuval H. 1995. *The interaction of silver ions and Hydrogen peroxide in the inactivation of E. coli: A preliminary evaluation of a new long acting residual drinking water disinfectant*. Water Sci. Technol., 31: 123-29
- ☞ Pedahzur R., Shuval H. y Ulitzur S. 1997. *Silver and hydrogen peroxide as potential drinking water disinfectant: their bactericidal effects and possible modes of action*. Water Sci. Technol., 35: 87-93
- ☞ Pernitsky D.J., Finch G.R., Huck P.M. 1995. *Disinfection kinetics of heterotrophic plate count bacteria in biologically treated potable water*. Water Res., 29(5):1235-1241.
- ☞ Pourbaix M. 1963. *Capítulo IV. Section 14.2 Argent*. En: Atlas D° equilibres electroquímicos. Gauthier. Paris Francia. Pp. 396.
- ☞ Rivera-Garza M., Olguín M.T., García-Sosa I., Alcántara D. y Rodríguez-Fuentes G. 2000. *Silver supported on natural Mexican zeolite as an antibacterial material*. Micropor. Mesop. Mat., 39:431-444.
- ☞ Saénz F.R. 1999. *Introducción y uso de aguas residuales tratadas en agricultura y acuicultura*. En: Riego y Salud. Modernización y Avances en el uso de Aguas negras para la irrigación. Intercambio de agua uso urbano y riego. CEPIS/OPS [en línea]. [30 julio 1999]. Disponible en: <http://www.cepis.org.pe/eswww/fulltext/repind53/rys/rys.html>.
- ☞ Sánchez T.N. 1997. *Alternativas de desinfección de agua*. Reporte técnico de vigilancia. V. 2 N. 5. Cuba. [en línea]. [16 Noviembre 1999]. Disponible en: <http://www.infomed.sld.cu/instituciones/uats/RTV/rtv0597.htm>.
- ☞ Schiller H. 1996. *Programa de implantación de técnicas naturales de tratamiento de efluentes con filtros Fito-Terrestres en la Provincia de Córdoba, República de Argentina*. Ingeniería Sanitaria y Ambiental, 28, Octubre. Buenos Aires, Argentina. Pp. 53-61.
- ☞ Schreurs W.J.A. y Rosenberg H. 1982. *Effect of silver ions on transport and retention of phosphate by Escherichia coli*. J. Bacteriol., 152 (1):7-13.
- ☞ Silver S. 2003. *Bacterial silver resistance: molecular biology and uses and misuses of silver compounds*. FEMS Microbiol. Rev., 27:341-353.
- ☞ SIREM. 2001. *Nota de la semana. La minería en México*. [en línea]. [7 Agosto 2002]. Disponible en: <http://www.sirem.com.mx/Notas/Nota201101.htm>.
- ☞ Skoog D.A. y Leary J. J. 1994. *Análisis Instrumental*. McGraw Hill Interamericana. 4a Ed. México, D.F. 935 p.
- ☞ Smith R.J., Kehoe S.C., McGuigan K.G. y Barer M.R. 2000. *Effects of simulated solar disinfection of water on infectivity of Salmonella typhimurium*. Lett. Appl. Microbiol., 31:284-288.
- ☞ Sobsey M. 1989. *Inactivation of health-related microorganism in water by disinfection processes*. Water Sci. Technol., 21 (3) Pp 179-195.
- ☞ Starodub M.E. y Trevors, J.T. 1990. *Silver accumulation and resistance in Escherichia coli R1*. J. Inorg. Biochem., 39:317-325.



- 
- Thompson N.R. 1975 *Capítulo 28: Silver*. En: *Comprehensive Inorganic Chemistry*. Pergamon Press Gran Bretaña. Pp. 79-128.
- Tilton R. C. y Rosenberg B. 1978. *Reversal of the silver inhibition of microorganism by agar*. *Appl. Environ. Microb.*, 35(6):1116-1120.
- Tobler D. y Warner L. 2005. *Nanotech silver fights microbes in medical devices*. Medical devicelink (MDDI). [en línea]. [28 Junio 2005]. Disponible en: <http://www.devicelink.com/mddi/archive/05/05/029html>.
- Tree J.A., Adams M.R. y Lees D.N. 1997. *Virus inactivation during disinfection of wastewater by chlorination and U.V. irradiation and the efficacy of F<sup>+</sup> bacteriophage as viral indicator*. *Water Sci. Technol.*, 35(11-12):227-232.
- Valcárcel M. 1999. *Capítulo II: Propiedades Analíticas* En: *Principios de Química Analítica*. Springer-Verlag Ibérica S.A. Barcelona, España. Pp. 80-85.
- Wang, J., Huang, C.P. y Pirestani D. 2003. *Interactions of silver with wastewater constituents*. *Water Res.*, 37:4444-4452.
- Woodward R.L. 1963. *Review of the bactericidal effectiveness of silver*. *J. Am. Water Works Ass.*, 55(7):881-886.

ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA

---

## ANEXO 1. EVALUACIÓN FÍSICOQUÍMICA DEL AGREGADO MINERAL NATURAL CON PLATA

La evaluación fisicoquímica realizada al agregado mineral natural con plata (AMNP) involucró el uso de diferentes técnicas para la determinación de los parámetros de interés, como fueron la densidad real y aparente, porcentaje de espacio poroso y composición química del mismo. Con respecto a este último parámetro, dado el origen de la muestra, se requirió del uso de técnicas como espectroscopia de absorción atómica, espectroscopia de emisión atómica (ICP- OES), microscopía electrónica de barrido y difracción de rayos X. El lote del material de prueba de una mina de Zacatecas, fue proporcionado por el Ing. Mesta Howard (2001). El Ing. Mesta comentó que este material contenía menos de 200 g por tonelada de plata y podrían encontrarse cristales de pyrargita en su estructura.

### A1.1. Materiales y métodos

#### A1.1.1. Materiales

Los materiales empleados para obtener los parámetros fisicoquímicos del AMNP se enumeran a continuación.

- a) Lote de AMNP.
- b) Molino de bolas.
- c) Serie de tamices: Tyler No 6 (3.36 mm. ó 0.132 pulg.), tamiz de 2 mm, Tyler No 18 (1 mm. ó 0.0394 pulg.), Tyler No. 28 (0.6 mm. ó 0.0234 pulg.).
- d) Probeta graduada de 10 ó 100 mL.
- e) Matraz aforado de 100 mL.
- f) Matraces erlenmeyer de 250 mL.
- g) Vidrio de reloj.
- h) Parrilla de calentamiento.
- i) Papel filtro.
- j) Agua destilada.
- k) Agua bidestilada, desionizada y libre de metales.
- l) Solución de HNO<sub>3</sub> suprapur 1:1 Merck.
- m) Estándares para espectroscopia de Fe, Cu, Zn, As, Ag, Hg, y Pb, todos Perkin Elmer.
- n) Balanza analítica y granataria.
- o) Formador de pastillas.
- p) Incubadora con agitación orbital G24 New Brunswick.
- q) Difractómetro Siemens D5000.
- r) Microscopio electrónico de barrido JEOL JSM 5900 LV (bajo vacío).
- s) Espectrofotómetro de absorción atómica Perkin Elmer modelo IC-3100, con lámpara de Ag.
- t) Espectrómetro de emisión óptica con plasma acoplado por inducción (ICP-OES), Perkin Elmer modelo 4300 DV.

u) Medidor de campo digital Corning M-90 (pH/oxígeno disuelto/conductividad) con electrodo para pH/mV/°C modelo 473619.

#### A1.1.2. Acondicionamiento del AMNP

El lote de AMNP estaba constituido por rocas de diferentes tamaños, como se muestra en la Figura A1.1. Para homogenizarlo, se procedió a disminuir el tamaño de las rocas grandes con un mazo y posteriormente fue procesado en un molino de bolas hasta alcanzar el tamaño de 2 mm. La separación por tamaños del AMNP molido se realizó empleando cuatro tamices de tamaños: Tyler No 6 (3.36 mm. ó 0.132 pulg.), tamiz de 2 mm, Tyler No 18 (1 mm. ó 0.0394 pulg.) y Tyler No. 28 (0.6 mm. ó 0.0234 pulg.). El material de prueba fue el obtenido en el segundo tamiz cuyo diámetro es de más de 2 mm y menor a 3.36 mm ( $>2 <3.36$ ), lo que se considera como un diámetro medio de 2.68 mm.

Empleando la técnica de cuarteos (Foust, 1990), se obtuvo una muestra representativa del AMNP del diámetro seleccionado para realizar las diferentes pruebas de esta tesis. La técnica de cuarteos consiste en repartir la muestra en muestras parciales. Primero se amontona el material que haya que partir, de forma tal que constituya un cono. Se aplasta el cono y se divide a través de su centro con una espátula, desplazando cuantitativamente hacia uno de los lados una mitad. Después cada una de las mitades se vuelve a partir en dos y con los cuatro cuartos se vuelven a formar dos montones que son cuarteados nuevamente. Esto se hace hasta tener la muestra parcial del tamaño deseado.

Para algunas determinaciones analíticas y pruebas fue necesario disminuir aún más el tamaño del AMNP, es por ello que el AMNP de tamaño  $>2 <3.36$  mm fue molido en un mortero de porcelana para obtener un polvo muy fino que pasó la malla Tyler 30 (diámetro menor a 0.6 mm). Este polvo de AMNP fue procesado dependiendo de los requerimientos de las técnicas analíticas empleadas.



FIGURA A1.1. Diferentes tamaños del lote de AMNP.

#### A1.1.3. Determinación de los parámetros físicos

En la obtención de los parámetros físicos se recurrió a las técnicas descritas por García, (1981), la muestra a analizar fue el AMNP de diámetro  $> 2 < 3.36$  mm.



### A1.1.3.1. *Determinación de la densidad aparente*

- I) Pesar una probeta de 10 ó 100 mL vacía, agregar el material al cual se le determinará la densidad hasta los 10 ó 100 mL, golpeando ligeramente 10 veces sobre la mesa del laboratorio, agregar de muestra lo que falte para los 10 ó 100 mL, pesar la probeta con la muestra.
- II) La densidad aparente se calcula con la siguiente fórmula:

$$\text{Densidad aparente (D.A.)} = \frac{A - B}{V} = \text{g/cm}^3 \text{ o g/mL}$$

Donde: A = peso de la probeta más suelo.  
 B = peso de la probeta vacía.  
 V = volumen (10 ó 100 mL).

### A1.1.3.2. *Determinación de la densidad real*

- I) Pesar un matraz aforado de 100 mL vacío y adicionar 5 g de muestra. Añadir una tercera parte de agua destilada. Cuidando de no mojar el matraz por fuera, hacer un movimiento de rotación suave para desalojar el aire, dejar reposar 5 minutos y llenar de agua el matraz hasta el aforo. Pesar el matraz con la muestra y agua; pesar el matraz solamente con agua.
- II) La densidad real se calcula con la siguiente fórmula:

$$\text{Densidad real (D.R.)} = \frac{S}{S + A - (s + a)}$$

Donde: S = peso de la muestra (sola).  
 A = peso del agua (sola).  
 s+a = peso de la muestra más agua.

### A1.1.3.3. *Cálculo de la porosidad*

Con los datos obtenidos de la densidad aparente y densidad real, el porcentaje de espacio poroso o porosidad de la muestra se calcula empleando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Porosidad (P)} = 100 \times \left( 1 - \frac{DA}{DR} \right)$$

### A1.1.4. Composición química del AMNP

La complejidad del AMNP requirió del empleo de diferentes técnicas para conocer su composición química. Como primera aproximación se realizó un análisis petrográfico mediante una lámina delgada, posteriormente mediante un difractograma obtenido con la técnica de difracción de rayos X se determinaron las probables especies mineralógicas

presentes en el AMNP. La composición puntual se obtuvo empleando microscopía electrónica de barrido y por último la composición porcentual se obtuvo mediante las técnicas de espectroscopia de absorción atómica y de emisión atómica con plasma acoplado por inducción (ICP-OES).

#### A1.1.4.1. *Difracción de rayos X*

La difracción de rayos X es un método analítico para la identificación cualitativa de compuestos cristalinos presentes en una muestra sólida (Skoog y Leary, 1994). Se fundamenta en el hecho que cada sustancia cristalina da una única figura de difracción.

El equipo empleado fue un difractómetro Siemens D5000, con tubo de cobre, radiación  $\text{Cu } \alpha$ ,  $\lambda=1.5406$  y filtro de Ni, en el intervalo angular de  $2\theta$ , de  $2^\circ$  a  $90^\circ$ , en las condiciones normales de operación de 35 kV y 30 mA. En total se efectuaron dos difractogramas de dos muestras representativas diferentes.

#### A1.1.4.2. *Microscopía electrónica de barrido (SEM)*

El microscopio electrónico de barrido permite la visualización y análisis morfológico de muestras biológicas y minerales, así como, químico elemental de muestras minerales (Madigan *et al*, 1999; Encinas, 2001). La técnica consiste en hacer incidir sobre la muestra un haz de electrones (Skoog y Leary, 1994).

Puesto que en el equipo no es posible introducir polvos ya que trabaja al vacío, fue necesario compactar el polvo del AMNP menor a 0.6 mm, en un formador de pastillas usando como aglutinante agua destilada, desionizada y libre de metales. Una vez seca la pastilla de diámetro aproximado de 2 cm, fue recubierta con una película de carbono en un evaporador de carbono. El equipo utilizado para el estudio fue un microscopio electrónico de barrido marca JEOL JSM 5900 LV (bajo vacío), con aplicaciones especializadas tanto de procesamiento de imágenes como de análisis elemental donde mediante el uso del software del equipo se analizaron cualitativa y cuantitativamente 19 zonas diferentes de la pastilla obtenida.

#### A1.1.4.3. *Espectroscopia de absorción atómica y espectroscopia de emisión atómica*

La técnica de espectroscopia atómica, se basa en la absorción, emisión de átomos o iones elementales (Skoog y Leary, 1994). Mediante un adecuado tratamiento térmico que convierte los componentes de una muestra en átomos o iones elementales gaseosos se genera una señal, con la cual, es posible determinar uno o varios de los elementos presentes en una muestra.

Como primera aproximación mediante la técnica de espectroscopia de absorción atómica de flama se obtuvo la concentración de plata del AMNP. El equipo empleado fue un espectrofotómetro Perkin Elmer modelo IC-3100, con lámpara de Ag y la mezcla de gases aire acetileno. Posteriormente empleando la técnica de espectroscopia de emisión atómica (APHA, 1997), se obtuvo la concentración multielemental del AMNP, el equipo empleado es un espectrómetro de emisión óptica con plasma acoplado por inducción (ICP-OES) Perkin Elmer modelo 4300 DV. La determinación se realizó por duplicado, a la solución

obtenida de la digestión abierta de un gramo del AMNP menor a 0.6 mm. El procedimiento seguido se describe a continuación:

- I) Se colocó un gramo del AMNP en un matraz erlenmeyer de 250 mL, con 100 mL de HNO<sub>3</sub> suprapur marca Merck, en dilución 1:1.
- II) Se tapó con un vidrio de reloj y se colocó en una parrilla de calentamiento por 6 horas manteniendo una temperatura de 120 °C.
- III) Una vez frío se filtra el contenido del matraz usando papel filtro.
- IV) Se recoge la solución en un matraz volumétrico de 100 mL y se diluye a volumen con agua bidestilada y desionizada.
- V) Esta solución es introducida directamente en los equipos y por medio del software de los mismos y de la comparación con diferentes patrones de calibración se determina la concentración de los diferentes metales.
- VI) Preparación de los patrones de calibración:
  1. Se partió de soluciones madres de 1000 mg/L, para los elementos en estudio. Con ellas se elaboraron disoluciones de concentraciones baja, media y alta para cada uno de los metales. Todas las soluciones patrón, muestras y el blanco se prepararon con agua bidestilada, desionizada y libre de metales.
  2. Para el Fe las concentraciones patrón fueron 0.1, 1.0 y 10.0 mg/L, para el Cu 0.5, 1.0 y 5.0 mg/L, para el Zn 0.4, 0.8 y 4.0 mg/L, para el As y la Ag 0.2, 0.4 y 2.0 y por último para el Pb 0.06, 0.12 y 0.6 mg/L.
- VII) Cálculo de los límites de detección y cuantificación.

Los límites de detección y cuantificación se calcularon mediante el ajuste de mínimos cuadrados de la recta de calibración y el análisis estadístico de los resultados obtenidos de la señal producida por el equipo determinada en cada una de las concentraciones patrón, empleando las siguientes fórmulas (Miller y Miller, 1993; Valcárcel, 1999):

$$\text{(Límite de Detección) } LD = \frac{3S_a}{b}$$

$$\text{(Límite de Cuantificación) } LC = \frac{10S_a}{b}$$

Donde:  $LD$  = Límite de detección (concentración de analito que origina una señal que puede diferenciarse estadísticamente de la señal blanco).

$LC$  = Límite de cuantificación (concentración de analito que origina una señal que puede considerarse el límite inferior del rango lineal).

$b$  = Pendiente de la recta de calibración:  $(A) = b \times (C) + a$ , se calcula mediante la fórmula:

$$b = \frac{\sum_i \{(C_i - \bar{C})(A_i - \bar{A})\}}{\sum_i (C_i - \bar{C})^2}$$

$A$  = Señal producida por el equipo.

$\bar{A}$  = Señal promedio.

$C$  = Concentración del elemento patrón (mg/L).

$\bar{C}$  = Concentración promedio del elemento patrón (mg/L).



$a$  = Ordenada en el origen de la recta, calculada como:  $a = \bar{A} - b\bar{C}$

$r$  = Coeficiente de correlación:

$$r = \frac{\sum_i \{(C_i - \bar{C})(A_i - \bar{A})\}}{\left\{ \left[ \sum_i (C_i - \bar{C})^2 \right] \left[ \sum_i (A_i - \bar{A})^2 \right] \right\}^{1/2}}$$

$S_a$  = Desviación estándar de la ordenada en el origen de la recta de calibración, calculada como:

$$S_a = S_{A/C} \left\{ \frac{\sum_i C_i^2}{n \sum_i (C_i - \bar{C})^2} \right\}^{1/2}$$

$S_b$  = Desviación estándar para la pendiente de la curva de calibración, calculada como:

$$S_b = \frac{S_{A/C}}{\left\{ \sum_i (C_i - \bar{C})^2 \right\}^{1/2}}$$

$S_{A/C}$  = Estadístico que relaciona los errores aleatorios mediante los residuos  $(A - \hat{A})$

$$S_{A/C} = \left\{ \frac{\sum_i (A - \hat{A})^2}{n - 2} \right\}^{1/2}$$

$\hat{A}$  = Valor de la señal producida por el equipo ajustada, se calcula a partir de la recta de calibración.

