

TRABAJO ESPECIAL DE GRADO

DISEÑO DE UN SISTEMA PARA LA DESINFECCIÓN DE AGUAS DE CONSUMO HUMANO Y DE USO INDUSTRIAL EMPLEANDO UN MATERIAL INORGÁNICO ANTIBACTERIAL

Presentado ante la
Ilustre
Universidad Central de Venezuela
por los Brs. MAZA G, Carlos
y MENDES C, Juan J
para optar al Título
de Ingeniero Químico

Caracas, Abril 2009

TRABAJO ESPECIAL DE GRADO

DISEÑO DE UN SISTEMA PARA LA DESINFECCIÓN DE AGUAS DE CONSUMO HUMANO Y DE USO INDUSTRIAL EMPLEANDO UN MATERIAL INORGÁNICO ANTIBACTERIAL

Tutores:

Profa. Maria Virginia Najul

Profa. Ángela Sifontes

Presentado ante la Ilustre
Universidad Central de Venezuela
por los Brs. MAZA G, Carlos
y MENDES C, Juan J.
para optar al Título
de Ingeniero Químico

Caracas, Abril 2009

Agradecimientos:

Carlos Maza;

Agradezco a mis padres por toda la ayuda, amor, confianza y respeto que han tenido todos estos años; por brindarme la seguridad de una casa en la ciudad y tener la paciencia en que saldría adelante con la carrera. Por confiar en mí para estudiarla y hacer que mi conocimiento pueda ayudar a hacer del mundo un mejor lugar. Gracias por permitirme vivir esta experiencia de vida y tenerlos cerca mientras me convierto en un profesional integral para orgullo de ustedes.

Agradezco a los pocos profesores que me brindaron más allá de sus conocimientos en el área, su confianza y tiempo para conocernos y poder vernos, cara a cara, como colegas en el ingenio de nuevas ideas emprendedoras. Además de algunos profesores que me hicieron ver claramente como no quería ser y llevar mi vida.

Agradezco haber estudiado en esta universidad que me brindó la seguridad de sus puertas y pudo lograr hacerme sentir protegido contra el mundo, en una ciudad que cada vez se siente más ajena para nosotros. Un recinto donde mis ideas pudieron ser escuchadas y mostradas, en donde no solo pude obtener un título de ingeniero sino una conciencia humana, artística, intelectual y ecológica más amplia sobre el mundo. Una casa en donde me enseñaron a luchar por mis ideas y hacer que la sombra de la ignorancia y cobardía fuesen alejadas de mi vida.

Agradezco al Teatro Universitario, por darme el impulso en las tablas que tanto anhelaba, la experiencia y vivencia de los viajes con mi grupo de amigos por el Mundo, las grandes amistades que con mucha suerte he podido conservar y mantener en mi vida; el honor de haber sido dirigido por grandes artistas y poder llenarme de su experiencia, sabiduría, visión de las artes y amistad.

Agradezco vivir tan cerca de la Universidad y haber corrido rápido a buscar un trabajo que se haya quedado en la mesa de la casa algún día, o un vestuario para una obra que estuviera presentando por allí e incluso poder brindarles a mis amigos un lugar donde poder estar a ratos entre las múltiples ocupaciones de algunos días.

Agradezco haber vivido con mis hermanos en nuestro paso, corto o largo de nuestras carreras y habernos conocido más, siempre los tendré en mi corazón y atesorare cada minuto que compartí y conviví con cada uno de ustedes. Gracias por brindarme su compañía, ayuda, seguridad, tiempo e incluso por darme algunos momentos tensos de nuestra convivencia, ya que me permitió aprender de nuestros caracteres y entender las diferentes formas como cada uno ve la vida.

Agradezco a mis amigos, hermanos de casa, visitantes ilustres, revoltosos y huéspedes temporales, por hacer de mi casa y vida un camino lleno de alegría, diversión, entretenimiento, armonía, aprendizaje, seguridad, apoyo, performance,

fiestas y muchas cosas más, espero poder contar con todos ustedes muchos años más.

Agradezco a todas aquellas persona que nos ayudaron a sacar este trabajo adelante, por brindarnos los medios, experiencia, tiempo, ayuda e incluso su aporte humano, en concentrar nuestras energías y conocimientos para poder lograr que nuestra investigación tuviera un valor y un aporte para ayudar a que este mundo sea más limpio, ya que es nuestra única casa y es responsabilidad de todos tomar la conciencia necesaria para mejorarla y cuidarla.

Juan José Mendes;

Primeramente, quisiera agradecer a Dios, por darme la fuerza y la confianza necesaria para cumplir los objetivos que me he propuesto. Aunque no lo he visto sé que está allí, en cada una de las cosas simples y agradables de la vida. Gracias por darme la oportunidad de estar aquí.

Agradezco a mis padres, María Consuelo y José Mendes, apoyo incondicional en este maratón. Gracias por haber estado siempre, en los malos y buenos momentos, gracias por el apoyo y por haberme enseñado a ser quien soy, sin duda, son los mejores papas del mundo y estaré siempre agradecido, sé que no ha sido fácil pero llegamos al final. Viejos, los quiero muchísimo, los amo. Espero que siempre se sientan orgullosos.

Agradezco a mis hermanos, Anabel y José Antonio, siempre preocupados, atentos y aconsejándome de la mejor manera. Ustedes dos siempre han sido y serán un gran ejemplo de dedicación y esfuerzo. Los quiero mucho.

Agradezco a Alejandra Romero, mi ale, mi flaca, mi novia, compañera fiel de todas mis derrotas y victorias, de las alegrías y disgustos, gracias por estar a mi lado en todo momento y ser un apoyo incondicional ante las adversidades, parte de esto es tuyo, lo logramos!. Solo tú sabes cómo ha sido este camino y te agradezco por seguir aquí. Tú me ayudaste a creer en que si se pueden alcanzar los sueños. Te amo ale.

Agradezco a mis amigos, a los de verdad, no a los que solo se hacen llamar así. No es necesario que los nombre a todos porque ellos saben quiénes son y yo sé quiénes son ellos. Agradezco a esas personas que han contribuido a hacer mi vida más feliz, llenándola de buenos momentos y recuerdos. A mi gran amiga Adri, nunca te voy a olvidar, gracias por todo, a ti te llevare siempre en un muy buen lugar de mi corazón, tu siempre has confiado en mí. A Carlos, mi gran pana y amigo, quien me abrió las puertas de su casa como si fuese la mía propia, ahora mi casa es también la tuya.

Agradezco a Angela Sifontes, quien me enseñó cual es el verdadero concepto de docente. Gracias por confiar en nosotros y por haber dedicado tanto tiempo y

esfuerzo en este gran trabajo, si no fuera por ti, todo hubiese sido diferente. A la profesora María Virginia Najul, sinónimo de experiencia, eficiencia y calidad, muchas gracias profe, usted también contribuyo a que esto fuese real. A Tamara, yo no sé cómo alguien hace tanto por personas que desconoce, eso nunca se olvida. Gracias.

Agradezco por último y no por ser menos importante a mi queridísima UCV, que me dejo mucho más que una simple carrera universitaria. A sus pasillos llenos de historia, su gente, los artesanos de ciudad universitaria con los que me sentí tan cómodo, sus colores, los conciertos, sus espacios perfectos para patinar donde en más de una oportunidad me fui directo al piso, pero siempre me levante para seguir adelante. Te llevo en el corazón universidad y estaré eternamente agradecido por haber pertenecido a tu comunidad, donde me hice hombre y madure, donde viví una de las experiencias más gratas de mi vida. Gracias.

PD: Queremos agradecer también a todas aquellas personas de disfraz y careta, a los profesores con parche y lorito, para los que un número vale más que mil soluciones creativas basadas en la teoría. Todo esto nos hizo darnos cuenta de quienes somos en realidad y nos reafirmo la idea de nunca ser como ustedes. La verdad absoluta no la profesa solo un docente ni tampoco se encuentra exclusivamente en un salón.

Dedicatoria:

Queremos dedicar este trabajo a Dios, quien nos dio la fuerza necesaria para seguir adelante. A nuestros padres, por su esfuerzo y dedicación y a nuestros familiares y amigos.

RESUMEN**CAPITULO I**

INTRODUCCIÓN	1
ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN	2
OBJETIVOS	13

CAPITULO II. MARCO TEÓRICO

<i>II.1. Contaminación de los cuerpos de agua</i>	14
<i>II.1.1. Calidad del agua</i>	15
<i>II.1.2. Agua potable, saneamiento, salud y enfermedades</i>	15
<i>II.1.3. Bacterias como indicadores de contaminación</i>	16
<i>II.2. Teoría de la desinfección del agua</i>	18
<i>II.2.1. Tipos de remoción primaria en desinfección del agua</i>	19
<i>II.2.2. Desinfección del agua</i>	20
<i>II.2.2.1. Velocidad con la que se realiza la desinfección</i>	21
<i>II.2.2.2. Factores que influyen en la desinfección</i>	22
<i>II.2.2.3. Modos de desinfección del agua</i>	24
<i>II.2.2.4. Desinfección con cloro</i>	27
<i>II.2.2.5. Desinfección con otros agentes químicos</i>	30
<i>II.3. Iones de Plata y sus propiedades antibacterianas</i>	34
<i>II.3.1. Preparación de nano-partículas de plata: método poliol</i>	35
<i>II.3.2. Nano-partículas de plata como bactericidas alternativos</i>	36
<i>II.3.3. Toxicidad</i>	38
<i>II.3.4. Propiedades químicas</i>	38
<i>II.4. Las alúminas, como soportes catalíticos para la inactivación de microorganismos en aguas</i>	44
<i>II.5. Técnicas de Caracterización</i>	45
<i>II.5.1. Difracción de rayos X (DRX)</i>	45
<i>II.5.2. Microscopía electrónica</i>	46
<i>II.5.3. Microscopio electrónico de transmisión (MET)</i>	46
<i>II.5.4. Microscopio electrónico de barrido (MEB)</i>	46
<i>II.5.5. Espectroscopía de rayos X característicos</i>	48
<i>II.5.6. Espectroscopía Auger y XPS</i>	48
<i>II.5.7. Difracción de electrones</i>	49
<i>II.5.8. Espectroscopía de infrarrojo (IR)</i>	49
<i>II.5.9. Espectrometría ultravioleta-visible</i>	49
<i>II.5.10. Adsorción física de nitrógeno</i>	50