#### A1.1.4.4. Capacidad de disolución del AMNP en ARPTE

Un aspecto importante a evaluar es que elementos que constituyen al AMNP son solubles en el agua de prueba ARPTE (agua residual parcialmente tratada y estéril). Para ello 81.6 g de AMNP menor a 0.6 mm, se colocaron en un matraz erlenmeyer con 150 mL de ARPTE. El matraz se puso en una agitadora ambiental a una velocidad de agitación de 250 rpm y 37 °C, durante un lapso de tiempo de 2 meses. Como testigo se colocó un matraz conteniendo ARPTE. Pasados los dos meses se filtró en papel filtro el agua del matraz que contenía el AMNP y se analizaron las muestras empleando la técnica de espectroscopia de emisión atómica con plasma acoplado inductivamente (ICP –OES).

## A1.2. Resultados

### A1.2.1. Densidad aparente, real y porcentaje de espacio poroso

Los resultados obtenidos del promedio de 5 determinaciones de estos parámetros al AMNP de diámetro >2 <3.36 mm, se presentan en la Tabla A1.1. El intervalo de confianza se calculó empleando la fórmula siguiente (Gill, 1978):

$$\mu \pm t_{\alpha/2, n-1} (s / \sqrt{n})$$

Donde:  $\mu$  = Promedio o media muestral.  
 $t$  = Valor de la distribución de Student.  
 $s$  = Desviación estándar.  
 $\alpha$  = Porcentaje de confiabilidad.  
 $n$  = Número de datos de la muestra.

TABLA A1.1. DENSIDAD APARENTE, REAL Y %POROSIDAD DEL AMNP

	Promedio	Desviación estándar	Intervalo de confianza <sup>a</sup>
DA (g/cm <sup>3</sup> )	1.2888	0.0082	1.2888 ± 0.0102
DR	2.18	0.17	2.18 ± 0.21
% P	40.88		

Nota: <sup>a</sup>Con un 95% de confiabilidad el valor de  $t_{(0.025,4)}$  es de 2.776, Tabla A.4. Gill (1978a).

### A1.2.2. Análisis petrográfico

El análisis visual del AMNP indicó que este material provenía de una zona con alta alteración hidrotermal. Es por ello que como una primera aproximación se realizó el análisis petrográfico del AMNP mediante una lámina delgada de una de las rocas de la muestra (Figura A1.2). En ella se observó una sección en forma de filamento, la cual está constituida por minerales oscuros con probables óxidos de Hierro, mezclados con minerales de cuarzo; también puede contener sulfuros de Hierro y/o Zinc que posiblemente podría ser esferalita (ZnS).



FIGURA A1.2. Lámina delgada del AMNP.

### A1.2.3. Difracción de rayos X

Los difractogramas obtenidos fueron medidos con el fin de asignar los valores de las distancias interplanares correspondientes a las reflexiones (picos) y se muestran en la Figura A1.3. Los resultados de la determinación de las especies mineralógicas presentes en el AMNP se presentan en la Tabla A1.2.

TABLA A1.2. ESPECIES MINERALÓGICAS IDENTIFICADAS EN EL AMNP POR DIFRACCIÓN DE RAYOS X

Especie	Fórmula química	Observaciones
Cuarzo	SiO <sub>2</sub>	Cuarzo
Sanidina	K(Si <sub>3</sub> Al)O <sub>8</sub> ó (K,Na)Al Si <sub>3</sub> O <sub>8</sub>	En desorden, silicato
Nimita	(Ni,Mg,Al) <sub>6</sub> (Si,Al) <sub>4</sub> O <sub>10</sub> (OH) <sub>8</sub> ó (Ni,Mg,Fe <sup>2+</sup> ) <sub>5</sub> Al(Si,Al) <sub>3</sub> O <sub>10</sub> (OH) <sub>8</sub>	Silicato
Montmorillonita	Si-Al-Fe-Mg-O ó Ca <sub>0.2</sub> (Al,Mg) <sub>2</sub> Si <sub>4</sub> O <sub>10</sub> (OH) <sub>2.4</sub> H <sub>2</sub> O	Bentonita, silicato
Oxido de Hierro (III)	Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	Grupo de la hematites
Calcita	CaCO <sub>3</sub>	Carbonato de calcio

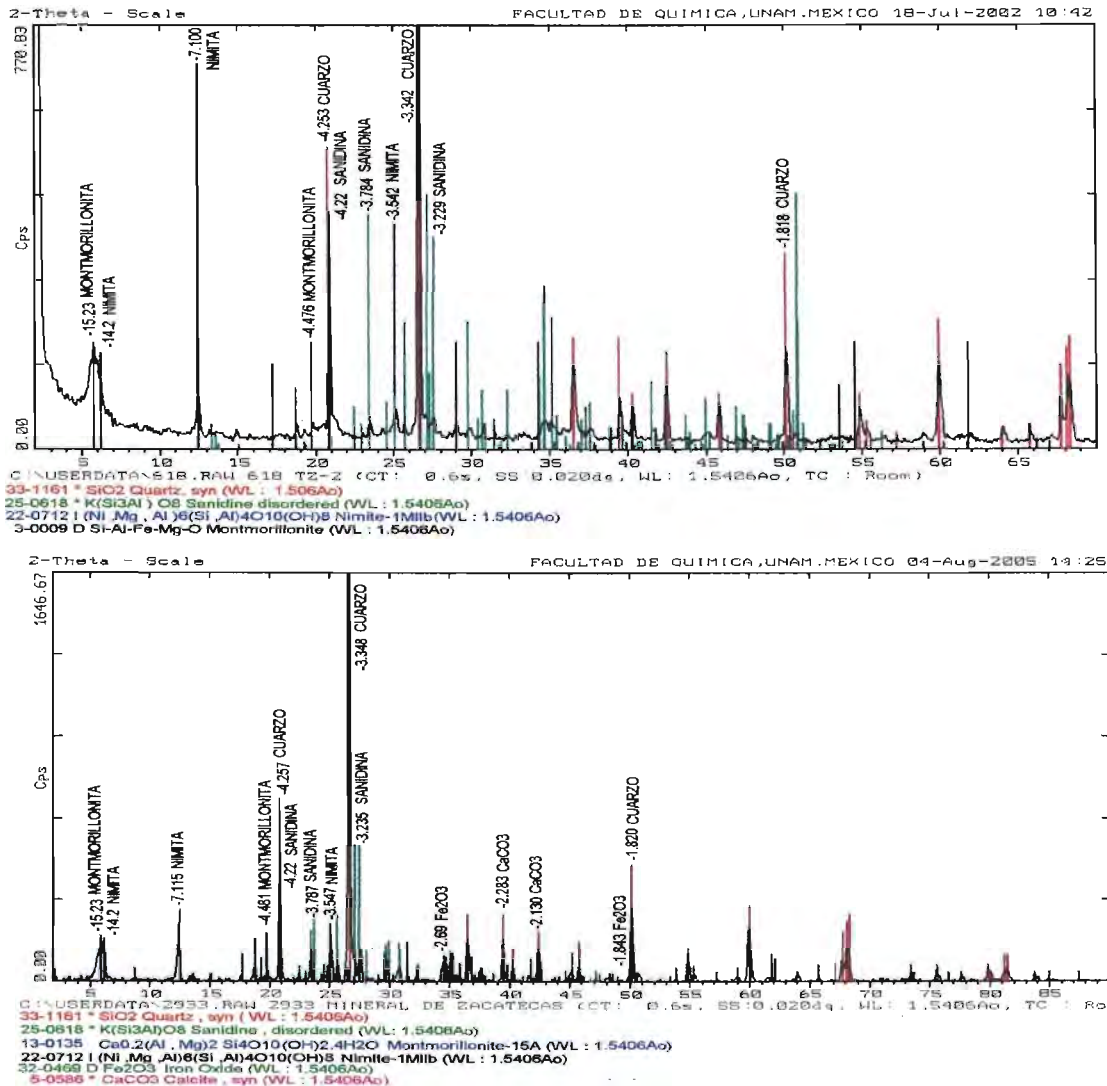


FIGURA A1.3. Difractogramas del AMNP.



## A1.2.4. Microscopía electrónica de barrido

Se revisaron un total de 19 zonas de la pastilla del AMNP, 3 de las cuales corresponden a zonas brillantes (17, 18 y 19). Los resultados del microanálisis puntual elemental de estas zonas se muestran en la Tabla A1.3, así como la energía del haz de electrones empleada para su obtención. En las Figuras A1.4 y A1.5 se presentan las microfotografías obtenidas de algunas zonas donde se observó Fe (zona 8), Ag (zona 7), Au (zona 10) y Pb (zona 9). Finalmente, en la Figura A1.6, se muestra la imagen de electrones retrodispersados de la zona 12 en donde las zonas claras corresponden a la Ag y, en la Figura A1.7 se presentan los espectros de dispersión de energías obtenidos en las zonas 6, 7, 10 y 11.

TABLA A1.3. ANÁLISIS CUANTITATIVO POR ZONAS DEL AMNP REALIZADO POR SEM

Zonas	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
Elemento	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%
C																	11.44	26.03	
O	50.18	17.94	40.5														57.47	71.52	32.32
Mg				2.13			2.27	0.54					2.71	1.25	2.86	1.84			
Al		0.31	0.11		1.73	11.26	3.82		1.01	0.57	5.13		6.74	5.15	4.69	6.79	6.05	1.23	1.15
Si		0.37	0.14		4.92	24.56	7.65	6.66	3.33	1.68		10.25	25.36	17.09	10.56	23.68	17.65	0.14	4.11
P																0.8			0.79
S	26.91		21.76				2.73		12.62	0.94	1.65	9.89							
K		0.68	0.32		0.56	2.66							3.1	1.91	0.76	0.91	7.41		
Ti									3.76										
V													7.88						
Fe	22.8	32.38	14.11	1.53	3.74	18.16	2.68	59.29	1.24	0.87	2.14	1.47	5.24	4.35	2.86	61.67			56.88
Cu				3.42					2.34										1.31
Zn				18.01	20			1.15					12.24			3.57			3.74
As					4.22	6.4					1.2								
Ag		49.54	23.56				80.57					79.31				1.54			
Au										95.83				69.86	78.05				
Hg											4.94								
Pb				75.17	64.82	36.07			75.39		84.94		38.17						
SUMA	99.89	101.2	100.5	100	99.99	99.11	99.72	67.64	99.69	99.89	100	100.9	101.4	99.61	99.78	100.8	100	98.92	100
Energía del haz (kv)	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	28	28	28	28	20	20	20

Nota: Los espacios vacíos corresponden a elementos no encontrados en la zona explorada.

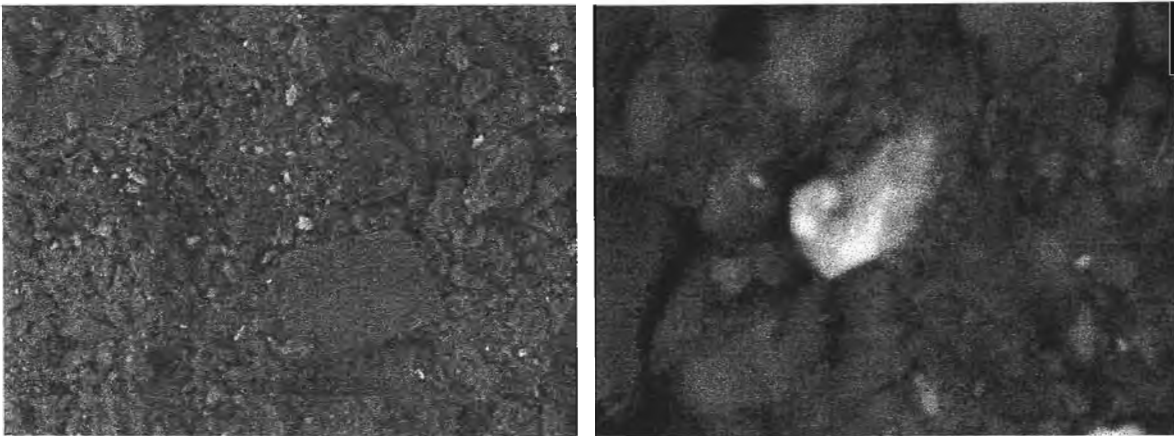


FIGURA A1.4. Izquierda microfotografía de la zona 8 con un contenido de Fe del 59.29%. Derecha microfotografía de la zona 7 con un contenido de plata del 80.57%.

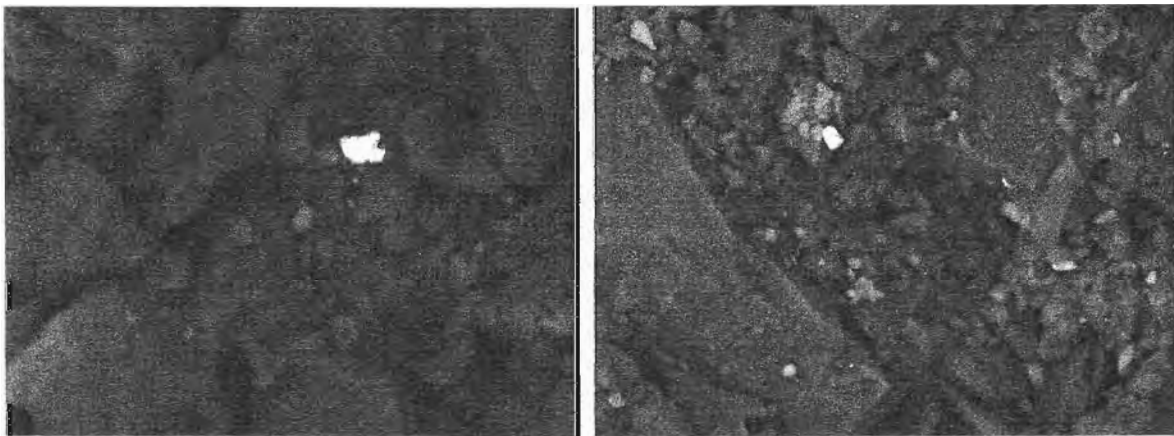


FIGURA A1.5. Izquierda microfotografía de la zona 10 con un contenido de oro del 95.83%. Derecha microfotografía de la zona 9 con un contenido de Pb del 75.39%.

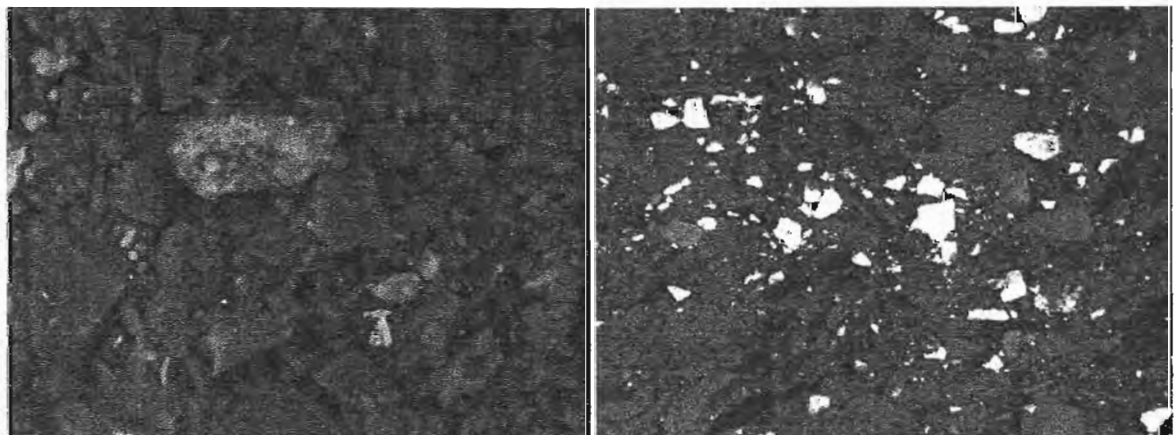


FIGURA A1.6. Izquierda Microfotografía de la zona 15 con un contenido de plata del 79.31%. Derecha imagen de electrones retrodispersados de la misma zona donde las partes claras corresponden a la Ag.

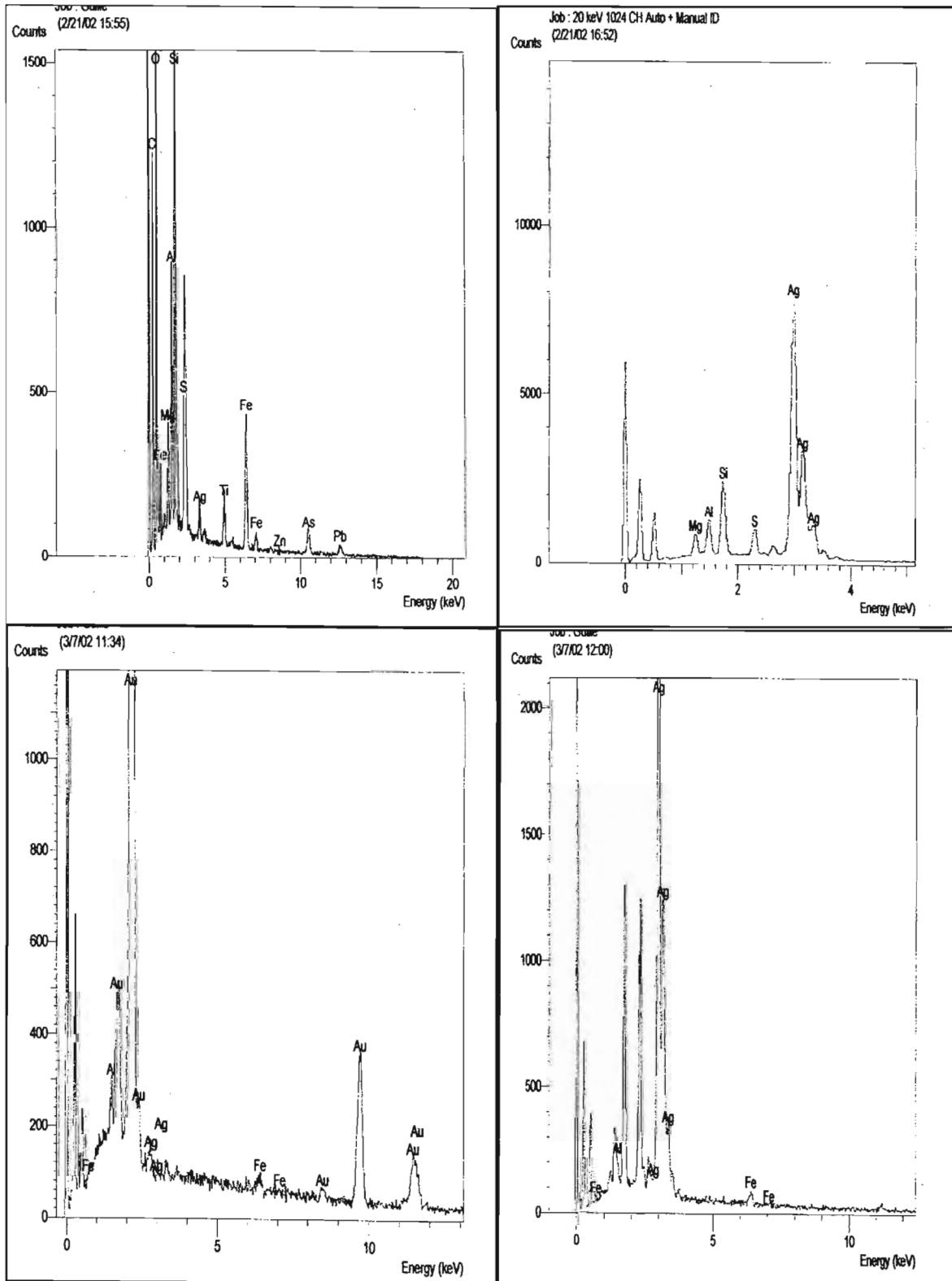


FIGURA A1.7. Difractogramas de las zonas 6, 7, 10 y 11 obtenidas por SEM mediante la señal de rayos X.