II.5.11. Superficie específica, S_{bet}	51
CAPITULO III. MARCO METODOLÓGICO	
III.1. Etapa 1. Síntesis y caracterización de nano-partículas de plata	53
III.1.1. Preparación de nano-partículas de plata	53
III.1.2. Caracterización de las nano-partículas de plata	54
III.2. Etapa 2. Preparación de las nano-partículas de plata soportadas	54
III.2.1. Preparación del soporte	54
III.2.2. Preparación de las nano-partículas soportadas	55
III.2.3. Determinación del contenido de plata en las diferentes formas de soporte de las nano-partículas de plata	56
III.2.4. Caracterización del soporte y las nano-partículas de plata soportadas sobre gamma-alúmina	56
III.3. Etapa 3. Análisis de la capacidad bactericida de los materiales	57
III.4. Etapa 4. Simulación del proceso de desinfección mediante ensayos escala laboratorio	57
III.4.1. Condiciones generales del ensayo	58
III.4.2. Determinación de la capacidad bactericida de las nano-partículas de plata soportadas en polvo de gamma-alúmina comercial, en un sistema por carga, escala laboratorio	59
III.4.3. Determinación de la capacidad bactericida de las nano-partículas de plata soportadas en pellets de gamma-alúmina comercial, en un sistema por carga, escala laboratorio	60
III.4.4. Comparación entre la capacidad bactericida de las nano-partículas de plata soportadas en polvo de gamma-alúmina comercial con las soportadas en polvo de gamma-alúmina sintetizada MM	61
III.4.5. Determinación de la capacidad bactericida de las nano-partículas de plata soportadas en pellets de gamma-alúmina comercial, en un sistema continuo de lecho fijo, escala laboratorio	62
III.4.6. Determinación de la capacidad bactericida de las nano-partículas de plata soportadas en pellets de gamma-alúmina comercial, en un sistema continuo de lecho fijo, escala laboratorio, duplicando la altura del lecho	63
III.4.7. Determinación del contenido de plata residual en los ensayos para la determinación de la capacidad bactericida	64

CAPITULO IV. RESULTADOS Y DISCUSION

<i>IV.1 Caracterización de las alúminas empleadas como soporte</i>	65
<i>IV.2 Caracterización textural de las alúminas mediante el estudio de la adsorción-desorción de nitrógeno</i>	67
<i>IV.3. Caracterización de nano-partículas de plata mediante la técnica UV-visible</i>	73
<i>IV.4. Caracterización de nano-partículas de plata soportadas sobre partículas de gamma-alúmina</i>	76
<i>IV.4.1. Espectroscopia fotoelectrónica de rayos X (XPS)</i>	76
<i>IV.4.2. Difractogramas (DRX)</i>	78
<i>IV.4.3. Microscopia electrónica y difracción de rayos X (EDX)</i>	79
<i>IV.4.3.1. Análisis de las muestras de nano-partículas de plata sobre gamma-alúmina, preparadas mediante el método de ultrasonido</i>	80
<i>IV.4.3.2. Análisis de las muestras de nano-partículas de plata sobre gamma-alúmina, preparadas mediante el método de ultrasonido</i>	84
<i>IV.4.4. Microscopia de transmisión (TEM)</i>	86
<i>IV.4.5. Determinación del contenido de plata en los sólidos sintetizados</i>	87
<i>IV.5. Capacidad bactericida de las nano-partículas de plata soportadas sobre pellets de gamma-alúmina comercial, bajo las metodologías de soporte con ultrasonido e impregnación</i>	88
<i>IV.6. Resultados de la simulación del proceso de desinfección de las nano-partículas de plata sobre gamma-alúmina en sus distintas configuraciones, en sistemas por carga y continuo, mediante ensayos escala laboratorio</i>	89
<i>I.V.6.1. Caso 1. Nano-partículas de plata soportadas en polvo de gamma-alúmina comercial, en un sistema por carga, escala laboratorio</i>	89
<i>I.V.6.2. Caso 2. Nano-partículas de plata soportadas en pellets de gamma-alúmina comercial, en un sistema por carga, escala laboratorio</i>	91
<i>IV.6.3. Caso 3. Comparación entre las nano-partículas de plata soportadas en polvo de gamma-alúmina comercial con las soportadas en polvo de gamma-alúmina sintetizada MSM</i>	92
<i>IV.6.4. Caso 4. Nano-partículas de plata soportadas en pellets de gamma-alúmina comercial, en sistema continuo de lecho fijo, escala laboratorio</i>	94
<i>I.V.6.5. Caso 5. Nano-partículas de plata soportadas en pellets de gamma-alúmina comercial, en un sistema continuo de lecho fijo, escala laboratorio, duplicando la altura del lecho</i>	95

<i>I.V.6.6. Caso 6. Comparación entre las nano-partículas de plata soportadas en gamma-alúmina comercial y el cloro para evaluar su factibilidad técnico-económica</i>	96
IV. CONCLUSIONES	97
V. RECOMENDACIONES	99
VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	100
VII. ANEXOS	106

RESUMEN

Recientemente se han desarrollado estudios utilizando nano-partículas de plata como agentes bactericidas, al parecer, cuando algunos tipos de bacterias y microorganismos entran en contacto con partículas de plata, estas inhiben el crecimiento de ciertas proteínas en la bacteria alterando su capacidad de replicar su ADN, produciendo así la muerte del microorganismo. Desde los comienzos de la humanidad, la plata ha sido extensamente usada como bactericida y para tratamiento de agua, desde los fenicios hasta los romanos. Sin embargo, el consumo o ingesta de plata en ciertas concentraciones es perjudicial para la salud de las personas, es por ello que debe controlarse su uso y aplicabilidad.

A continuación se propone emplear un sistema bactericida que se basa en soportar nano-partículas de plata sobre partículas de gamma alúmina para ser evaluado como posible desinfectante para tratamientos de agua potable. Este sistema se basa en la nano-tecnología para sintetizar partículas de plata empleando el método poliol con calentamiento por microondas, soportadas sobre dos tipos de alúmina, una sintetizada en el laboratorio (MSM) y otra comercial, a fin de comparar sus resultados. Para llevar a cabo el soporte de las nano-partículas sobre dicha alúmina, se emplearon dos técnicas diferentes, impregnación y ultrasonido. El sistema final conformado por las nano-partículas soportadas sobre las alúminas, se probó como antibacterial sobre un tipo de microorganismos (*Escherichia Coli*), y su capacidad bactericida se comparó con un agente desinfectante universal, el cloro. Para realizar la experiencia se prepararon lechos fijos del material sintetizado (nano-partículas de plata soportadas sobre alúmina), en forma de pastillas y polvo, a través de los cuales se hizo circular una corriente de agua contaminada con la bacteria anteriormente mencionada. Los resultados obtenidos en la experiencia se muestran a continuación, donde además se realiza un análisis exhaustivo de los datos con la finalidad de determinar la factibilidad de usar dicho sistema como sistema bacteriológico en el tratamiento de agua potable.

INTRODUCCIÓN

Según las estadísticas más recientes de la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2002)¹, 1,6 millones de personas mueren anualmente en países en vía de desarrollo a causa de enfermedades diarreicas, atribuibles a la falta de acceso a agua potable y saneamiento básico. El 90% son niños menores de 5 años. Asimismo, considerando que para el año 2002, 1100 millones de personas no tenían acceso al agua potable, se justifican todos los esfuerzos para reducir uno de los factores de riesgo.

Desde hace varias décadas se ha demostrado que la plata posee propiedades bactericidas. Recientemente se ha encontrado, que la síntesis de este elemento bajo la forma de nano-partículas metálicas, puede mejorar su eficiencia antibacteriana contra 150 tipos de microbios incluyendo bacterias como *Pseudomona aeruginosa*, *Staphylococcus Aureus*, *Escherichia Coli*, *Salmonella typhi* y *Vibrio colerae*. El tamaño de dichas nano-partículas se sitúa en el rango de millonésimas de milímetro (nanómetros) y sus propiedades físicas son peculiares, en comparación con partículas grandes del mismo material, ya que al reducirse el tamaño, aumenta la superficie disponible para interactuar con otros materiales optimizando su acción bactericida.

En este sentido, se plantea diseñar un sistema económico, de fácil obtención y utilización, empleando un material inorgánico anti-bacterial, constituido por nano-partículas de plata soportadas sobre alúmina de gran área superficial y alta porosidad, como alternativa para la desinfección de aguas para consumo humano e industrial.

¹ http://www.who.int/water_sanitation_health/mdg1/es/. Revisado 12 de abril de 2008

ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN

Recientemente se han diseñado materiales cuyas modificaciones estructurales implican la síntesis de nano-partículas metálicas, las cuales pueden ser adsorbidas sobre distintos soportes de origen inorgánico, con la finalidad de demostrar su actividad antibacterial. Algunas experiencias relacionadas con el propósito del presente Trabajo Especial de Grado, que muestran distintas maneras de síntesis, son discutidas a continuación:

Chen, Z., Zhang, S. y colaboradores (2004), se basaron en estudios previos sobre fibras de Carbón Activado (CA), alojando en su estructura partículas de plata como agentes antibacteriales. Este grupo de investigación sintetizó un aerogel de carbono (CA) con propiedades antibacteriales. El aerogel de carbono como soporte para las nano-partículas de plata, ofrece diversas propiedades de interés como alta área superficial, alta porosidad y una estructura interna de redes cruzadas, lo que permite que partículas pequeñas de plata (nano-partículas) entren por los poros y se alojen dentro de la estructura del soporte. Para llevar a cabo la deposición de las nano-partículas de plata sobre el aerogel, se sumergieron los soportes en soluciones de nitrato de plata (AgNO_3) con agitación a temperatura ambiente por 2-72 horas. Luego del proceso de agitación, se procedió al secado de las muestras a 110°C por 5 horas; de esta manera, las nano-partículas de plata se reducen y depositan sobre el aerogel. Para determinar algunas de las propiedades de los aerogeles sintetizados. Se efectuaron estudios de caracterización, los cuales evidenciaron que las nano-partículas de plata formadas, presentan morfología esférica y se encuentran bien dispersas sobre el soporte. La actividad antibacterial de los aerogeles fue puesta a prueba con cultivos de bacterias de *Escherichia Coli* y *Staphylococcus Aureus*. En este sentido, se colocaron diferentes muestras de material con contenido de plata de 2.5, 5

y 10 mg, dentro de los platos de cultivo (10^5 ufc²) por 24 horas, posteriormente el número de colonias de bacterias fue contabilizado. Los autores también realizaron pruebas antibacteriales dinámicas, donde colocaron una muestra de plata soportada sobre CA (1,25 g) dentro de una columna (1 cm de diámetro y 25 cm de largo) por donde hicieron circular una corriente de agua con una concentración de 1×10^4 ufc/mL de *E. Coli* a un flujo de 5 mL/min.