### A1.2.5. Concentración elemental del AMNP

Los resultados obtenidos con la técnica de espectroscopia de absorción atómica mostraron que el contenido de Ag en el AMNP era de 0.0159% w/w (159 ppm).

Los resultados del análisis multielemental obtenido con la técnica de espectroscopia de emisión atómica con plasma de acoplamiento inductivo (ICP-OES) se muestran en la Tabla A1.4. Es importante mencionar que la diferencia en cuanto a la concentración de Ag se debe a que esta técnica presenta una sensibilidad mayor que la espectroscopia de absorción atómica

**TABLA A1.4. COMPOSICIÓN PORCENTUAL DEL AMNP (ICP-OES)**

Elemento (%peso) (w/w)	Hierro	Cobre	Zinc	Arsénico	Plata	Plomo
Promedio de dos determinaciones	1.7800	0.0103	0.0743	0.0037	0.0101	0.0448

### A1.2.6. Capacidad de disolución del AMNP en el ARPTE

Los resultados de esta prueba se presentan en la Tabla A1.5, en ella se observa que solamente el Hierro y el Zinc tienen la capacidad de disolverse en el ARPTE, en concentraciones muy bajas. Los demás metales analizados no se disolvieron en el ARPTE bajo las condiciones de la prueba.

**TABLA A1.5. CAPACIDAD DE DISOLUCIÓN DEL AMNP EN ARPTE (ICP-OES)**

Elemento (mg/L)	Hierro	Cobre	Zinc	Arsénico	Plata	Plomo
MATRAZ TESTIGO	0	0	0	0	0	0
MATRAZ CON AMNP	0.126	0	0.1037	0	0	0
DIFERENCIA	0.126	0	0.1037	0	0	0

Es importante mencionar que en las Tablas A1.4 y A1.5, los resultados reportados como 0 indican que el valor obtenido se encuentra por debajo del límite de detección de la técnica. Los límites de detección (LD) y límites de cuantificación (LC) para los metales analizados se presentan en la Tabla A1.6:

**TABLA A1.6. LIMITES DE DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN PARA LA DETERMINACIÓN DE METALES CON LA TÉCNICA DE ESPECTROSCOPIA DE EMISIÓN ATÓMICA (ICP-OES)**

Elemento (mg/L)	Hierro	Cobre	Zinc	Arsénico	Plata	Plomo
LD	0.1067	0.0465	0.0937	0.0388	0.0178	0.0169
LC	0.3558	0.1554	0.3124	0.1294	0.0594	0.0563

## Anexo 2. DISEÑO Y CONSTRUCCIÓN DE LAS COLUMNAS EMPACADAS A PEQUEÑA ESCALA DE ALIMENTACIÓN CONTINUA

La realización de los experimentos con flujo continuo requirió modificar el diseño de las columnas empacadas a pequeña escala alimentadas por lotes (CAL), propuesto durante la fase de experimentación preliminar de esta Tesis, donde se adaptaron jeringas con esta función. Con base en esta experiencia y criterios propuestos en la bibliografía, el nuevo diseño involucró en primer lugar la determinación del flujo de alimentación de las columnas, para posteriormente proceder a la construcción y montaje de las mismas, así como, de los equipos auxiliares para su alimentación.

### A2.1. Determinación del flujo de alimentación

La ecuación de diseño que se utilizó para calcular el flujo promedio de ARE a través de la columna es la sugerida por Brooks *et al.* (2000), para el cálculo del tiempo de residencia hidráulico (TRH) en columnas. Esta ecuación involucra el uso tanto de la porosidad del material de empaque como la altura que alcanza el mismo dentro de la columna.

$$Q_{prom} = \frac{\pi r^2 h P}{TRH} \quad (a2.1)$$

Donde:  $Q_{prom}$  = Flujo promedio ( $\text{cm}^3/\text{min}$ ).  
 TRH = Tiempo de residencia hidráulico (min).  
 $r$  = Radio de la columna (cm).  
 $h$  = Altura del material de empaque en la columna (cm).  
 $P$  = Porosidad del material de empaque.

Los valores de las variables de esta ecuación fueron obtenidos en la fase de experimentación preliminar y durante la caracterización fisicoquímica del AMNP y son: TRH = 30 minutos,  $r = 0.9$  cm (radio interno de las jeringas), porosidad  $P = 40.88\%$  y altura del material de empaque  $h = 5.8$  cm. Sustituyendo los valores en la ecuación (a2.1):

$$Q_{prom} = \frac{\pi \times (0.9)^2 \times 5.8 \times 0.4088}{30} = 0.20 \text{ cm}^3 / \text{min}$$

se obtiene un flujo de  $0.2 \text{ cm}^3/\text{min}$ , que es el flujo objetivo en el nuevo diseño de las columnas empacadas a pequeña escala alimentadas en continuo (CAC).

---

## A2.2. Construcción de las columnas empacadas a pequeña escala alimentadas en continuo (CAC)

### A2.2.1. Materiales

Los materiales empleados para la construcción de las CAC así como los aditamentos requeridos para su dosificación se enlistan a continuación:

#### a) *Columnas formadas por:*

- Tubo de acrílico de 3 cm de diámetro externo, 2.5 cm de diámetro interno y 15 cm de altura.
- Embudo de plástico.
- Media esfera de fibra de poliéster.
- Llaves de tres vías de globo y aguja.
- Tapones de hule.
- Matraces erlenmeyer de 500 mL.
- Soporte Universal.

#### b) *Sistema de alimentación:*

- Tanque de alimentación de PVC.
- Dosificador de ajuste manual.
- Llave de globo.
- Tubo de infusión de 12" con aguja de  $23 \times \frac{3}{4}$ .

#### c) *Sistema de agitación constituido por:*

- Motor de un ventilador.
- Varilla recubierta de plástico con tres hélices de plástico.

### A2.2.2. Columnas

Dos factores importantes a considerar en el diseño de las columnas son el efecto de pared (escurrimiento por las paredes de la columna) y la formación de canalizaciones en el lecho. Este tipo de efectos indeseables se evitan proporcionando al interior de las columnas una superficie irregular y manteniendo el lecho inundado.

Con base en la experiencia adquirida en la construcción de las columnas empacadas a pequeña escala alimentadas por lotes (CAL), en el nuevo diseño se emplearon tubos de acrílico de 3 cm de diámetro externo, 2.5 cm diámetro interno y 15 cm de altura. El efecto de pared se eliminó al aplicar 5 capas de silicón en la parte interior de las columnas, formando una superficie irregular y disminuyendo el diámetro interno a 2 cm, como se muestra en el corte longitudinal de la Figura A2.1. La base de la columna (CAC) fue un embudo de plástico y dentro del embudo se colocó una media esfera de fibra de poliéster la cual funcionó tanto como relleno de la zona cónica del embudo como soporte del material de empaque. El control del flujo de salida se realizó con dos llaves de tres vías en serie colocadas en la boca del embudo, la primera de globo y la segunda de aguja, como se



muestra en la foto inferior derecha de la Figura A2.2. Esta segunda llave se introdujo en el centro de un tapón de hule colocado sobre un matraz erlenmeyer de 250 mL que funcionó de recipiente recolector. La foto central de la Figura A2.2 muestra el montaje completo de las CAC.

Con esta configuración la altura del material de empaque disminuye a 5.4 cm, por lo que el flujo calculado con la ecuación (a2.1), es de  $0.23 \text{ cm}^3/\text{min}$ .

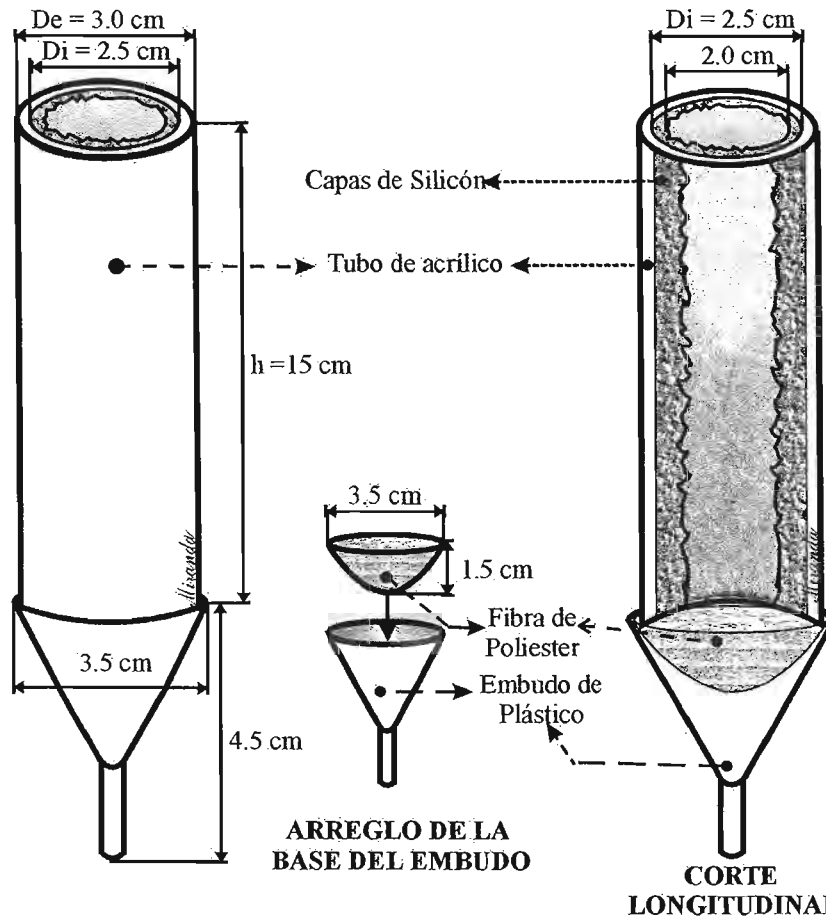


FIGURA A2.1 Esquema mostrando la construcción de las columnas empacadas a pequeña escala alimentadas en continuo (CAC).

### A2.2.3. Sistema de alimentación

El sistema de alimentación de las CAC se construyó con un tanque de PVC, un equipo de dosificación de ajuste manual, una llave de globo y un tubo de infusión de 12'' con aguja de  $23 \times \frac{3}{4}$ , como se presenta en las fotos del lado izquierdo de la Figura A2.2. En la parte inferior del tanque se introdujeron tres tapones de hule como base del equipo de dosificación. El control del flujo se realizó con la llave de globo y el tubo de infusión que al tener un diámetro menor provocó la disminución del flujo. La aguja del tubo de infusión se introdujo en la parte superior de la columna detenida por un cilindro hueco de plástico que también hizo las funciones de tapa de las CAC.

## A2.2.4. Sistema de agitación

Como sistema de agitación se adaptó el motor de un ventilador al cual se alargó su eje con una varilla recubierta de plástico y en la parte final del eje se colocaron tres hélices también de plástico, como se muestra en la foto superior derecha de la Figura A2.2.

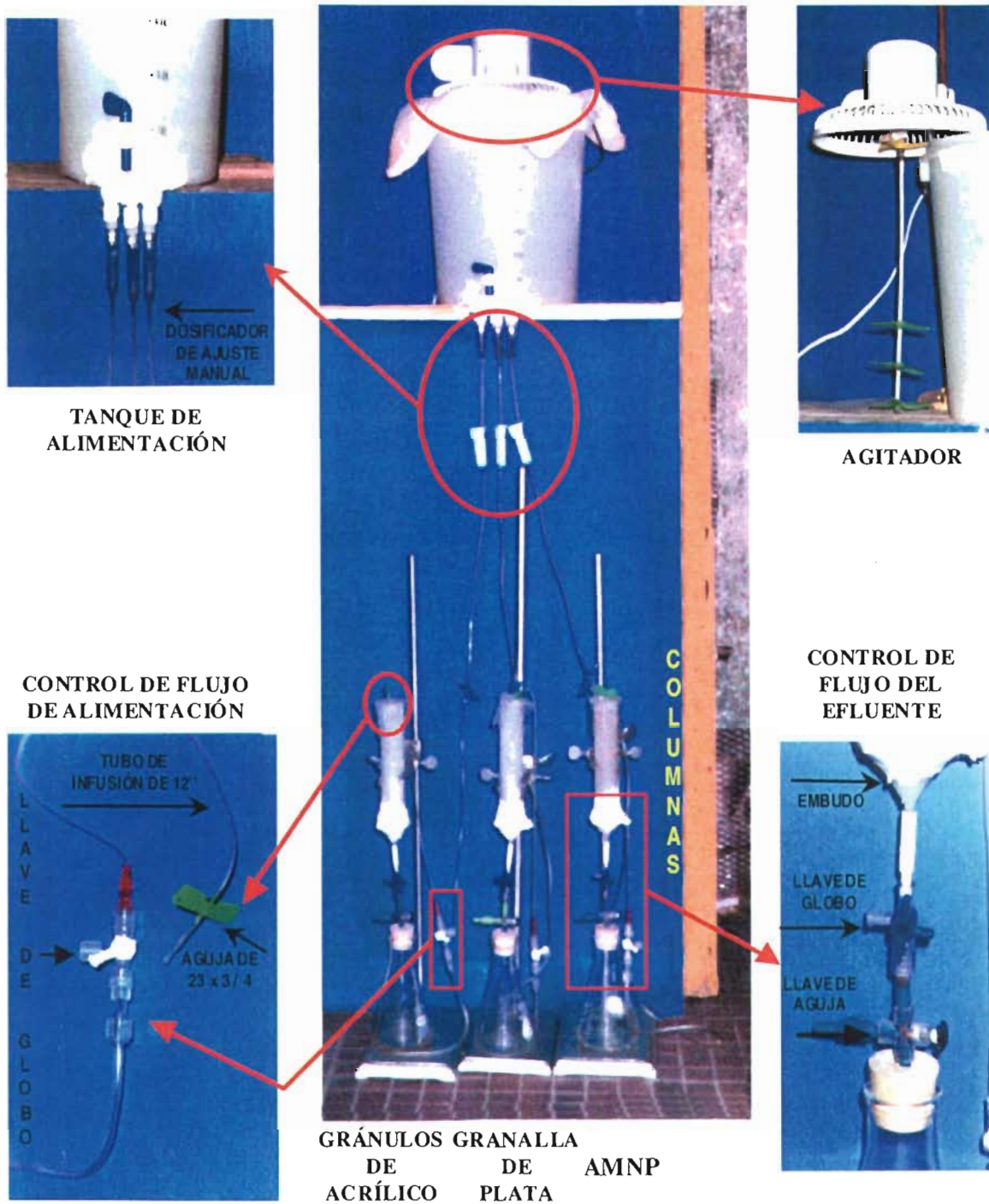


FIGURA A2.2. Fotografías del montaje de las columnas (CAC) mostrando sus diversos componentes.

---

## Anexo 3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS EXPERIMENTALES

En función de los factores a analizar se empleó uno de los dos tipos de diseños experimentales siguientes:

- 1) El diseño unifactorial, donde el factor a analizar es el tratamiento aplicado, es decir, concentración de plata coloidal o tipo (granalla de plata o AMNP).
- 2) El diseño tipo factorial con una observación por celda (Gill, 1978; Montgomery, 1991), en el cual, los factores analizados fueron el tipo de plata empleado (ya sea tipo de presentación o concentración) y el tiempo de contacto entre la plata y el ARE.

En ambos casos la variable de respuesta fue el resultado promedio de dos determinaciones de la cuenta en placa realizada en cada prueba (UFC/mL de *E. coli*). La adecuación de los modelos se comprobó mediante el análisis de residuos (Gill, 1978) y comprobación de la normalidad y homogeneidad de variancias, además, para el diseño factorial se aplicó la prueba de no aditividad de Tukey (Montgomery, 1991). Las diferencias entre tratamientos, es decir, diferencias del efecto desinfectante, fueron exploradas mediante el análisis de variancia (ANOVA) empleando el programa SPSS versión 11.0 y las pruebas LSD (diferencia mínima significativa) y Tukey. En los casos en que los supuestos del modelo no se cumplieron se realizó una transformación de los datos obtenidos o el análisis no paramétrico de los mismos.

### A3.1. Resultados del análisis estadístico pruebas con plata coloidal

Se plantean principalmente dos hipótesis a probar, las cuales son:

$H_{01}$ : No existe diferencia entre los tratamientos.

Lo anterior indicaría que la Ag coloidal no presentó efecto desinfectante.

$H_{02}$ : No existe diferencia en la desinfección con respecto al tiempo de contacto.

Lo que implica que la acción desinfectante no depende del tiempo de contacto entre el desinfectante y el microorganismo.

#### A3.1.1. Análisis estadístico de los resultados obtenidos pruebas “a”, “b”, “c” y “d”

El análisis estadístico empleado en esta parte es el de tipo factorial con una sola observación por celda. En este diseño se debe descartar el efecto de interacción entre tratamientos e individuos empleando la prueba de no aditividad de Tukey (Montgomery, 1991), la homogeneidad de la variancia mediante el procedimiento propuesto por Anscombe y Tukey (Gill, 1978) y la normalidad mediante la prueba de Shapiro y Wilk (Gill, 1978; Montgomery, 1991). Los resultados de estas pruebas se presentan en la Tabla A3.1. En ella se puede observar que los resultados obtenidos presentan variancia homogénea y distribución normal, además de que no proporcionan evidencia de interacción



por lo que los efectos principales debidos a las diferentes concentraciones de Ag coloidal y al tiempo de contacto son significativos.