Los resultados obtenidos en la experiencia se resumen en la Tabla 1. Por otra parte, se demostró que las altas áreas superficiales de los CA y su porosidad, ofrecen una gran estructura de espacios vacíos que favorecen la dispersión de las nano-partículas de plata en el soporte, lo que incrementa la actividad antibacterial del material. También se hace referencia a que la distribución y el tamaño de las partículas de plata es influenciado por el contenido de plata y el tiempo de inmersión del gel en el nitrato de plata.

Tabla N° 1. Actividad antibacterial de diferentes tipos de aerogeles con plata (Ag) soportada, sobre *Escherichia Coli* y *Staphylococu. Aureus* en 10 mL de agua después de 2 horas de contacto.

Muestra	Contenido de Ag en las muestras (%)	E. Coli (ufc/mL)		S. aureus (ufc/mL)	
		2.5 mg*	5.0 mg*	5.0 mg*	10.0 mg*
Blanco	0	1.92×10^5	1.92×10^5	1.80×10^5	1.80×10^5
CA-Ag1	1.4	8.70×10^3	0	8.50×10^4	6.20×10^3
CA-Ag2	3.6	0	0	1.33×10^3	0
CA-Ag10	6.5	0	0	0	0
CA-Ag3	12.5	0	0	0	0
CA-Ag4	26.3	0	0	0	0

Nota: * se refiere al peso de los aerogeles con nano-partículas soportadas. (Chen, Z., Zhang, S. y cols., 2004)

² ufc: unidades formadoras de colonias

Salopek-Sondi, B. e Ivan Sondi (2004), investigaron la acción antimicrobiana de nano-partículas de plata sobre colonias de *Escherichia Coli*. Las nano-partículas de plata se produjeron por la reducción de iones plata contenidos en una solución de nitrato de plata, en contacto con “Daxad 19” (medio nutritivo para las bacterias) y un agente estabilizante, garantizando así, la homogeneidad de las partículas formadas, cuyos diámetros corresponden a unos pocos nanómetros (12 nm), generando de este modo, una gran área superficial específica ($158 \text{ m}^2\text{g}^{-1}$). En esta experiencia, se emplearon colonias formadas por 10^5 unidades de *Escherichia Coli*, las cuales fueron establecidas en platos de cultivo, en presencia de partículas de plata nanométricas. Las pruebas antibacteriales se llevaron a cabo en cultivos de bacterias en contacto con diferentes concentraciones de plata ($10, 50$ y $100 \mu\text{g cm}^{-3}$). Después de llevar a cabo la experiencia y analizar los resultados (Figura 1), los investigadores concluyeron que específicamente con una concentración de $10 \mu\text{g cm}^{-3}$ se inhibe el 70% del crecimiento bacterial, mientras que en los platos con una concentración de $50\text{-}60 \mu\text{g cm}^{-3}$ se causa una eliminación del 99,99% de las bacterias.

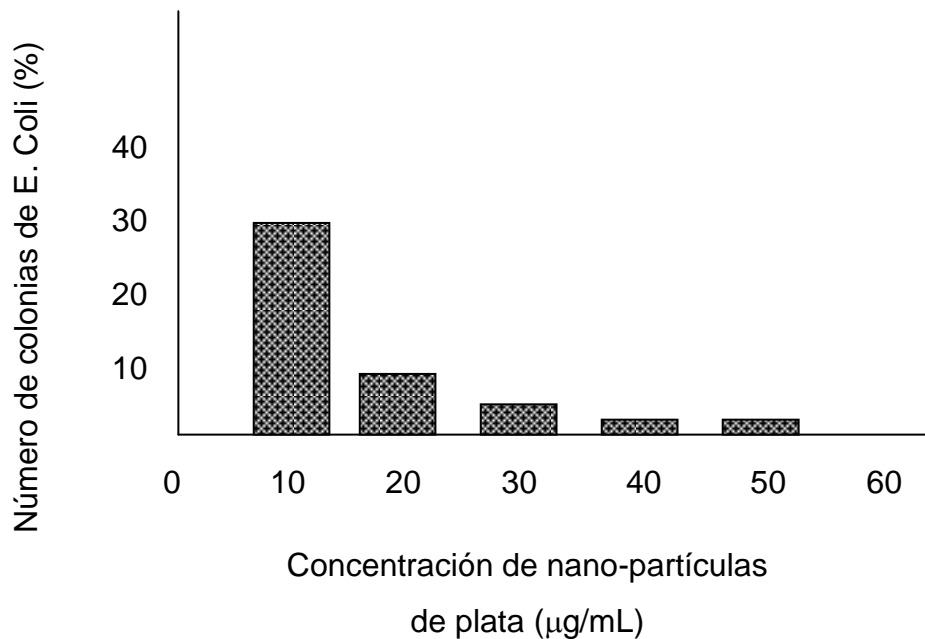


Figura 1. Número de colonias de *Escherichia Coli* en función de la concentración de nano-partículas de plata. (Salopek-Sondi y cols., 2004).