TABLA A3.1. RESULTADOS ADECUACIÓN DEL MODELO PRUEBAS “a” Y “b”

PRUEBA	Homogeneidad de variancias		Prueba de no aditividad		Shapiro y Wilk	
	$F_0$	Variancia homogénea	$F_0$	Interacción nula	W	Distribución normal
PRUEBA “a”	$F_0=0.523$ vs $F_{(0.05,1,6)}=5.990^a$	Variancia homogénea	$F_0=0.022$ vs $F_{(0.25,5)}=1.69^a$	Interacción nula	$W=0.91$ vs $W_{(12,0.05)}=0.859^b$	Distribución normal
PRUEBA “b”	$F_0=0.078$ vs $F_{(0.05,1,6)}=5.990^a$	Variancia homogénea	$F_0=0.0043$ vs $F_{(0.25,5)}=1.69^a$	Interacción nula	$W=0.97$ vs $W_{(12,0.05)}=0.859^b$	Distribución normal
Comparación Prueba “a” vs “b”	$F_0=2.04$ vs $F_{(0.05,1,10)}=4.96^a$	Variancia homogénea	$F_0=0.11$ vs $F_{(0.25,9)}=1.51^a$	Interacción nula	$W=0.90$ vs $W_{(18,0.05)}=0.897^b$	Distribución normal

Notas: <sup>a</sup>Tabla A.5.1 y <sup>b</sup>Tabla A.13.2, Apéndice A Gill, (1978a).

En las Tablas A3.2 y A3.4 se presentan los resultados del análisis de variancia para la prueba “a” y “b” respectivamente y en las Tablas A3.3 (prueba “a”) y A3.5 (“prueba “b”) la comparación múltiple de medias empleando las pruebas de Tukey y LSD, obtenidas con el programa SPSS mediante el análisis GLM (modelos lineales generales).

Para la prueba “a”, se observa que existió diferencia significativa entre los tratamientos, con un nivel de significación de 0.05 ( $\alpha=0.05$ ,  $P<9.7 \times 10^{-11}$ ), por lo que se rechaza la hipótesis  $H_{01}$ . En el caso del tiempo de contacto la diferencia entre ellos se exploró con un nivel de significación de 0.15, encontrándose estadísticamente diferentes ( $\alpha=0.15$ ,  $P<0.129$ ,  $F_0=2.939 > F_{(0.15,2,6)}=2.646$ ), rechazándose la hipótesis  $H_{02}$ . La comparación múltiple de medias (Tabla A3.3) demostró que existió un efecto desinfectante al ser los tratamientos diferentes al testigo y en cuanto al tiempo de contacto la desinfección alcanzada en el tiempo de contacto de un minuto es diferente con respecto a la alcanzada a los 30 minutos con el método de Tukey, mientras que con el método LSD se obtuvo que la desinfección lograda en el tiempo de contacto de un minuto es significativamente diferente a los tiempos de contacto de 15 y 30 minutos.

Para la prueba “b”, se observó diferencia significativa entre los tratamientos con un nivel de significación de 0.05 ( $\alpha=0.05$ ,  $P<4.5 \times 10^{-7}$ ) y los diferentes tiempos de contacto con un nivel de significación de 0.10 ( $\alpha=0.10$ ,  $P<0.082$ ,  $F_0=3.915 > F_{(0.10,2,6)}=3.46$ ), por lo que nuevamente se rechazan las hipótesis  $H_{01}$  y  $H_{02}$ . La comparación múltiple de medias (Tabla A3.5) demostró que existió un efecto desinfectante al ser los tratamientos diferentes al testigo y en cuanto al tiempo de contacto la desinfección alcanzada en el tiempo de contacto de un minuto es diferente con respecto a la alcanzada a los 30 minutos con el método de Tukey, mientras que con el método LSD se obtuvo que la desinfección lograda en el tiempo de contacto de un minuto es significativamente diferente a los tiempos de contacto de 15 y 30 minutos.

TABLA A3.2. TABLA DE ANOVA PARA LA PRUEBA "a"

Variable dependiente: F UFC/mL.

Fuente de Variación	Suma de Cuadrados Tipo III	Grados de libertad	Media de cuadrados	F <sub>0</sub>	Significación
Modelo corregido	221243.854 <sup>a</sup>	5	44248.771	3394.685	.000
Interceptar	76560.187	1	76560.187	5873.557	.000
D (Tiempo de contacto)	76.625	2	38.313	2.939	.129
E (Tratamiento)	221167.229	3	73722.410	5655.848	9.7E-11
Error	78.208	6	13.035		
Total	297882.250	12			
Total corregido	221322.063	11			

Nota: <sup>a</sup> R cuadrada = 1.000 (Ajuste de R cuadrada = 0.999).

TABLA A3.3. COMPARACIÓN MÚLTIPLE DE MEDIAS PARA LA PRUEBA "a"

Variable dependiente: F UFC/mL.

(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Diferencia media (I-J)	Error estándar	Sig.	95% Intervalo de confianza		
					Limite Inferior	Limite Superior	
<b>Tukey HSD</b>	1. Testigo	2. 0.05 mg/LAg	3.11E+02*	2.95E+00	0.0000	3.01E+02	3.21E+02
		3. 0.1 mg/LAg	3.15E+02*	2.95E+00	0.0000	3.04E+02	3.25E+02
		4. 0.5 mg/L Ag	3.15E+02*	2.95E+00	0.0000	3.05E+02	3.25E+02
	2. 0.05 mg/LAg	1. Testigo	-3.11E+02*	2.95E+00	0.0000	-3.21E+02	-3.01E+02
		3. 0.1 mg/LAg	3.83E+00	2.95E+00	0.5947	-6.37E+00	1.40E+01
		4. 0.5 mg/L Ag	4.17E+00	2.95E+00	0.5355	-6.04E+00	1.44E+01
	3. 0.1 mg/LAg	1. Testigo	-3.15E+02*	2.95E+00	0.0000	-3.25E+02	-3.04E+02
		2. 0.05 mg/LAg	-3.83E+00	2.95E+00	0.5947	-1.40E+01	6.37E+00
		4. 0.5 mg/L Ag	3.33E-01	2.95E+00	0.9994	-9.87E+00	1.05E+01
	4. 0.5 mg/L Ag	1. Testigo	-3.15E+02*	2.95E+00	0.0000	-3.25E+02	-3.05E+02
		2. 0.05 mg/LAg	-4.17E+00	2.95E+00	0.5355	-1.44E+01	6.04E+00
		3. 0.1 mg/LAg	-3.33E-01	2.95E+00	0.9994	-1.05E+01	9.87E+00
<b>LSD</b>	1. Testigo	2. 0.05 mg/LAg	3.11E+02*	2.95E+00	0.0000	3.04E+02	3.18E+02
		3. 0.1 mg/LAg	3.15E+02*	2.95E+00	0.0000	3.07E+02	3.22E+02
		4. 0.5 mg/L Ag	3.15E+02*	2.95E+00	0.0000	3.08E+02	3.22E+02
	2. 0.05 mg/LAg	1. Testigo	-3.11E+02*	2.95E+00	0.0000	-3.18E+02	-3.04E+02
		3. 0.1 mg/LAg	3.83E+00	2.95E+00	0.2412	-3.38E+00	1.10E+01
		4. 0.5 mg/L Ag	4.17E+00	2.95E+00	0.2072	-3.05E+00	1.14E+01
	3. 0.1 mg/LAg	1. Testigo	-3.15E+02*	2.95E+00	0.0000	-3.22E+02	-3.07E+02
		2. 0.05 mg/LAg	-3.83E+00	2.95E+00	0.2412	-1.10E+01	3.38E+00
		4. 0.5 mg/L Ag	3.33E-01	2.95E+00	0.9137	-6.88E+00	7.55E+00
	4. 0.5 mg/L Ag	1. Testigo	-3.15E+02*	2.95E+00	0.0000	-3.22E+02	-3.08E+02
		2. 0.05 mg/LAg	-4.17E+00	2.95E+00	0.2072	-1.14E+01	3.05E+00
		3. 0.1 mg/LAg	-3.33E-01	2.95E+00	0.9137	-7.55E+00	6.88E+00

Basado en medias observadas. \*La diferencia media es significativa al nivel de 0.05.

Continuación.... TABLA A3.3. COMPARACIÓN MÚLTIPLE DE MEDIAS PARA LA PRUEBA "a"

Variable dependiente: F UFC/mL.

(I) Tiempo	(J) Tiempo	Diferencia media (I-J)	Error estándar	Sig.	85% Intervalo de confianza		
					Límite Inferior	Límite Superior	
<b>Tukey HSD</b>	2. 1min.	3. 15min.	4.625	2.55	0.244	-9.87E-01	1.02E+01
		4. 30min.	5.875*	2.55	0.132	2.63E-01	1.15E+01
	3. 15min.	2. 1min.	-4.625	2.55	0.244	-1.02E+01	9.87E-01
		4. 30min.	1.25	2.55	0.879	-4.36E+00	6.86E+00
	4. 30min.	2. 1min.	-5.875*	2.55	0.132	-1.15E+01	-2.63E-01
		3. 15min.	-1.25	2.55	0.879	-6.86E+00	4.36E+00
<b>LSD</b>	2. 1min.	3. 15min.	4.625*	2.55	0.120	4.12E-01	8.84E+00
		4. 30min.	5.875*	2.55	0.061	1.66E+00	1.01E+01
	3. 15min.	2. 1min.	-4.625*	2.55	0.120	-8.84E+00	-4.12E-01
		4. 30min.	1.25	2.55	0.642	-2.96E+00	5.46E+00
	4. 30min.	2. 1min.	-5.875*	2.55	0.061	-1.01E+01	-1.66E+00
		3. 15min.	-1.25	2.55	0.642	-5.46E+00	2.96E+00

Basado en medias observadas. \*La diferencia media es significativa al nivel de 0.15.

TABLA A3.4. TABLA DE ANOVA PARA LA PRUEBA "b"

Variable dependiente: F UFC/mL.

Fuente de Variación	Suma de Cuadrados Tipo III	Grados de libertad	Media de cuadrados	F <sub>0</sub>	Significación
<b>Modelo corregido</b>	16438784.4 <sup>a</sup>	5	3287756.89	202.983	0
<b>Interceptar</b>	6865237.69	1	6865237.69	423.854	4.5E-7
<b>J (Tiempo de contacto)</b>	126830.375	2	63415.187	3.915	0.082
<b>K (Tratamiento)</b>	16311954.1	3	5437318.02	335.695	4.5 E-7
<b>Error</b>	97183.125	6	16197.188		
<b>Total</b>	23401205.3	12			
<b>Total corregido</b>	16535967.6	11			

Nota: <sup>a</sup> R Squared = 0.994 (Ajuste de R cuadrada = 0.989).



**TABLA A3.5. COMPARACIÓN MÚLTIPLE DE MEDIAS PARA LA PRUEBA “b”**

Variable dependiente: L UFC/mL.

(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Diferencia media (I-J)	Error estándar	Sig.	95% Intervalo de confianza		
					Límite Inferior	Límite Superior	
<b>Tukey HSD</b>	1. Testigo	2. 0.05 mg/L Ag	2.61E+03*	1.04E+02	0.000	2.25E+03	2.97E+03
		3. 0.1 mg/L Ag	2.69E+03*	1.04E+02	0.000	2.33E+03	3.05E+03
		4. 0.5 mg/L Ag	2.77E+03*	1.04E+02	0.000	2.41E+03	3.13E+03
	2. 0.05 mg/L Ag	1. Testigo	-2.61E+03*	1.04E+02	0.000	-2.97E+03	-2.25E+03
		3. 0.1 mg/L Ag	7.77E+01	1.04E+02	0.875	-2.82E+02	4.37E+02
		4. 0.5 mg/L Ag	1.62E+02	1.04E+02	0.463	-1.98E+02	5.22E+02
	3. 0.1 mg/L Ag	1. Testigo	-2.69E+03*	1.04E+02	0.000	-3.05E+03	-2.33E+03
		2. 0.05 mg/L Ag	-7.77E+01	1.04E+02	0.875	-4.37E+02	2.82E+02
		4. 0.5 mg/L Ag	8.45E+01	1.04E+02	0.846	-2.75E+02	4.44E+02
	4. 0.5 mg/L Ag	1. Testigo	-2.77E+03*	1.04E+02	0.000	-3.13E+03	-2.41E+03
		2. 0.05 mg/L Ag	-1.62E+02	1.04E+02	0.463	-5.22E+02	1.98E+02
		3. 0.1 mg/L Ag	-8.45E+01	1.04E+02	0.846	-4.44E+02	2.75E+02
<b>LSD</b>	1. Testigo	2. 0.05 mg/L Ag	2.61E+03*	1.04E+02	0.000	2.36E+03	2.86E+03
		3. 0.1 mg/L Ag	2.69E+03*	1.04E+02	0.000	2.43E+03	2.94E+03
		4. 0.5 mg/L Ag	2.77E+03*	1.04E+02	0.000	2.52E+03	3.03E+03
	2. 0.05 mg/L Ag	1. Testigo	-2.61E+03*	1.04E+02	0.000	-2.86E+03	-2.36E+03
		3. 0.1 mg/L Ag	7.77E+01	1.04E+02	0.483	-1.77E+02	3.32E+02
		4. 0.5 mg/L Ag	1.62E+02	1.04E+02	0.170	-9.21E+01	4.16E+02
	3. 0.1 mg/L Ag	1. Testigo	-2.69E+03*	1.04E+02	0.000	-2.94E+03	-2.43E+03
		2. 0.05 mg/L Ag	-7.77E+01	1.04E+02	0.483	-3.32E+02	1.77E+02
		4. 0.5 mg/L Ag	8.45E+01	1.04E+02	0.447	-1.70E+02	3.39E+02
	4. 0.5 mg/L Ag	1. Testigo	-2.77E+03*	1.04E+02	0.000	-3.03E+03	-2.52E+03
		2. 0.05 mg/L Ag	-1.62E+02	1.04E+02	0.170	-4.16E+02	9.21E+01
		3. 0.1 mg/L Ag	-8.45E+01	1.04E+02	0.447	-3.39E+02	1.70E+02

Basado en medias observadas. \*La diferencia media es significativa al nivel de 0.05.

Variable dependiente: L UFC/mL.

(I) Tiempo	(J) Tiempo	Diferencia media (I-J)	Error estándar	Sig.	90% Intervalo de confianza		
					Límite Inferior	Límite Superior	
<b>Tukey HSD</b>	2. 1 min.	3. 15 min.	1.85E+02	9.00E+01	0.181	-4.18E+01	4.11E+02
		4. 30 min.	2.41E+02*	9.00E+01	0.082	1.42E+01	4.67E+02
	3. 15 min.	2. 1 min.	-1.85E+02	9.00E+01	0.181	-4.11E+02	4.18E+01
		4. 30 min.	5.60E+01	9.00E+01	0.814	-1.70E+02	2.82E+02
	4. 30 min.	2. 1 min.	-2.41E+02*	9.00E+01	0.082	-4.67E+02	-1.42E+01
		3. 15 min.	-5.60E+01	9.00E+01	0.814	-2.82E+02	1.70E+02
<b>LSD</b>	2. 1 min.	3. 15 min.	1.85E+02*	9.00E+01	0.086	9.75E+00	3.59E+02
		4. 30 min.	2.41E+02*	9.00E+01	0.037	6.58E+01	4.15E+02
	3. 15 min.	2. 1 min.	-1.85E+02*	9.00E+01	0.086	-3.59E+02	-9.75E+00
		4. 30 min.	5.60E+01	9.00E+01	0.557	-1.19E+02	2.31E+02
	4. 30 min.	2. 1 min.	-2.41E+02*	9.00E+01	0.037	-4.15E+02	-6.58E+01
		3. 15 min.	-5.60E+01	9.00E+01	0.557	-2.31E+02	1.19E+02

Basado en medias observadas. \*La diferencia media es significativa al nivel de 0.10.

La comparación entre las pruebas “a” y “b” se realizó al porcentaje de desinfección obtenido en un tiempo de contacto determinado, estos resultados se presentan en la Tabla A3.6. En ella se observa que existen diferencias significativas entre las pruebas “a” y “b” en los diferentes tiempos de contacto a un nivel de significación de 0.10 ( $\alpha=0.10$ ,  $P<0.075$ ,  $F_0=3.387 > F_{(0.10,2,10)}=2.92447$ ). La comparación múltiple de medias demostró que el tiempo de contacto de un minuto es significativamente diferente al tiempo de contacto de 15 y 30 minutos, con un 90% de confianza.

**TABLA A3.6. TABLA DE ANOVA Y COMPARACIÓN MÚLTIPLE DE MEDIAS PARA LAS PRUEBAS “a” Y “b” A TRES CONCENTRACIONES**

Variable dependiente: PD %desinfección.

Fuente de Variación	Suma de Cuadrados Tipo III	Grados de libertad	Media de cuadrados	F <sub>0</sub>	Significación
Modelo corregido	179.453 <sup>a</sup>	7	25.6362	1.7352	0.207
Interceptar	173903.501	1	173903.5012	11770.6050	1.086E-16
S (Tiempo de contacto)	100.075	2	50.0375	3.3868	0.075
T (Tratamiento)	79.378	5	15.8757	1.0745	0.430
Error	147.744	10	14.7744		
Total	174230.698	18			
Total corregido	327.197	17			

Nota: <sup>a</sup> R cuadrada = 0.548 (Ajuste de R cuadrada = 0.232).

Variable dependiente: PD %desinfección.

(I) Tiempo	(J) Tiempo	Diferencia media (I-J)	Error estándar	Sig.	90% Intervalo de confianza			
					Límite Inferior	Límite Superior		
<b>Tukey HSD</b>	2. 1min	3. 15min.	-4.9604	2.2192	0.1130	-10.0922	0.1713	
		4. 30min.	-5.0423	2.2192	0.1066	-10.1741	0.0895	
	3. 15min	2. 1min.	4.9604	2.2192	0.1130	-0.1713	10.0922	
		4. 30min.	-0.0819	2.2192	0.9992	-5.2136	5.0499	
	4. 30min	2. 1min.	5.0423	2.2192	0.1066	-0.0895	10.1741	
		3. 15min.	0.0819	2.2192	0.9992	-5.0499	5.2136	
	<b>LSD</b>	2. 1min	3. 15min.	-4.9604*	2.2192	0.0494	-8.9826	-0.9382
			4. 30min.	-5.0423*	2.2192	0.0464	-9.0645	-1.0201
3. 15min		2. 1min.	4.9604*	2.2192	0.0494	0.9382	8.9826	
		4. 30min.	-0.0819	2.2192	0.9713	-4.1041	3.9403	
4. 30min		2. 1min.	5.0423*	2.2192	0.0464	1.0201	9.0645	
		3. 15min.	0.0819	2.2192	0.9713	-3.9403	4.1041	

Basado en medias observadas. \*La diferencia media es significativa al nivel de 0.10.

En las pruebas “c” y “d” se empleó estadística no paramétrica ya que los resultados obtenidos no presentaron una distribución normal y las transformaciones realizadas no modificaron la distribución. Es por ello que la comparación entre tratamientos se realizó con la prueba de Mann-Whitney y Wilcoxon (Daniel, 2002). Los resultados derivados de esta comparación se presentan en las Tablas A3.7 para la prueba “c” y A3.8 para la prueba “d”. En ella se observa que existió un efecto desinfectante al ser diferentes significativamente el testigo y los matraces a los cuales se les aplicó 0.5 mg/L de Ag

coloidal, por lo que se rechaza la hipótesis  $H_{01}$ . Para la prueba “c” la probabilidad fue  $P=0.046$  ( $\alpha=0.05$ ,  $w_{\alpha}=1 > U=0$ ) y para la prueba “d”  $P=0.021$  ( $\alpha=0.05$ ,  $w_{\alpha}=1 > U=0$ ).

TABLA A3.7. PRUEBA DE MANN- WHITNEY Y WILCOXON PARA LA PRUEBA “c”

Rangos				Estadística de prueba <sup>b</sup>		
E Tratamiento	N	Rango promedio	Suma de rangos		F (UFC/mL)	
F (UFC/mL)	1. Testigo	3	5	15	Mann-Whitney U	0
	2. Prueba c	3	2	6	Wilcoxon W	6
	Total	6			Z	-1.993
				Significación Asintótica (2-colas)	0.046	
				Significación Exacta [2*(1-cola Sig.)]	0.1 <sup>a</sup>	

<sup>a</sup> Sin corrección.

<sup>b</sup> Variable de grupo: E Tratamiento.

TABLA A3.8. PRUEBA DE MANN- WHITNEY Y WILCOXON PARA LA PRUEBA “d”

Rangos				Estadística de prueba <sup>b</sup>		
S Tratamiento	N	Rango promedio	Suma de rangos		T (UFC/mL)	
T (UFC/mL)	1. Testigo	4	6.5	26	Mann-Whitney U	0
	3. Prueba d	4	2.5	10	Wilcoxon W	10
	Total	8			Z	-2.309
				Significación Asintótica (2-colas)	0.021	
				Significación Exacta [2*(1-cola Sig.)]	0.029 <sup>a</sup>	

<sup>a</sup> Sin corrección.

<sup>b</sup> Variable de grupo: S Tratamiento.

La comparación entre el efecto desinfectante de las pruebas “a”, “b”, “c”, “d” y “f” con diferentes concentraciones de *E. coli*, y 0.5 mg/L de Ag coloidal, se realizó al porcentaje de desinfección alcanzado en los diferentes tiempos de contacto. Nuevamente se empleó estadística no paramétrica ya que los resultados obtenidos no presentaron una distribución normal y las transformaciones realizadas no modificaron la distribución. Es por ello que se empleó el análisis bilateral de la variancia por jerarquías de Friedman, el análisis unilateral de variancia por jerarquías de Kruskal-Wallis y la comparación entre tratamientos se realizó con la prueba de Mann- Whitney y Wilcoxon (Gill, 1978; Montgomery, 1991; Daniel, 2002).

Los resultados obtenidos de estas pruebas se presentan en las Tablas A3.9 y A3.10. El análisis por jerarquías de Friedman demostró que los tratamientos (pruebas “a”, “b”, “c”, “d” y “f”) son diferentes ( $P=0.040$ ). La prueba de Kruskal- Wallis demostró que no existe diferencia entre las concentraciones de *E. coli* ( $P=0.300$ ), pero si entre los tiempos de contacto ( $P=0.032$ ). La prueba de Mann- Whitney y Wilcoxon (Tabla A3.10) demostró que el porcentaje de desinfección alcanzado en el tiempo de contacto de un minuto es diferente estadísticamente al porcentaje obtenido en los tiempos de contacto de 15 y 30 minutos ( $P=0.034$  para ambos,  $\alpha=0.05$ ,  $w_{\alpha}=5 > U=3$ ). Pero no se encontró diferencia significativa entre los tiempos de contacto de 15 y 30 minutos ( $P=0.881$ ,  $\alpha=0.10$ ,  $w_{\alpha}=6 < U=12$ ). Es



decir, ya no hay diferencia entre el porcentaje de desinfección en el tiempo de contacto de 15 minutos con respecto al tiempo de contacto de 30 minutos.

**TABLA A3.9. RESULTADOS ANÁLISIS BILATERAL Y UNILATERAL DE LA VARIANCIA POR JERARQUÍAS PRUEBAS “a”, “b”, “c”, “d” Y “f”**

**Prueba de Friedman**

Rangos	
	Rango promedio
1. Prueba a % desinfección	4.00
2. Prueba b % desinfección	3.67
3. Prueba f (ARE) % desinfección	3.33
4. Prueba c % desinfección	3.00
5. Prueba d % desinfección	1.00

Estadística de prueba <sup>a</sup>	
N	3
$\chi^2$	10
Grados de libertad	4
Significación asintótica	0.040

<sup>a</sup> Prueba de Friedman.

**Prueba de Kruskal-Wallis**

Rangos		
G concentración <i>E. coli.</i>	N	Rango promedio
H %desinfección 1. Prueba a	3	11.00
2. Prueba b	3	8.67
3. Prueba f (ARE)	3	8.33
4. Prueba c	3	8.00
5. Prueba d	3	4.00
Total	15	

Estadística de prueba <sup>a,b</sup>	
	H %desinfección
$\chi^2$	4.879
Grados de libertad	4.000
Significación asintótica	0.300

<sup>a</sup> Prueba de Kruskal Wallis.

<sup>b</sup> Variable de grupo: G concentración de *E. coli.*

Rangos		
F Tiempo de contacto	N	Rango promedio
H %desinfección 2. 1 min.	5	4.20
3. 15 min.	5	9.80
4. 30 min.	5	10.00
Total	15	

Estadística de prueba <sup>a,b</sup>	
	H %desinfección
$\chi^2$	6.898
Grados de libertad	2.000
Significación asintótica	0.032

<sup>a</sup> Prueba de Kruskal Wallis.

<sup>b</sup> Variable de grupo: F Tiempo de contacto.

**TABLA A3.10. RESULTADOS DE LA COMPARACIÓN ENTRE LAS PRUEBAS “a”, “b”, “c”, “d” Y “f” CON LA PRUEBA DE MANN- WHITNEY Y WILCOXON**

Rangos			
F Tiempo contacto	N	Rango promedio	Suma de rangos
H%desinfección 2. 1 min.	5	3.60	18.00
3. 15 min.	5	7.40	37.00
Total	10		

Estadística de prueba <sup>b</sup>	
	H %desinfección
Mann-Whitney U	3.000
Wilcoxon W	18.000
Z	-2.117
Significación asintótica (2-colas)	0.034
Significación Exacta [2*(1-cola Sig.)]	0.056 <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Sin corrección.

<sup>b</sup> Variable de grupo: F Tiempo de contacto.

Continuación... TABLA A3.10. RESULTADOS DE LA COMPARACIÓN ENTRE LAS PRUEBAS “a”, “b”, “c”, “d” Y “f” CON LA PRUEBA DE MANN- WHITNEY Y WILCOXON

Rangos				Estadística de prueba <sup>b</sup>	
F Tiempo contacto	N	Rango promedio	Suma de rangos		H %desinfección
H%desinfección 2. 1 min.	5	3.60	18.00	Mann-Whitney U	3.000
4. 30 min.	5	7.40	37.00	Wilcoxon W	18.000
Total	10			Z	-2.117
				Significación asintótica (2-colas)	0.034
				Significación Exacta [2*(1-cola Sig.)]	0.056 <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Sin corrección.

<sup>b</sup> Variable de grupo: F Tiempo de contacto.

Rangos				Estadística de prueba <sup>b</sup>	
A Tiempo contacto	N	Rango promedio	Suma de rangos		H %desinfección
H%desinfección 3. 15 min.	5	5.40	27.00	Mann-Whitney U	12.000
4. 30 min.	5	5.60	28.00	Wilcoxon W	27.000
Total	10			Z	-0.149
				Significación asintótica (2-colas)	0.881
				Significación Exacta [2*(1-cola Sig.)]	1 <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Sin corrección.

<sup>b</sup> Variable de grupo: A Tiempo de contacto.

### A3.1.2. Análisis estadístico de los resultados pruebas “e” y “f”

Se realizaron dos tipos de análisis estadísticos a los resultados experimentales. El primero para constatar que el tratamiento con la concentración elegida de plata coloidal provocaba una disminución en la cantidad de *E. coli* contenida en el AREC o ARE pruebas “e” y “f” respectivamente. Para ello se empleó estadística no paramétrica ya que los resultados obtenidos no presentaron una distribución normal y las transformaciones realizadas no modificaron la distribución. Es por ello que la comparación entre tratamientos se realizó con la prueba de Mann- Whitney y Wilcoxon (Daniel, 2002). Los resultados derivados de esta comparación se presentan en la Tabla A3.11 para la prueba “e” y la Tabla A3.12 para la prueba “f”. En ellas se observa que existió un efecto desinfectante al ser diferente significativamente el testigo y el matraz al cual se le aplicó 0.5 mg/L de Ag coloidal. Para la prueba “e” la probabilidad fue de  $P=0.020$  ( $\alpha=0.05$ ,  $w_{\alpha}=3 > U=0$ ) y para la prueba “d” la probabilidad fue de  $P=0.015$  ( $\alpha=0.05$ ,  $w_{\alpha}=3 > U=0$ ).

La segunda comparación que se realizó fue entre las pruebas “e” y “f” las hipótesis a probar son:

H<sub>03</sub>: La desinfección no se ve afectada por la materia orgánica del medio.

H<sub>04</sub>: El proceso de desinfección con mayor contenido de materia orgánica en el medio no se ve afectado por el tiempo de contacto

La comparación entre el efecto desinfectante en las pruebas “e” y “f”, se realizó al porcentaje de desinfección alcanzado en los diferentes tiempos de contacto. Al no presentar los resultados obtenidos una distribución normal y las transformaciones realizadas no modificar la distribución se empleó estadística no paramétrica. Es por ello que una vez más se empleó el análisis bilateral de la variancia por jerarquías de Friedman, el análisis unilateral de variancia por jerarquías de Kruskal-Wallis y la comparación entre tratamientos se realizó con la prueba de Mann-Whitney y Wilcoxon (Daniel, 2002; Montgomery, 1991; Gill, 1978).

Los resultados obtenidos de estas pruebas se presentan en las Tablas A3.13 y A3.14. El análisis por jerarquías de Friedman demostró que los tratamientos (pruebas “e” y “f”) son diferentes ( $P=0.046$ ). La prueba de Kruskal-Wallis demostró que no existe diferencia significativa en el contenido de materia orgánica del ARE ( $P=0.171$ ), pero sí entre los diferentes tiempos de contacto ( $P=0.02$ ). La prueba de Mann-Whitney y Wilcoxon (Tabla A3.14) demostró que el porcentaje de desinfección logrado en el tiempo de contacto de un minuto es diferente estadísticamente al porcentaje obtenido en los tiempos de contacto de 15 minutos ( $P=0.081$ ,  $\alpha=0.10$ ,  $w_{\alpha}=4 > U=2$ ) y 30 minutos ( $P=0.014$ ,  $\alpha=0.05$ ,  $w_{\alpha}=2 > U=0$ ). Pero no se encontró diferencia significativa entre los tiempos de contacto de 15 y 30 minutos ( $P=0.131$ ,  $\alpha=0.10$ ,  $w_{\alpha}=4 = U=4$ ). Es decir, ya no hay diferencia entre el porcentaje de desinfección en el tiempo de contacto de 15 minutos con respecto al tiempo de contacto de 30 minutos.

TABLA A3.11. PRUEBA DE MANN- WHITNEY Y WILCOXON PARA LA PRUEBA “e”

Rangos				Estadística de prueba <sup>b</sup>	
G Tratamiento	N	Rango promedio	Suma de rangos		H (UFC/mL)
H (UFC/mL) 1. Testigo	3	8	24	Mann-Whitney U	0
2. Prueba e(AREC)	6	3.5	21	Wilcoxon W	21
Total	9			Z	-2.334
				Significación asintótica (2-colas)	0.020
				Significación Exacta [2*(1-cola Sig.)]	0.024

<sup>a</sup> Sin corrección.

<sup>b</sup> Variable de grupo: G Tratamiento.

TABLA A3.12. PRUEBA DE MANN- WHITNEY Y WILCOXON PARA LA PRUEBA “f”

Rangos				Estadística de prueba <sup>b</sup>	
I Tratamiento	N	Rango promedio	Suma de rangos		J (UFC/mL)
J (UFC/mL) 1. Testigo	3	8	24	Mann-Whitney U	0
3. Prueba f(ARE)	6	3.5	21	Wilcoxon W	21
Total	9			Z	-2.427
				Significación asintótica (2-colas)	0.015
				Significación Exacta [2*(1-cola Sig.)]	0.024

<sup>a</sup> Sin corrección

<sup>b</sup> Variable de grupo: I Tratamiento



TABLA A3.13. RESULTADOS ANÁLISIS BILATERAL Y UNILATERAL DE LA VARIANCIA POR JERARQUÍAS PRUEBAS “e” Y “f”

## Prueba de Friedman

Rangos	
	Rango promedio
1. Prueba e (AREC) % desinfección	1.833
2. Prueba f (ARE) % desinfección	1.167

Estadística de prueba <sup>a</sup>	
N	6
$\chi^2$	4
Grados de libertad	1
Significación asintótica	0.046

<sup>a</sup> Prueba de Friedman.

## Prueba de Kruskal-Wallis

Rangos			Estadística de prueba <sup>a,b</sup>	
TR Tratamiento	N	Rango promedio		PD %desinfección
PD %desinfección. 2. Prueba e (AREC)	6	5.167	$\chi^2$	1.870
3. Prueba f (ARE)	6	7.833	Grados de libertad	1
Total	12		Significación asintótica	0.171

<sup>a</sup> Prueba de Kruskal Wallis.

<sup>b</sup> Variable de grupo: TR Tratamiento.

Rangos			Estadística de prueba <sup>a,b</sup>	
T Tiempo de contacto	N	Rango promedio		PD %desinfección
PD %desinfección 1 1 min.	4	3	$\chi^2$	7.54
2 15 min.	4	7	Grados de libertad	2.00
3 30 min.	4	9.5	Significación asintótica	0.02
Total	12			

<sup>a</sup> Prueba de Kruskal Wallis.

<sup>b</sup> Variable de grupo: T Tiempo de contacto.

TABLA A3.14. RESULTADOS DE LA COMPARACIÓN ENTRE LAS PRUEBAS “e” Y “f” CON LA PRUEBA DE MANN- WHITNEY Y WILCOXON

Rangos				Estadística de prueba <sup>b</sup>	
TC Tiempo contacto	N	Rango promedio	Suma de rangos		DP %desinfección
DP 1. 1 min.	4	3	12	Mann-Whitney U	2
%desinfección. 2. 15min.	4	6	24	Wilcoxon W	12
Total	8			Z	-1.742
				Significación asintótica (2-colas)	0.081
				Significación Exacta [2*(1-cola Sig.)]	0.114 <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Sin corrección.

<sup>b</sup> Variable de grupo: TC Tiempo de contacto.

Continuación... TABLA A3.14. RESULTADOS DE LA COMPARACIÓN ENTRE LAS PRUEBAS “e” Y “f” CON LA PRUEBA DE MANN- WHITNEY Y WILCOXON

Rangos				
TC	Tiempo contacto	N	Rango promedio	Suma de rangos
DP	1. 1 min.	4	2.5	10
%desinfeccion	3. 30 min.	4	6.5	26
	Total	8		

Estadística de prueba <sup>b</sup>		DP %desinfección
Mann-Whitney U		0
Wilcoxon W		10
Z		-2.46
Significación asintótica (2-colas)		0.014
Significación Exacta [2*(1-cola Sig.)]		0.029 <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Sin corrección.<sup>b</sup> Variable de grupo: TC Tiempo de contacto.

Rangos				
TC	Tiempo contacto	N	Rango promedio	Suma de rangos
DP	2. 15 min.	4	3.5	14
%desinfección	3. 30 min.	4	5.5	22
	Total	8		

Estadística de prueba <sup>b</sup>		DP %desinfección
Mann-Whitney U		4
Wilcoxon W		14
Z		-1.512
Significación asintótica (2-colas)		0.131
Significación. Exacta [2*(1-cola Sig.)]		0.343 <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Sin corrección.<sup>b</sup> Variable de grupo: TC Tiempo de contacto.

### A3.2 Efecto de la esterilización del AMNP sobre su capacidad desinfectante

Nuevamente el modelo utilizado para el análisis de los datos es del tipo factorial con una observación por celda. En la Tabla A3.15 se presentan los resultados de las pruebas de adecuación del modelo. En ella se puede observar que los resultados presentan variancia homogénea y distribución normal, además, de no proporcionar evidencia de interacción por lo que los efectos principales debidos al tratamiento y el tiempo de contacto son significativos.

TABLA A3.15. RESULTADOS ADECUACIÓN DEL MODELO PRUEBAS CON AMNP

Homogeneidad de variancias		Prueba de no aditividad		Shapiro y Wilk	
$F_0=2.7744$ vs $F_{(0.05,1,4)}=7.71^a$	Variancia homogénea	$F_0=1.9021$ vs $F_{(0.1,1,3)}=5.54^a$	Interacción nula	$W=0.964$ vs $W_{(9,0.05)}=0.8337^b$	Distribución normal

Nota: <sup>a</sup>Tabla A.5.1, Apéndice A Gill, (1978a) y <sup>b</sup>Programa Origin V7.