El efecto antimicrobiano de las nano-partículas de plata se debe a sus interacciones con la membrana de las bacterias, que producen una serie de reacciones y alteraciones en la misma, que degradan y destruyen las células bacterianas.

Geckeler y cols. (2007), sintetizaron un material antibacterial empleando un hidrogel y nano-partículas de plata. El hidrogel presenta como ventaja, una estructura de grandes espacios vacíos en su arreglo molecular, lo cual le permite actuar como un nano-reactor donde se pueden llevar a cabo la nucleación y formación de las nano-partículas metálicas. Los investigadores sintetizaron nano-partículas de plata en el seno del hidrogel, dando origen a un material híbrido, donde la plata se encuentra distribuida uniformemente en los espacios vacíos del hidrogel.

La síntesis de las nano-partículas metálicas se llevó a cabo en el seno del gel, sumergiendo los distintos tipos de gel en una solución de nitrato de plata, a la cual se le añadió una solución de NaBH_4 con la finalidad de reducir los iones de plata. La figura 2 muestra de forma esquemática, la preparación de las nano-partículas.

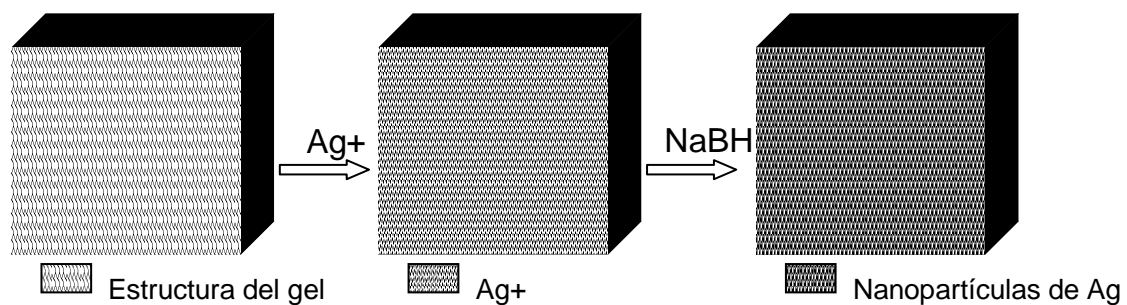


Figura 2. Representación esquemática de la formación de nano-partículas de Plata en los espacios vacíos de la estructura del gel. (Geckeler y cols., 2007).

En la experiencia se soportaron nano-partículas de plata sobre varias muestras de hidrogel con estructuras internas diferentes, lo que genera una amplia gama de formas y tamaños de nano-partículas de plata, presentando diámetros de 2,67 nm, 6,63 nm y 21,11 nm. Todas ellas, con superficie homogénea, alta estabilidad y ningún signo de

agregación, pudiendo almacenarse por seis meses sin alterar sus propiedades. Los materiales sintetizados se sometieron a pruebas antibacteriales aplicadas sobre colonias de *Escherichia Coli* cultivadas, con la finalidad de evaluar su potencial efecto bactericida. Los resultados obtenidos mostraron que los sólidos preparados presentan una fuerte actividad antibacteriana ante *E. Coli*, siendo, el de menor diámetro de partícula, 2,67 nm, el de mejor actividad, ya que todos los sólidos fueron utilizados en el ataque bacteriano hacia dichas bacterias.

Matsumoto, Miyamae y cols. (2007), realizaron estudios detallados sobre la preparación de nano-estructuras de plata, empleando el método poliol con irradiación por microondas (MW). En la experiencia utilizaron soluciones de $\text{AgNO}_3/\text{H}_2\text{PtCl}_6 \cdot 6\text{H}_2\text{O}/\text{PVP}/\text{etilenglicol}$ (EG) (PVP, polivinilpirrolidona).

Matsumoto y sus colaboradores, partieron del hecho de que las propiedades catalíticas, eléctricas y ópticas de las nano-partículas dependen en gran medida de la forma y el tamaño de las nano-estructuras de plata; por ello utilizaron una nueva técnica para llevar a cabo la síntesis controlada de dichas nano-estructuras “método poliol-microondas”, el cual ha resultado ser muy efectivo en la síntesis de varillas, cables, placas poligonales y láminas nano-métricas de plata en cortos periodos de tiempo. Los autores no sólo observaron los cambios en las formas y tamaños de las nano-estructuras de plata utilizando un microscopio electrónico de transmisión (TEM), sino que también estudiaron las propiedades ópticas de las nano-partículas mediante el empleo de la espectroscopía de absorción UV-Visible. Estudiaron el efecto de parámetros experimentales como la concentración de platino, del surfactante PVP y del AgNO_3 como precursor, además del tiempo de calentamiento empleado en el microondas. Para la experiencia se modificó un horno de microondas con la instalación de un condensador, un termopar y un agitador magnético recubierto de teflón. Las nano-partículas de plata se prepararon llevando la solución de $\text{H}_2\text{PtCl}_6 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, AgNO_3 y PVP en etilenglicol a irradiaciones por microondas a una potencia de 400W.