En las Tablas A3.16 y A3.17 se presentan los resultados del análisis de variancia y la comparación múltiple de medias empleando las pruebas de Tukey y LSD. En ellas se observa que existió diferencia significativa entre los tratamientos con un nivel de significación de 0.10 ( $\alpha=0.10$ ,  $P<0.0639$ ,  $F_0=5.913 > F_{(0.10,2,4)}=4.3246$ ), lo que indica diferencias entre los tratamientos. En el caso del tiempo de contacto la diferencia entre ellos se exploró con un nivel de significación de 0.15 ( $\alpha=0.15$ ,  $P<0.1410$ ,  $F_0=3.325 >$

$F_{(0.15,2,4)}=3.164$ ), encontrándose estadísticamente diferentes. La comparación múltiple de medias (Tabla A3.17) demostró que existió efecto desinfectante al ser los tratamientos diferentes al testigo, pero no entre ellos con un porcentaje de confianza del 90%. En cuanto al tiempo de contacto, la desinfección alcanzada en el tiempo de un minuto es diferente con respecto a la alcanzada a los 15 y 30 minutos (método de LSD) con un porcentaje de confianza del 85%.

TABLA A3.16. TABLA DE ANOVA PARA LA PRUEBA CON AMNP ESTÉRIL Y SIN ESTERILIZAR

Variable dependiente: G UFC/mL

Fuente de Variación	Suma de Cuadrados Tipo III	Grados de libertad	Media de cuadrados	F <sub>0</sub>	Significación
Modelo corregido	7.66E+07	4	1.91E+07	4.619	0.0837
Interceptar	1.52E+08	1	1.52E+08	36.728	0.0037
E (Tiempo de contacto)	2.76E+07	2	1.38E+07	3.325	0.1410
F (Tratamiento)	4.90E+07	2	2.45E+07	5.913	0.0639
Error	1.66E+07	4	4.14E+06		
Total	2.45E+08	9			
Total corregido	93148153.39	8			

Nota: <sup>a</sup> R cuadrada = .826 (Ajuste de R cuadrada = .651)

TABLA A3.17. COMPARACIÓN MÚLTIPLE DE MEDIAS PARA LA PRUEBA CON AMNP ESTÉRIL Y SIN ESTERILIZAR

Variable dependiente: G UFC/mL

	(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Diferencia media (I-J)	Error estándar	Sig.	90% Intervalo de confianza	
						Límite Inferior	Límite Superior
<b>Tukey HSD</b>	1. Testigo	2. AMNPE	4.30E+03	1.66E+03	0.1245	-3.70E+02	8.98E+03
		3. AMNPSE	5.41E+03*	1.66E+03	0.0658	7.38E+02	1.01E+04
	2. AMNPE	1. Testigo	-4.30E+03	1.66E+03	0.1245	-8.98E+03	3.70E+02
		3. AMNPSE	1.11E+03	1.66E+03	0.7939	-3.56E+03	5.78E+03
	3. AMNPSE	1. Testigo	-5.41E+03*	1.66E+03	0.0658	-1.01E+04	-7.38E+02
		2. AMNPE	-1.11E+03	1.66E+03	0.7939	-5.78E+03	3.56E+03
<b>LSD</b>	1. Testigo	2. AMNPE	4.30E+03*	1.66E+03	0.0608	7.59E+02	7.85E+03
		3. AMNPSE	5.41E+03*	1.66E+03	0.0312	1.87E+03	8.95E+03
	2. AMNPE	1. Testigo	-4.30E+03*	1.66E+03	0.0608	-7.85E+03	-7.59E+02
		3. AMNPSE	1.11E+03	1.66E+03	0.5416	-2.44E+03	4.65E+03
	3. AMNPSE	1. Testigo	-5.41E+03*	1.66E+03	0.0312	-8.95E+03	-1.87E+03
		2. AMNPE	-1.11E+03	1.66E+03	0.5416	-4.65E+03	2.44E+03

Basado en medias observadas. \*La diferencia media es significativa al nivel de 0.10

Nota: AMNPE= Agregado mineral natural con plata estéril. AMNPSE= Agregado mineral natural con plata sin esterilizar.



Continuación....TABLA A3.17. COMPARACIÓN MÚLTIPLE DE MEDIAS PARA LA PRUEBA CON AMNP ESTÉRIL Y SIN ESTERILIZAR

Variable dependiente: G UFC/mL.

(I) Tiempo	(J) Tiempo	Diferencia media (I-J)	Error estándar	Sig.	85% Intervalo de confianza		
					Límite Inferior	Límite Superior	
Tukey HSD	1 min.	3. 15 min.	3.35E+03	1.66E+03	0.2233	-6.41E+02	7.35E+03
		4. 30 min.	3.99E+03	1.66E+03	0.1506	-6.90E+00	7.98E+03
	3. 15 min.	2. 1 min.	-3.35E+03	1.66E+03	0.2233	-7.35E+03	6.41E+02
		4. 30 min.	6.34E+02	1.66E+03	0.9244	-3.36E+03	4.63E+03
	4. 30 min.	2. 1 min.	-3.99E+03	1.66E+03	0.1506	-7.98E+03	6.90E+00
		3. 15 min.	-6.34E+02	1.66E+03	0.9244	-4.63E+03	3.36E+03
LSD	2. 1 min.	3. 15 min.	3.35E+03*	1.66E+03	0.1137	3.99E+02	6.31E+03
		4. 30 min.	3.99E+03*	1.66E+03	0.0744	1.03E+03	6.94E+03
	3. 15 min.	2. 1 min.	-3.35E+03*	1.66E+03	0.1137	-6.31E+03	-3.99E+02
		4. 30 min.	6.34E+02	1.66E+03	0.7223	-2.32E+03	3.59E+03
	4. 30 min.	2. 1 min.	-3.99E+03*	1.66E+03	0.0744	-6.94E+03	-1.03E+03
		3. 15 min.	-6.34E+02	1.66E+03	0.7223	-3.59E+03	2.32E+03

Basado en medias observadas. \*La diferencia media es significativa al nivel de 0.15.

### A3.3. Pruebas con sulfuro de plata

El análisis estadístico empleado en esta parte es el de tipo factorial con una sola observación por celda. Los resultados de la adecuación del modelo se presentan en la Tabla A3.18. En ella se puede observar que los resultados obtenidos presentan variancia homogénea y distribución normal, además, de no proporcionar evidencia de interacción por lo que los efectos principales debidos al tratamiento y el tiempo de contacto son significativos.

TABLA A3.18. RESULTADOS ADECUACIÓN DEL MODELO PRUEBA COMPARATIVA CON Ag<sub>2</sub>S

Homogeneidad de variancias		Prueba de no aditividad		Shapiro y Wilk	
F <sub>0</sub> =4.1273 vs F <sub>(0.05,1,6)</sub> =5.99	Variancia homogénea	F <sub>0</sub> =1.117 vs F <sub>(0.1,1,5)</sub> =4.06 <sup>a</sup>	Interacción nula	W=0.9527 vs W <sub>(16,0.05)</sub> =0.859 <sup>b</sup>	Distribución normal

Notas: <sup>a</sup>Tabla A.5.1 y <sup>b</sup>Tabla A.13.2, Apéndice A Gill, (1978a).

En la Tabla A3.19 y A3.20 se presentan los resultados del análisis de variancia y la comparación múltiple de medias empleando las pruebas de Tukey y LSD. En ellas se observa que existió diferencia entre los tratamientos con un nivel de significación de 0.10 ( $\alpha=0.10$ ,  $P<0.069$ ,  $F_0=4.038 > F_{(0.10,3,6)}=3.2888$ ), lo que indica la existencia de efecto desinfectante. En el caso del tiempo de contacto se observó diferencia con un nivel de significación de 0.05 ( $\alpha=0.05$ ,  $P<0.026$ ). La comparación múltiple de medias (Tabla A3.20) demostró que el testigo de la prueba y los matraces conteniendo AMNP estéril y sin esterilizar fueron diferentes significativamente, con porcentaje de confianza del 90%, pero no así el matraz conteniendo Ag<sub>2</sub>S. Disminuyendo el porcentaje de confianza al 85% se observó que el testigo es diferente al Ag<sub>2</sub>S. En cuanto al tiempo de contacto, se observó que la concentración de *E. coli* en el tiempo de un minuto fue significativamente diferente a la

encontrada en los tiempos de 15 y 30 minutos con un porcentaje de confianza de 95% para la prueba de LSD y diferente con el tiempo de 30 minutos con la prueba de Tukey.

TABLA A3.19. TABLA DE ANOVA PARA LA PRUEBA CON Ag<sub>2</sub>S

Variable dependiente: F UFC/mL.

Fuente de Variación	Suma de Cuadrados Tipo III	Grados de libertad	Media de cuadrados	F <sub>0</sub>	Significación
<b>Modelo corregido</b>	1.39E+07 <sup>a</sup>	5	2.78E+06	5.281	0.033
<b>Interceptar</b>	2.90E+07	1	2.90E+07	55.118	3.072E-04
<b>D (Tiempo de contacto)</b>	7.53E+06	2	3.76E+06	7.146	0.026
<b>E (Tratamiento)</b>	6.38E+06	3	2.13E+06	4.038	0.069
<b>Error</b>	3.16E+06	6	5.27E+05		
<b>Total</b>	4.61E+07	12			
<b>Total corregido</b>	1.71E+07	11			

Nota: <sup>a</sup> R cuadrada = .815 (Ajuste de R cuadrada = .661).

TABLA A3.20. COMPARACIÓN MÚLTIPLE DE MEDIAS PARA LA PRUEBA CON Ag<sub>2</sub>S

Variable dependiente: F UFC/mL.

(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Diferencia media (I-J)	Error estándar	Sig.	90% Intervalo de confianza			
					Limite Inferior	Limite Superior		
<b>Tukey HSD</b>	1. Testigo	2. AMNPE	1.71E+03*	5.93E+02	0.0988	6.03E+00	3.41E+03	
		3. AMNPSE	1.84E+03*	5.93E+02	0.0755	1.39E+02	3.55E+03	
		4. Ag <sub>2</sub> S	1.04E+03	5.93E+02	0.3760	-6.63E+02	2.74E+03	
	2. AMNPE	1. Testigo	-1.71E+03*	5.93E+02	0.0988	-3.41E+03	-6.03E+00	
		3. AMNPSE	1.33E+02	5.93E+02	0.9956	-1.57E+03	1.84E+03	
		4. Ag <sub>2</sub> S	-6.69E+02	5.93E+02	0.6867	-2.37E+03	1.03E+03	
	3. AMNPSE	1. Testigo	-1.84E+03*	5.93E+02	0.0755	-3.55E+03	-1.39E+02	
		2. AMNPE	-1.33E+02	5.93E+02	0.9956	-1.84E+03	1.57E+03	
		4. Ag <sub>2</sub> S	-8.03E+02	5.93E+02	0.5662	-2.51E+03	9.01E+02	
	4. Ag <sub>2</sub> S	1. Testigo	-1.04E+03	5.93E+02	0.3760	-2.74E+03	6.63E+02	
		2. AMNPE	6.69E+02	5.93E+02	0.6867	-1.03E+03	2.37E+03	
		3. AMNPSE	8.03E+02	5.93E+02	0.5662	-9.01E+02	2.51E+03	
	<b>LSD</b>	1. Testigo	2. AMNPE	1.71E+03*	5.93E+02	0.0279	5.58E+02	2.86E+03
			3. AMNPSE	1.84E+03*	5.93E+02	0.0209	6.91E+02	2.99E+03
			4. Ag <sub>2</sub> S	1.04E+03	5.93E+02	0.1298	-1.11E+02	2.19E+03
		2. AMNPE	1. Testigo	-1.71E+03*	5.93E+02	0.0279	-2.86E+03	-5.58E+02
3. AMNPSE			1.33E+02	5.93E+02	0.8296	-1.02E+03	1.28E+03	
4. Ag <sub>2</sub> S			-6.69E+02	5.93E+02	0.3018	-1.82E+03	4.82E+02	
3. AMNPSE		1. Testigo	-1.84E+03*	5.93E+02	0.0209	-2.99E+03	-6.91E+02	
		2. AMNPE	-1.33E+02	5.93E+02	0.8296	-1.28E+03	1.02E+03	
		4. Ag <sub>2</sub> S	-8.03E+02	5.93E+02	0.2244	-1.95E+03	3.49E+02	
4. Ag <sub>2</sub> S		1. Testigo	-1.04E+03	5.93E+02	0.1298	-2.19E+03	1.11E+02	
		2. AMNPE	6.69E+02	5.93E+02	0.3018	-4.82E+02	1.82E+03	
		3. AMNPSE	8.03E+02	5.93E+02	0.2244	-3.49E+02	1.95E+03	
<b>LSD</b>		1. Testigo	2. AMNPE	1.71E+03*b	5.93E+02	0.0279	7.32E+02	2.69E+03
			3. AMNPSE	1.84E+03*b	5.93E+02	0.0209	8.65E+02	2.82E+03
			4. Ag <sub>2</sub> S	1.04E+03*b	5.93E+02	0.1298	6.22E+01	2.02E+03

Basado en medias observadas. \*La diferencia media es significativa al nivel de 0.10, o \*b a 0.15.

Nota: AMNPE= Agregado mineral natural con plata estéril. AMNPSE= Agregado mineral natural con plata sin esterilizar.

Continuación....TABLA A3.20. COMPARACIÓN MÚLTIPLE DE MEDIAS PARA LA PRUEBA CON Ag<sub>2</sub>S

Variable dependiente: F UFC/mL

(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Diferencia media (I-J)	Error estándar	Sig.	95% Intervalo de confianza		
					Límite Inferior	Límite Superior	
<b>Tukey HSD</b>	2. 1 min.	3. 15 min..	1.51E+03	5.13E+02	0.0579	-6.09E+01	3.09E+03
		4. 30 min..	1.81E+03*	5.13E+02	0.0289	2.33E+02	3.38E+03
	3. 15 min.	2. 1 min.	-1.51E+03	5.13E+02	0.0579	-3.09E+03	6.09E+01
		4. 30 min.	2.94E+02	5.13E+02	0.8389	-1.28E+03	1.87E+03
	4. 30 min.	2. 1 min.	-1.81E+03*	5.13E+02	0.0289	-3.38E+03	-2.33E+02
		3. 15 min.	-2.94E+02	5.13E+02	0.8389	-1.87E+03	1.28E+03
<b>LSD</b>	2. 1 min.	3. 15 min.	1.51E+03*	5.13E+02	0.0256	2.58E+02	2.77E+03
		4. 30 min.	1.81E+03*	5.13E+02	0.0125	5.52E+02	3.06E+03
	3. 15 min.	2. 1 min.	-1.51E+03*	5.13E+02	0.0256	-2.77E+03	-2.58E+02
		4. 30 min.	2.94E+02	5.13E+02	0.5874	-9.62E+02	1.55E+03
	4. 30 min.	2. 1 min.	-1.81E+03*	5.13E+02	0.0125	-3.06E+03	-5.52E+02
		3. 15 min.	-2.94E+02	5.13E+02	0.5874	-1.55E+03	9.62E+02

Basado en medias observadas. \*La diferencia media es significativa al nivel de 0.05.

### A3.4. Análisis estadístico de los resultados obtenidos en las columnas empacadas a pequeña escala con alimentación continua (CAC)

En este caso, el análisis estadístico se realizó a los datos obtenidos de las ojivas de acumulación de las bacterias sobrevivientes (curvas de operación de las CAC, Figura 5.13 I). El sistema factorial está constituido por las tres columnas empacadas con gránulos de acrílico, granalla de plata y AMNP, la alimentación que funcionó como el testigo de la prueba y el tiempo de uso de las columnas. Se realizaron muestreos en 12 ocasiones. Los resultados obtenidos fueron transformados mediante la función logaritmo base 10 con el fin de homogenizar la variancia. Las hipótesis planteadas fueron:

H<sub>01</sub>: No hay diferencia entre el testigo y las tres columnas.

Significaría que no existe efecto desinfectante químico, ni físico por filtración.

H<sub>02</sub>: No hay diferencia entre las columnas.

Es decir el efecto observado se debe solamente a un efecto de filtración.

H<sub>03</sub>: No hay diferencia entre el efecto desinfectante de la granalla de Ag y el AMNP.

En consecuencia el AMNP presentaría la misma capacidad desinfectante que la granalla de plata.

H<sub>04</sub>: No hay diferencia en la desinfección con respecto al tiempo de uso.

La capacidad desinfectante es la misma a través del tiempo.

Los resultados de la adecuación del modelo se presentan en la Tabla A3.21. En ella se puede observar que los resultados obtenidos presentan variancia homogénea y distribución normal, además, de no proporcionar evidencia de interacción por lo que los efectos principales debidos al tipo de material de las columnas y el tiempo son significativos.



TABLA A3.21. RESULTADOS ADECUACIÓN DEL MODELO PRUEBAS CON CAC (COLUMNAS EMPACADAS A PEQUEÑA ESCALA ALIMENTADAS EN CONTINUO)

Homogeneidad de variancias		Prueba de no aditividad		Prueba de residuos	
$F_0=4.72$ vs $F_{(0.01,1,30)}=7.56^a$	Variancia homogénea	$F_0=0.03448$ vs $F_{(0.25129)}=1.38^a$	Interacción nula	$W=0.96$ vs $W_{(44,0.05)}=0.944^b$	Distribución normal

Notas: <sup>a</sup>Tabla A.5.1 y <sup>b</sup>Tabla A.13.2, Apéndice A Gill, (1978a).

Los resultados de la Tabla de ANOVA y la comparación múltiple de medias se presentan en las Tablas A3.22, A3.23 y A3.24. Al analizar los resultados de la Tabla A3.22 se rechazan las hipótesis  $H_{01}$  y  $H_{04}$ , lo cual indica que existió diferencia entre los tratamientos y el tiempo de uso de las columnas con un nivel de significación de 0.05 ( $P < 6.227 \times 10^{-11}$  para los tratamientos y  $P < 9.572 \times 10^{-16}$  para el tiempo de uso), lo que indica que existió un efecto desinfectante y que cambia con el tiempo. La comparación múltiple de medias de los tratamientos demostró (Tabla A3.23) que la eliminación de *E. coli* fue significativamente diferente para el testigo y las tres columnas confirmando la existencia de un efecto desinfectante. Simultáneamente la comparación de la columna con gránulos de acrílico con respecto a las columnas de granalla de Ag y AMNP, da como resultado el rechazo de la hipótesis  $H_{02}$  con un nivel de significación de 0.05, ya que, la eliminación de *E. coli* no solamente se debe a un efecto de filtración. Pero no hay evidencia de diferencia significativa entre el efecto desinfectante de la columna con granalla de plata y la columna con AMNP con un nivel de significación de 0.05 aceptándose la hipótesis  $H_{03}$ .

Con respecto al tiempo de uso de las mismas, la comparación múltiple de medias entre ellos se presenta en la Tabla A3.24. En ella se observa que existen diferencias significativas a partir de las 59 horas de uso (con respecto a la prueba de Tukey) con un nivel de significación de 0.05. Empleando la prueba de LSD las diferencias se observan a partir de las 11 horas con un nivel de significación también de 0.05.

TABLA A3.22. TABLA DE ANOVA PARA LAS PRUEBAS CON CAC (COLUMNAS EMPACADAS A PEQUEÑA ESCALA ALIMENTADAS EN CONTINUO)

Variable dependiente:  $M \log(\text{UFC/mL})$

Fuente de Variación	Suma de Cuadrados Tipo III	Grados de libertad	Media de cuadrados	$F_0$	Significación
Modelo corregido	6.078 <sup>a</sup>	13	0.468	39.440	3.020E-15
Interceptar	530.553	1	530.553	44755.679	3.545E-49
K (Tiempo de uso)	2.504	10	0.250	21.120	6.227E-11
L (Tratamiento columna)	3.574	3	1.191	100.507	9.572E-16
Error	0.356	30	0.012		
Total	536.986	44			
Total corregido	6.434	43			

Nota: <sup>a</sup> R cuadrada = 0.945 (Ajuste de R cuadrada = .921).

TABLA A3.23. COMPARACIÓN MÚLTIPLE DE MEDIAS PARA LAS PRUEBAS CON CAC  
(TRATAMIENTOS)

Variable dependiente: M log(UFC/mL)

(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Diferencia media (I-J)	Error estándar	Sig.	95% Intervalo de confianza		
					Límite Inferior	Límite Superior	
<b>Tukey HSD</b>	1 ALIMENTACIÓN	2 GRÁNULOS	0.5313*	0.0464	0.0000	0.4051	0.6576
		3 GRANALLA	0.6870*	0.0464	0.0000	0.5608	0.8132
		4 AMNP	0.7015*	0.0464	0.0000	0.5753	0.8277
	2 GRÁNULOS	1 ALIMENTACIÓN	-0.5313*	0.0464	0.0000	-0.6576	-0.4051
		3 GRANALLA	0.1557*	0.0464	0.0111	0.0294	0.2819
		4 AMNP	0.1702*	0.0464	0.0050	0.0439	0.2964
	3 GRANALLA	1 ALIMENTACIÓN	-0.6870*	0.0464	0.0000	-0.8132	-0.5608
		2 GRÁNULOS	-0.1557*	0.0464	0.0111	-0.2819	-0.0294
		4 AMNP	0.0145	0.0464	0.9892	-0.1117	0.1407
	4 AMNP	1 ALIMENTACIÓN	-0.7015*	0.0464	0.0000	-0.8277	-0.5753
		2 GRÁNULOS	-0.1702*	0.0464	0.0050	-0.2964	-0.0439
		3 GRANALLA	-0.0145	0.0464	0.9892	-0.1407	0.1117
<b>LSD</b>	1 ALIMENTACIÓN	2 GRÁNULOS	0.5313*	0.0464	0.0000	0.4365	0.6261
		3 GRANALLA	0.6870*	0.0464	0.0000	0.5922	0.7818
		4 AMNP	0.7015*	0.0464	0.0000	0.6067	0.7963
	2 GRÁNULOS	1 ALIMENTACIÓN	-0.5313*	0.0464	0.0000	-0.6261	-0.4365
		3 GRANALLA	0.1557*	0.0464	0.0022	0.0609	0.2505
		4 AMNP	0.1702*	0.0464	0.0009	0.0753	0.2650
	3 GRANALLA	1 ALIMENTACIÓN	-0.6870*	0.0464	0.0000	-0.7818	-0.5922
		2 GRÁNULOS	-0.1557*	0.0464	0.0022	-0.2505	-0.0609
		4 AMNP	0.0145	0.0464	0.7571	-0.0803	0.1093
	4 AMNP	1 ALIMENTACIÓN	-0.7015*	0.0464	0.0000	-0.7963	-0.6067
		2 GRÁNULOS	-0.1702*	0.0464	0.0009	-0.2650	-0.0753
		3 GRANALLA	-0.0145	0.0464	0.7571	-0.1093	0.0803

Basado en medias observadas. \*La diferencia media es significativa al nivel de 0.05.

TABLA A3.24. COMPARACIÓN MÚLTIPLE DE MEDIAS PARA LAS PRUEBAS CON CAC  
(TIEMPO DE USO)

Variable dependiente: M log(UFC/mL)

(I) Tiempo	(J) Tiempo	Diferencia media (I-J)	Error estándar	Sig.	95% Intervalo de confianza	
					Límite Inferior	Límite Superior
Tukey HSD 1. 0.5 h.	2. 3 h.	-0.0585	0.0770	0.9994	-0.3262	0.2092
	8. 59 h.	-0.3031*	0.0770	0.0165	-0.5708	-0.0355
	9. 78 h.	-0.3134*	0.0770	0.0118	-0.5811	-0.0457
	10. 101 h.	-0.5843*	0.0770	0.0000	-0.8519	-0.3166
	11. 150 h.	-0.8819*	0.0770	0.0000	-1.1496	-0.6142
2. 3 h.	1. 0.5 h.	0.0585	0.0770	0.9994	-0.2092	0.3262
	10. 101 h.	-0.5258*	0.0770	0.0000	-0.7934	-0.2581
	11. 150 h.	-0.8234*	0.0770	0.0000	-1.0911	-0.5557
3. 6 h.	1. 0.5 h.	0.1416	0.0770	0.7487	-0.1261	0.4093
	10. 101 h.	-0.4427*	0.0770	0.0001	-0.7103	-0.1750
	11. 150 h.	-0.7403*	0.0770	0.0000	-1.0080	-0.4726
4. 11 h.	1. 0.5 h.	0.1722	0.0770	0.4983	-0.0954	0.4399
	10. 101 h.	-0.4120*	0.0770	0.0004	-0.6797	-0.1443
	11. 150 h.	-0.7097*	0.0770	0.0000	-0.9774	-0.4420
5. 24 h.	1. 0.5 h.	0.2038	0.0770	0.2704	-0.0639	0.4714
	10. 101 h.	-0.3805*	0.0770	0.0012	-0.6482	-0.1128
	11. 150 h.	-0.6781*	0.0770	0.0000	-0.9458	-0.4105
6. 35 h.	1. 0.5 h.	0.2203	0.0770	0.1837	-0.0474	0.4880
	10. 101 h.	-0.3640*	0.0770	0.0021	-0.6316	-0.0963
	11. 150 h.	-0.6616*	0.0770	0.0000	-0.9293	-0.3939
7. 48 h.	1. 0.5 h.	0.2362	0.0770	0.1220	-0.0314	0.5039
	10. 101 h.	-0.3480*	0.0770	0.0037	-0.6157	-0.0803
	11. 150 h.	-0.6457*	0.0770	0.0000	-0.9133	-0.3780
8. 59 h.	1. 0.5 h.	0.3031*	0.0770	0.0165	0.0355	0.5708
	10. 101 h.	-0.2811*	0.0770	0.0332	-0.5488	-0.0134
	11. 150 h.	-0.5788*	0.0770	0.0000	-0.8464	-0.3111
9. 78 h.	1. 0.5 h.	0.3134*	0.0770	0.0118	0.0457	0.5811
	10. 101 h.	-0.2709*	0.0770	0.0454	-0.5386	-0.0032
	11. 150 h.	-0.5685*	0.0770	0.0000	-0.8362	-0.3009
10. 101 h.	1. 0.5 h.	0.5843*	0.0770	0.0000	0.3166	0.8519
	2. 3 h.	0.5258*	0.0770	0.0000	0.2581	0.7934
	3. 6 h.	0.4427*	0.0770	0.0001	0.1750	0.7103
	4. 11 h.	0.4120*	0.0770	0.0004	0.1443	0.6797

Basado en medias observadas. \*La diferencia media es significativa al nivel de 0.05.



Continuación.... TABLA A3.24. COMPARACIÓN MÚLTIPLE DE MEDIAS PARA LAS PRUEBAS CON CAC (TIEMPO DE USO)

Variable dependiente: M log(UFC/mL)

(I) Tiempo	(J) Tiempo	Diferencia media (I-J)	Error estándar	Sig.	95% Intervalo de confianza			
					Límite Inferior	Límite Superior		
Tukey HSD	10. 101 h.	5. 24 h.	0.3805*	0.0770	0.0012	0.1128	0.6482	
		6. 35 h.	0.3640*	0.0770	0.0021	0.0963	0.6316	
		7. 48 h.	0.3480*	0.0770	0.0037	0.0803	0.6157	
		8. 59 h.	0.2811*	0.0770	0.0332	0.0134	0.5488	
		9. 78 h.	0.2709*	0.0770	0.0454	0.0032	0.5386	
		11. 150 h.	-0.2976*	0.0770	0.0197	-0.5653	-0.0300	
	11. 150 h.	1. 0.5 h.	0.8819*	0.0770	0.0000	0.6142	1.1496	
		2. 3 h.	0.8234*	0.0770	0.0000	0.5557	1.0911	
		3. 6 h.	0.7403*	0.0770	0.0000	0.4726	1.0080	
		4. 11 h.	0.7097*	0.0770	0.0000	0.4420	0.9774	
		5. 24 h.	0.6781*	0.0770	0.0000	0.4105	0.9458	
		6. 35 h.	0.6616*	0.0770	0.0000	0.3939	0.9293	
		7. 48 h.	0.6457*	0.0770	0.0000	0.3780	0.9133	
		8. 59 h.	0.5788*	0.0770	0.0000	0.3111	0.8464	
		9. 78 h.	0.5685*	0.0770	0.0000	0.3009	0.8362	
		10. 101 h.	0.2976*	0.0770	0.0197	0.0300	0.5653	
	LSD	1. 0.5 h.	2. 3 h.	-0.0585	0.0770	0.4533	-0.2157	0.0987
			3. 6 h.	-0.1416	0.0770	0.0758	-0.2988	0.0156
			4. 11 h.	-0.1722*	0.0770	0.0329	-0.3295	-0.0150
5. 24 h.			-0.2038*	0.0770	0.0128	-0.3610	-0.0465	
6. 35 h.			-0.2203*	0.0770	0.0076	-0.3775	-0.0631	
7. 48 h.			-0.2362*	0.0770	0.0045	-0.3935	-0.0790	
8. 59 h.			-0.3031*	0.0770	0.0005	-0.4604	-0.1459	
9. 78 h.			-0.3134*	0.0770	0.0003	-0.4706	-0.1561	
10. 101 h.			-0.5843*	0.0770	0.0000	-0.7415	-0.4270	
11. 150 h.			-0.8819*	0.0770	0.0000	-1.0391	-0.7247	
2. 3 h.			1. 0.5 h.	0.0585	0.0770	0.4533	-0.0987	0.2157
		3. 6 h.	-0.0831	0.0770	0.2890	-0.2403	0.0741	
		4. 11 h.	-0.1137	0.0770	0.1500	-0.2710	0.0435	
		5. 24 h.	-0.1453	0.0770	0.0689	-0.3025	0.0120	
		6. 35 h.	-0.1618*	0.0770	0.0441	-0.3190	-0.0046	
		7. 48 h.	-0.1777*	0.0770	0.0280	-0.3350	-0.0205	
		8. 59 h.	-0.2447*	0.0770	0.0034	-0.4019	-0.0874	

Basado en medias observadas. \*La diferencia media es significativa al nivel de 0.05.

Continuación.... TABLA A3.24. COMPARACIÓN MÚLTIPLE DE MEDIAS PARA LAS PRUEBAS CON CAC (TIEMPO DE USO)

Variable dependiente: M log(UFC/mL)

(I) Tiempo	(J) Tiempo	Diferencia media (I-J)	Error estándar	Sig.	95% Intervalo de confianza		
					Límite Inferior	Límite Superior	
LSD	2. 3 h.	9. 78 h.	-0.2549*	0.0770	0.0024	-0.4121	-0.0977
		10. 101 h.	-0.5258*	0.0770	0.0000	-0.6830	-0.3685
		10. 101 h.	-0.5258*	0.0770	0.0000	-0.6830	-0.3685
		11. 150 h.	-0.8234*	0.0770	0.0000	-0.9806	-0.6662
3. 6 h.	1. 0.5 h.		0.1416	0.0770	0.0758	-0.0156	0.2988
	2. 3 h.		0.0831	0.0770	0.2890	-0.0741	0.2403
	4. 11 h.		-0.0306	0.0770	0.6935	-0.1879	0.1266
	5. 24 h.		-0.0622	0.0770	0.4257	-0.2194	0.0951
	6. 35 h.		-0.0787	0.0770	0.3148	-0.2359	0.0785
	7. 48 h.		-0.0946	0.0770	0.2285	-0.2519	0.0626
	8. 59 h.		-0.1616*	0.0770	0.0444	-0.3188	-0.0043
	9. 78 h.		-0.1718*	0.0770	0.0333	-0.3290	-0.0145
	10. 101 h.		-0.4427*	0.0770	0.0000	-0.5999	-0.2854
11. 150 h.		-0.7403*	0.0770	0.0000	-0.8975	-0.5831	
4. 11 h.	1. 0.5 h.		0.1722*	0.0770	0.0329	0.0150	0.3295
	2. 3 h.		0.1137	0.0770	0.1500	-0.0435	0.2710
	3. 6 h.		0.0306	0.0770	0.6935	-0.1266	0.1879
	5. 24 h.		-0.0315	0.0770	0.6850	-0.1888	0.1257
	6. 35 h.		-0.0481	0.0770	0.5371	-0.2053	0.1092
	7. 48 h.		-0.0640	0.0770	0.4124	-0.2212	0.0932
	8. 59 h.		-0.1309	0.0770	0.0994	-0.2881	0.0263
	9. 78 h.		-0.1411	0.0770	0.0767	-0.2984	0.0161
	10. 101 h.		-0.4120*	0.0770	0.0000	-0.5693	-0.2548
	11. 150 h.		-0.7097*	0.0770	0.0000	-0.8669	-0.5524
5. 24 h.	1. 0.5 h.		0.2038*	0.0770	0.0128	0.0465	0.3610
	2. 3 h.		0.1453	0.0770	0.0689	-0.0120	0.3025
	3. 6 h.		0.0622	0.0770	0.4257	-0.0951	0.2194
	4. 11 h.		0.0315	0.0770	0.6850	-0.1257	0.1888
	6. 35 h.		-0.0165	0.0770	0.8314	-0.1738	0.1407
	7. 48 h.		-0.0325	0.0770	0.6762	-0.1897	0.1248
	8. 59 h.		-0.0994	0.0770	0.2066	-0.2566	0.0578
	9. 78 h.		-0.1096	0.0770	0.1649	-0.2668	0.0476
	10. 101 h.		-0.3805*	0.0770	0.0000	-0.5377	-0.2233

Basado en medias observadas. \*La diferencia media es significativa al nivel de 0.05.

Continuación... TABLA A3.24. COMPARACIÓN MÚLTIPLE DE MEDIAS PARA LAS PRUEBAS CON CAC (TIEMPO DE USO)

Variable dependiente: M log(UFC/mL)

	(I) Tiempo	(J) Tiempo	Diferencia media (I-J)	Error estándar	Sig.	95% Intervalo de confianza	
						Límite Inferior	Límite Superior
LSD	5. 24 h.	11. 150 h.	-0.6781*	0.0770	0.0000	-0.8354	-0.5209
	6. 35 h.	1. 0.5 h.	0.2203*	0.0770	0.0076	0.0631	0.3775
		2. 3 h.	0.1618*	0.0770	0.0441	0.0046	0.3190
		3. 6 h.	0.0787	0.0770	0.3148	-0.0785	0.2359
		4. 11 h.	0.0481	0.0770	0.5371	-0.1092	0.2053
		5. 24 h.	0.0165	0.0770	0.8314	-0.1407	0.1738
		7. 48 h.	-0.0159	0.0770	0.8374	-0.1732	0.1413
		8. 59 h.	-0.0829	0.0770	0.2904	-0.2401	0.0744
		9. 78 h.	-0.0931	0.0770	0.2361	-0.2503	0.0642
		10. 101 h.	-0.3640*	0.0770	0.0001	-0.5212	-0.2067
		11. 150 h.	-0.6616*	0.0770	0.0000	-0.8188	-0.5044
7. 48 h.	1. 0.5 h.	0.2362*	0.0770	0.0045	0.0790	0.3935	
	2. 3 h.	0.1777*	0.0770	0.0280	0.0205	0.3350	
	3. 6 h.	0.0946	0.0770	0.2285	-0.0626	0.2519	
	4. 11 h.	0.0640	0.0770	0.4124	-0.0932	0.2212	
	5. 24 h.	0.0325	0.0770	0.6762	-0.1248	0.1897	
	6. 35 h.	0.0159	0.0770	0.8374	-0.1413	0.1732	
	8. 59 h.	-0.0669	0.0770	0.3917	-0.2241	0.0903	
	9. 78 h.	-0.0771	0.0770	0.3244	-0.2344	0.0801	
	10. 101 h.	-0.3480*	0.0770	0.0001	-0.5053	-0.1908	
	11. 150 h.	-0.6457*	0.0770	0.0000	-0.8029	-0.4884	
	8. 59 h.	1. 0.5 h.	0.3031*	0.0770	0.0005	0.1459	0.4604
2. 3 h.		0.2447*	0.0770	0.0034	0.0874	0.4019	
3. 6 h.		0.1616*	0.0770	0.0444	0.0043	0.3188	
4. 11 h.		0.1309	0.0770	0.0994	-0.0263	0.2881	
5. 24 h.		0.0994	0.0770	0.2066	-0.0578	0.2566	
6. 35 h.		0.0829	0.0770	0.2904	-0.0744	0.2401	
7. 48 h.		0.0669	0.0770	0.3917	-0.0903	0.2241	
9. 78 h.		-0.0102	0.0770	0.8952	-0.1675	0.1470	
10. 101 h.		-0.2811*	0.0770	0.0010	-0.4383	-0.1239	
11. 150 h.		-0.5788*	0.0770	0.0000	-0.7360	-0.4215	
9. 78 h.		1. 0.5 h.	0.3134*	0.0770	0.0003	0.1561	0.4706
	2. 3 h.	0.2549*	0.0770	0.0024	0.0977	0.4121	

Basado en medias observadas. \*La diferencia media es significativa al nivel de 0.05.