Por otra parte, los autores llevaron a cabo la preparación de nano-platos poligonales de Ag mediante la irradiación con microondas sobre una solución de AgNO_3 , en presencia de polivinilpirrolidona (PVP), sin otro agente reductor. Utilizaron tres disolventes, N-metilpirrolidona, piridina y etanol. Ellos encontraron que los solventes tienen influencia significativa en la morfología de las partículas de Ag y sobre el color de las soluciones bajo irradiación. También concluyeron que el aumento del punto de ebullición de los solventes resulta ventajoso, ya que promueve una mayor cristalinidad de las nano-partículas de Ag sintetizadas. Por otra parte, se prepararon nanoplatos de Ag triangulares, utilizando irradiación de MW, promoviendo la reducción del AgNO_3 en las soluciones acuosas con la participación del PVP.

Matsumoto y sus colaboradores prepararon nano-partículas esféricas de Ag empleando una baja concentración de AgNO_3 (0,01 M). Cuando la concentración de AgNO_3 fue aumentada a 0,1 M, también se aumentó el tiempo de irradiación de MW, lo que originó un cambio en la forma de las nano-partículas, de esferas a prismas truncados. También estudiaron la formación de nanotubos de Ag en una solución acuosa en presencia de oro (Au) bajo irradiación con microondas. Para ello emplearon citrato de sodio como agente reductor de los iones de plata. Encontraron que el método de calentamiento por MW en presencia de oro, es bastante eficiente para sintetizar nanotubos de plata. Comentan además, que el requisito para la producción de los nanotubos de Ag, radica en el tiempo de calentamiento por MW. La figura 3 muestra los espectros UV-visible obtenidos a partir de la solución de $\text{AgNO}_3/\text{H}_2\text{PtCl}_6/\text{H}_2\text{O}/\text{PVP}/\text{EG}$, a tres diferentes concentraciones molares de $\text{H}_2\text{PtCl}_6/\text{AgNO}_3$. La tendencia de las señales en los espectros de absorción dependen en gran medida, de la relación molar de la solución $\text{H}_2\text{PtCl}_6/\text{AgNO}_3$.

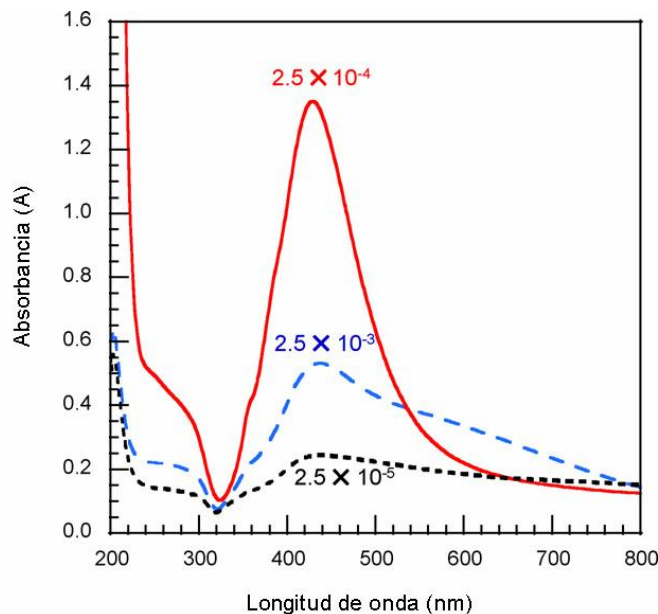


Figura 3. UV-visible de los espectros de absorción de las nano-estructuras de Ag obtenidas a diversas relaciones molares de $\text{H}_2\text{PtCl}_6/\text{AgNO}_3$. Tiempo de calefacción de MW, 3 min. (Matsumoto, Miyamae y cols., 2007)

A diferentes concentraciones, se observaron bandas con un pico a 430 nm, señal característica de la presencia de nano-partículas de plata. A bajas relaciones molares ($2,5 \times 10^{-5}$), la absorbancia es débil, esto fue atribuido a la contribución de los cristales triangulares.

En los espectros de absorción de relación molar de $2,5 \times 10^{-4}$, se observó un pico fuerte cercano a los 430 nm, indicando la formación de importantes cantidades de nanotubos (varas) y nano-cables; también se evidencia un hombro débil a los 350 nm, debido a las secciones transversales de los nanotubos y los nano-cables.

La figura 4 ((a) - (d)), muestra las fotografías (TEM) de los productos obtenidos después de llevar a cabo la irradiación por MW a diferentes tiempos de exposición (1, 1,5, 3 y 5 min). En el menor tiempo de irradiación (1 min), sólo se obtuvieron partículas esféricas con diámetros de 20-40 nm (Fig. 4(a)). Con el aumento del tiempo de irradiación empezaron a formarse nano-partículas anisotrópicas, donde se pueden apreciar algunos nanotubos y nano-cables. En un tiempo de irradiación de 5

min, se hacen evidentes nanotubos y nano-cables con diámetros de 50 nm a una longitud de onda de 500-1500 nm. Después de unos 3 min de irradiación se obtuvieron pocos cambios en las imágenes TEM, lo que indica que la reducción de iones Ag^+ se completó en aproximadamente ese tiempo.