Continuación....TABLA A3.24. COMPARACIÓN MÚLTIPLE DE MEDIAS PARA LAS PRUEBAS CON CAC (TIEMPO DE USO)

Variable dependiente: M log(UFC/mL)

	(I) Tiempo	(J) Tiempo	Diferencia media (I-J)	Error estándar	Sig.	95% Intervalo de confianza	
						Límite Inferior	Límite Superior
<b>LSD</b>	9. 78 h.	3. 6 h.	0.1718*	0.0770	0.0333	0.0145	0.3290
		4. 11 h.	0.1411	0.0770	0.0767	-0.0161	0.2984
		5. 24 h.	0.1096	0.0770	0.1649	-0.0476	0.2668
		6. 35 h.	0.0931	0.0770	0.2361	-0.0642	0.2503
		7. 48 h.	0.0771	0.0770	0.3244	-0.0801	0.2344
		8. 59 h.	0.0102	0.0770	0.8952	-0.1470	0.1675
		10. 101 h.	-0.2709*	0.0770	0.0014	-0.4281	-0.1137
		11. 150 h.	-0.5685*	0.0770	0.0000	-0.7258	-0.4113
	10. 101 h.	1. 0.5 h.	0.5843*	0.0770	0.0000	0.4270	0.7415
		2. 3 h.	0.5258*	0.0770	0.0000	0.3685	0.6830
		3. 6 h.	0.4427*	0.0770	0.0000	0.2854	0.5999
4. 11 h.		0.4120*	0.0770	0.0000	0.2548	0.5693	
5. 24 h.		0.3805*	0.0770	0.0000	0.2233	0.5377	
6. 35 h.		0.3640*	0.0770	0.0001	0.2067	0.5212	
7. 48 h.		0.3480*	0.0770	0.0001	0.1908	0.5053	
8. 59 h.		0.2811*	0.0770	0.0010	0.1239	0.4383	
11. 150 h.	9. 78 h.	0.2709*	0.0770	0.0014	0.1137	0.4281	
	11. 150 h.	-0.2976*	0.0770	0.0006	-0.4549	-0.1404	
	1. 0.5 h.	0.8819*	0.0770	0.0000	0.7247	1.0391	
	2. 3 h.	0.8234*	0.0770	0.0000	0.6662	0.9806	
	3. 6 h.	0.7403*	0.0770	0.0000	0.5831	0.8975	
	4. 11 h.	0.7097*	0.0770	0.0000	0.5524	0.8669	
	5. 24 h.	0.6781*	0.0770	0.0000	0.5209	0.8354	
	6. 35 h.	0.6616*	0.0770	0.0000	0.5044	0.8188	
7. 48 h.	0.6457*	0.0770	0.0000	0.4884	0.8029		
8. 59 h.	0.5788*	0.0770	0.0000	0.4215	0.7360		
9. 78 h.	0.5685*	0.0770	0.0000	0.4113	0.7258		
10. 101 h.	0.2976*	0.0770	0.0006	0.1404	0.4549		

Basado en medias observadas. \*La diferencia media es significativa al nivel de 0.05.

## ANEXO 4. CINÉTICA DE DESINFECCIÓN CON COMPUESTOS DE PLATA

La cinética de desinfección con compuestos de plata se realizó mediante el análisis de regresión no lineal de los resultados experimentales obtenidos durante las pruebas con plata coloidal, granalla de plata, sulfuro de plata y AMNP en sistemas por lotes.

Las consideraciones que se hicieron fueron: 1) La desinfección con compuesto de plata puede seguir dos tipos de modelos el de la ley de Chick-Watson  $\{N_t/N_0=\exp(-kC^n t)\}$  o la modificación propuesta por Hom  $\{N_t/N_0=\exp(-kC^n t^m)\}$ . 2) Para conocer el valor de las constantes de los modelos se propone agrupar el término  $(-kC^n)$  en una sola constante “k”, denominada constante de rapidez de inactivación (Metcalf y Eddy, 1996). Por lo que las ecuaciones a ajustar fueron  $\{N_t/N_0=\exp(-kt)\}$  y  $\{N_t/N_0=\exp(-kt^m)\}$ .

Los valores de las constantes “k” y “m” se pueden estimar al graficar el tiempo de contacto contra la relación  $N_t/N_0$  y transformando la curva exponencial obtenida (curva de sobrevivencia) en una relación lineal (Harnett y Murphy, 1987). Este análisis de regresión no lineal de las curvas de sobrevivencia se realizó con el Programa Origin© versión 7.

### A4.1. Resultados regresión no lineal curvas de sobrevivencia pruebas con plata coloidal

En la Figura A4.1 se presentan las curvas de sobrevivencia obtenidas en las pruebas “a” y “b” con diferentes concentraciones de plata coloidal. Los resultados del análisis de regresión se presentan en la Tabla A4.1. En ella se observa que para una misma concentración de *E. coli* al aumentar la concentración de Ag coloidal la constante de rapidez de inactivación también aumenta. A una misma concentración de Ag coloidal al aumentar la concentración de *E. coli*, la constante de rapidez de inactivación disminuye. En el caso de la prueba “b” para las concentraciones de 0.05 y 0.1 mg/L de Ag coloidal, la constante “m” a la cual se eleva el tiempo es menor a la unidad, lo que indica que la rapidez de inactivación disminuye con el tiempo de contacto.

TABLA A4.1. RESULTADOS REGRESIÓN NO LINEAL PRUEBAS “a” Y “b”

Prueba	Ecuación ajustada	$N_t/N_0=\exp(-kt)$	$N_t/N_0=\exp(-kt^m)$		Error	$\chi^2$	R <sup>2</sup>
	Concentración Ag coloidal (mg/L)	k	k	m			
“a” 3.2 × 10 <sup>2</sup> UFC/mL	0.05	3.2426	-	-	1.11 × 10 <sup>-20</sup>	1.89 × 10 <sup>-43</sup>	1
	0.1	5.7683	-	-	2.40 × 10 <sup>-16</sup>	5.64 × 10 <sup>-37</sup>	1
	0.5	15.4058	-	-	1.19 × 10 <sup>-01</sup>	1.10 × 10 <sup>-14</sup>	1
“b” 2.85 × 10 <sup>3</sup> UFC/mL	0.05	-	1.7832	-	3.22 × 10 <sup>-03</sup>	2.91 × 10 <sup>-07</sup>	1
			-	0.4109	8.17 × 10 <sup>-03</sup>		
	0.1	-	2.4035	-	2.00 × 10 <sup>-04</sup>	3.17 × 10 <sup>-10</sup>	1
			-	0.4362	2.00 × 10 <sup>-04</sup>		
	0.5	6.2659	-	-		6.27 × 10 <sup>-38</sup>	1

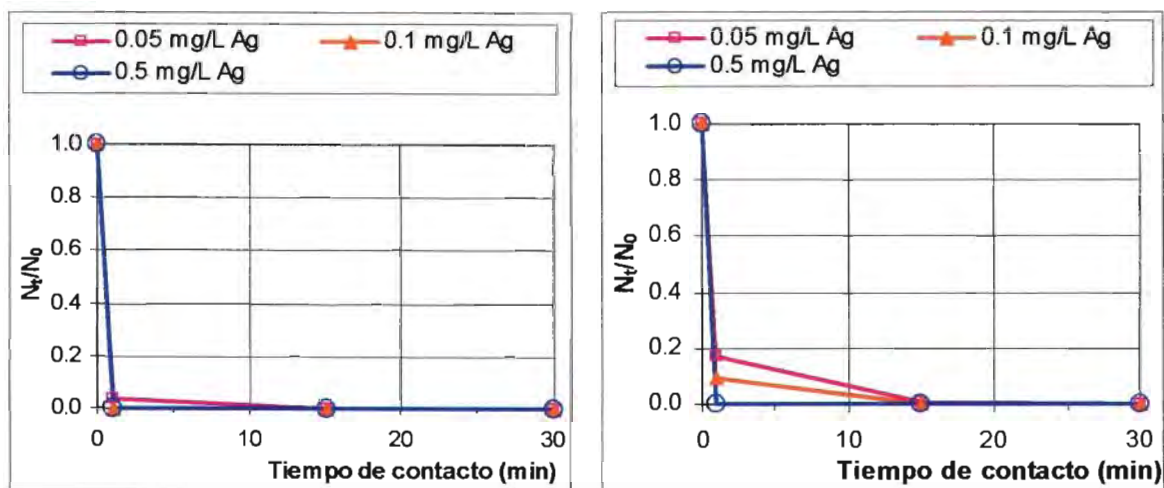


FIGURA A4.1. Curvas de sobrevivencia de *E. coli* a tres concentraciones de plata coloidal. Izquierda prueba "a". Derecha prueba "b".

En la Figura A4.2 se presentan las curvas de sobrevivencia de las pruebas "c" y "d" donde se empleó una mayor concentración de *E. coli* y las pruebas "e" y "f" con diferente cantidad de materia orgánica en el medio. En la Tabla A4.2 se presentan los resultados de la regresión no lineal realizada para ambas pruebas. En ella se observa que al aumentar la concentración de *E. coli* o la cantidad de materia orgánica en el ARE, disminuye la constante de rapidez de inactivación y de igual modo se ve afectada la constante "m" al ser menor a la unidad, indicando nuevamente que la rapidez de inactivación disminuye con el tiempo de contacto.

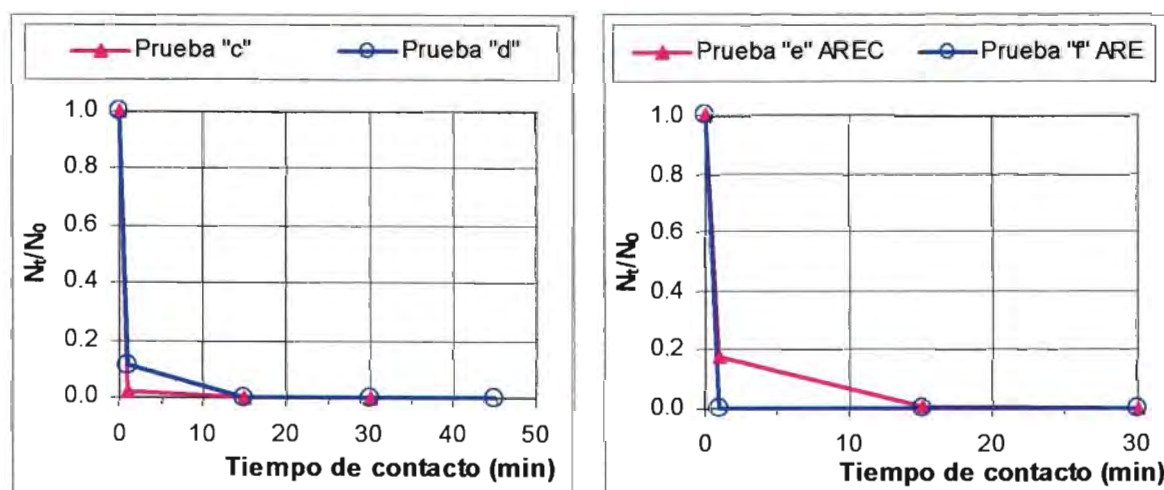


FIGURA A4.2. Curvas de sobrevivencia de *E. coli* con 0.05 mg/L de Ag coloidal. Izquierda pruebas "c" y "d" con mayor concentración de *E. coli*. Derecha pruebas "e" y "f" con diferente concentración de materia orgánica.

TABLA A4.2. RESULTADOS REGRESIÓN NO LINEAL PRUEBAS “c”, “d”, “e” Y “f”

Prueba	Ecuación ajustada Concentración <i>E. coli</i> (UFC/mL) y/o DQO (mg/L)	$N_t/N_0=\exp(-kt)$		$N_t/N_0=\exp(-kt^m)$		Error	$\chi^2$	R <sup>2</sup>
		k	k	m				
“c”	$7.35 \times 10^4$	3.8259				$9.19 \times 10^{-17}$	$4.01 \times 10^{-36}$	1
“d”	$2.82 \times 10^5$		2.1804			$4.00 \times 10^{-05}$	$1.82 \times 10^{-11}$	1
				0.5086		$1.06 \times 10^{-03}$		
“e”	$6.6 \times 10^3 / 91.79$		1.7256			$2.45 \times 10^{-03}$	$1.88 \times 10^{-07}$	1
				0.4291		0.00712		
“f”	$8.4 \times 10^3 / 38$	6.0662				$7.56 \times 10^{-38}$	$3.07 \times 10^{-80}$	1

#### A4.2. Resultados regresión no lineal curvas de sobrevivencia pruebas con AMNP y Sulfuro de plata

En la Figura A4.3 se presentan las curvas de sobrevivencia obtenidas en las pruebas con AMNP estéril y sin esterilizar con diámetro de partícula de 2 a 3.36 mm y, AMNP estéril, sin esterilizar y Ag<sub>2</sub>S con diámetro de partícula de 0.6 mm. Los resultados del análisis de regresión se presentan en la Tabla A4.3. En ella se observa que la constante de rapidez de inactivación es mayor cuando se emplea el AMNP sin esterilizar en comparación con el AMNP estéril, además, la obtenida con Ag<sub>2</sub>S es de un orden de magnitud menor. En todos los casos la constante “m” es mayor a la unidad lo que indica que la rapidez de inactivación se incrementa con el tiempo de contacto.

TABLA A4.3. RESULTADOS REGRESIÓN NO LINEAL PRUEBAS CON AMNP Y Ag<sub>2</sub>S

Prueba	Ecuación ajustada Concentración <i>E. coli</i> (UFC/mL)	$N_t/N_0=\exp(-kt^m)$		Error	$\chi^2$	R <sup>2</sup>
		k	m			
AMNP estéril (diámetro partícula 2 –3.36 mm)	$7.4 \times 10^3$	0.0436		$5.74 \times 10^{-02}$	5.39E-03	0.9836
			1.2120	$4.63 \times 10^{-01}$		
AMNP s/esterilizar (diámetro partícula 2 -3.36 mm)	$7.4 \times 10^3$	0.2368		$3.00 \times 10^{-04}$	5.75E-08	1
			1.1997	$6.77 \times 10^{-03}$		
AMNP estéril (diámetro partícula 0.6 mm)	$2.75 \times 10^3$	0.0371		$7.00 \times 10^{-05}$	4.92E-09	1
			1.4969	$7.30 \times 10^{-04}$		
AMNP s/esterilizar (diámetro de partícula 0.6 mm)	$2.75 \times 10^3$	0.0755		$5.30 \times 10^{-04}$	2.43E-07	1
			1.5096	$4.62 \times 10^{-03}$		
Ag <sub>2</sub> S (diámetro de partícula 0.6 mm)	$2.75 \times 10^3$	0.0060		$1.09 \times 10^{-03}$	8.00E-05	0.9996
			1.6259	$5.85 \times 10^{-02}$		



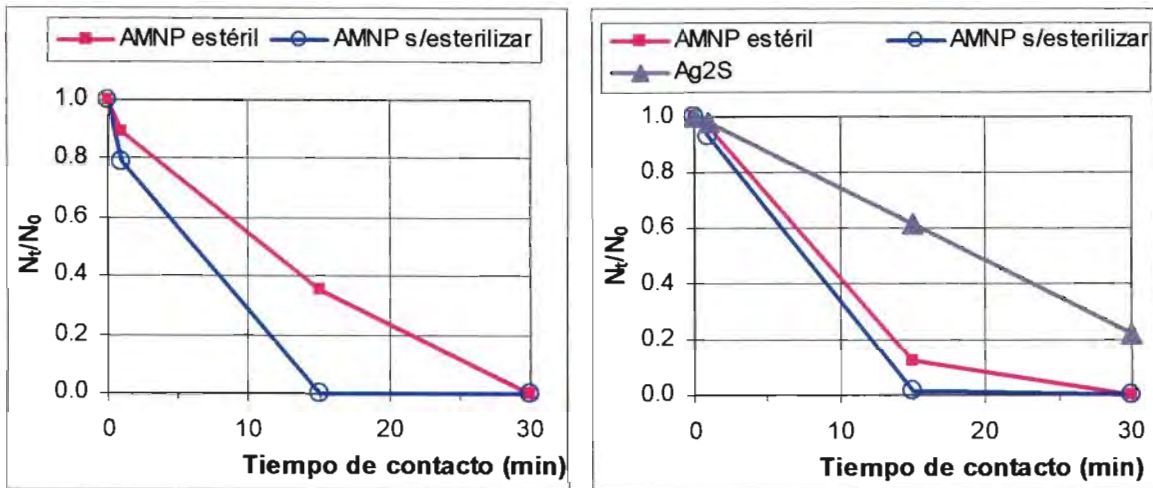


FIGURA A4.3. Curvas de sobrevivencia de *E. coli* con AMNP. Izquierda pruebas con AMNP, diámetro de partícula 2-3.36 mm. Derecha pruebas con AMNP y Ag<sub>2</sub>S, diámetro de partícula 0.6 mm.

### A4.3. Resultado regresión no lineal curva de sobrevivencia prueba con granalla de plata

En la Figura A4.4 se presenta la curva de sobrevivencia obtenida durante la fase de experimentación preliminar al usar granalla de plata. Los resultados del análisis de regresión se presentan en la Tabla A4.4. En ella se observa que la constante de rapidez de inactivación es pequeña y que la constante “m” es mayor a la unidad lo que indica nuevamente que la rapidez de inactivación se incrementa con el tiempo de contacto.

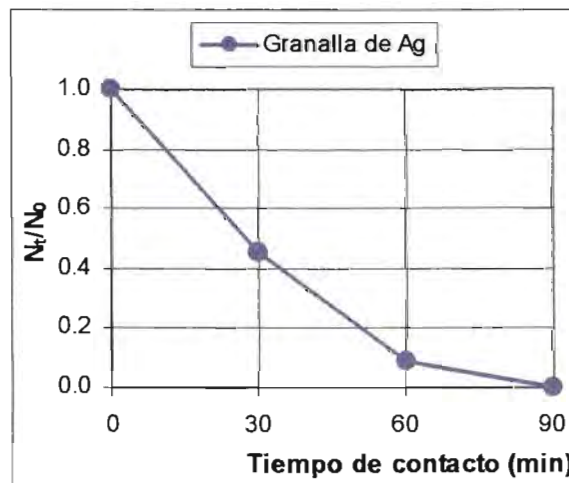


FIGURA A4.4. Curva de sobrevivencia de *E. coli* con granalla de plata.

TABLA A4.4. RESULTADOS REGRESIÓN NO LINEAL PRUEBAS CON GRANALLA DE Ag

Ecuación ajustada Concentración <i>E. coli</i> (UFC/mL)	$N_t/N_0 = \exp(-kt^m)$		Error	$\chi^2$	$R^2$
	k	m			
$7.4 \times 10^3$	0.0029	1.6500	$5.40 \times 10^{-04}$	$3.00 \times 10^{-05}$	0.9998
			$5.25 \times 10^{-02}$		