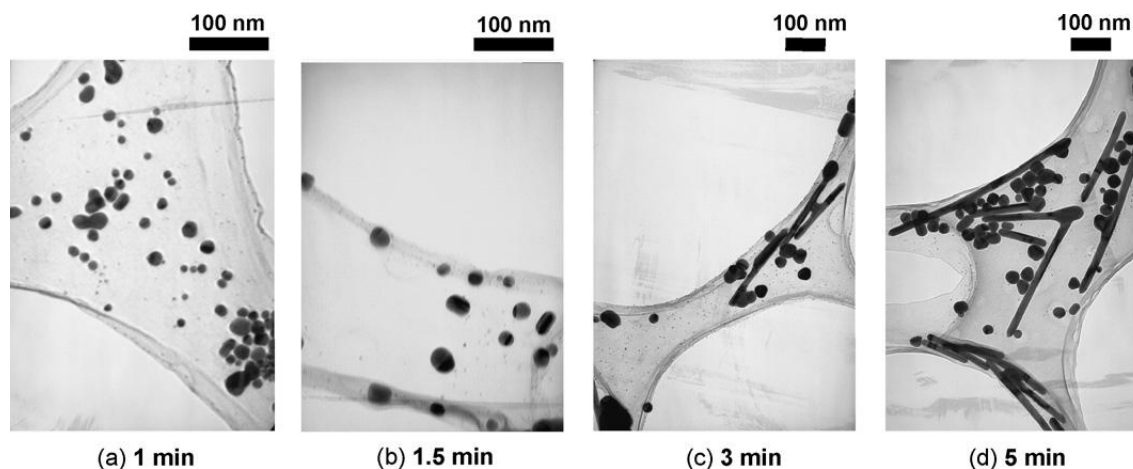


Figura 4. Imágenes (TEM) de nano-estructuras de Ag preparadas a partir de AgNO_3 (0,465 mM) / $\text{H}_2\text{PtCl}_6 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (0,116 M) / PVP (2,64 mM) / EG a diferentes tiempos de calentamiento (Matsumoto, Miyamae y cols., 2007)

La figura 5 muestra los espectros UV-visibles obtenidos a diferentes tiempos de irradiación de MW (0.5-8 min). Como puede observarse en las gráficas, la banda de absorbancia aumenta rápidamente en la región de 320-800 nm, con el incremento del tiempo de calentamiento de 0,5 a 3 min. No se observaron cambios significativos en el espectro en la región para tiempos de 3-8 min. También se evidenció la presencia de un pico común en la región de 410-430 nm, el cual se hace más fuerte con el aumento del tiempo de calentamiento.

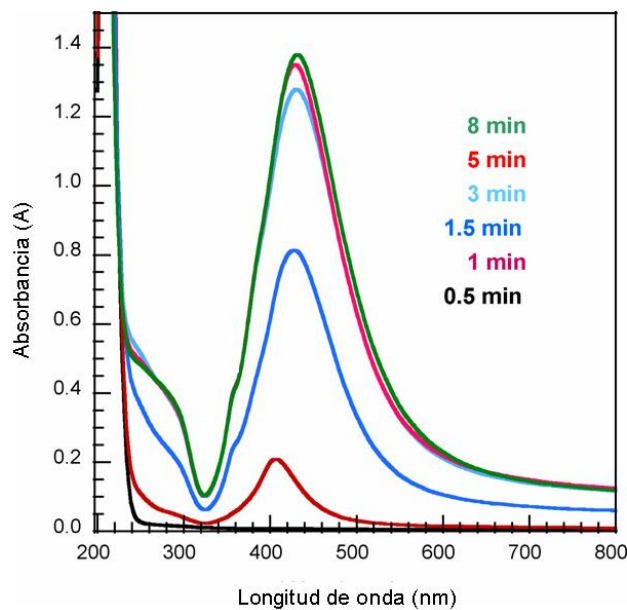


Figura 5. UV-visible de los espectros de absorción de nano-estructuras de Ag obtenidos después de diversos tiempos de calentamiento

(Matsumoto, Miyamae y cols., 2007).

La figura 6 muestra imágenes (TEM) de los productos obtenidos en el rango de concentraciones de AgNO_3 de 5,8-92 mM, empleando una relación molar constante de PVP/ AgNO_3 de 5,7 mM. Las imágenes se obtuvieron de las experiencias efectuadas a tiempos de calentamiento de 1,5 y 3 min. Es evidente que las formas y tamaños de los productos dependen tanto de la concentración de AgNO_3 como del tiempo de calentamiento. A bajas concentraciones de AgNO_3 y tiempos cortos de calentamiento, los productos dominantes son nano-partículas esféricas y nano-láminas delgadas. Por otra parte, se sintetizaron nanotubos y nano-cables 1-D a altas concentraciones de AgNO_3 con largos tiempos de calentamiento. Para el tiempo de calentamiento de 3 minutos, con altas concentraciones de AgNO_3 , se obtuvieron productos con un diámetro promedio de 54 nm, con lo que se concluyó que se obtienen nano-partículas más definidas a mayores concentraciones de solución donadora de iones plata. La densidad numérica de las partículas aumentó con el incremento de la concentración de AgNO_3 , obteniendo rendimientos de más del 80% para la concentración de AgNO_3 más alta, empleando un tiempo de calentamiento de

3 min. También se concluyó que es posible separar nano-estructuras de tipo tubular, esféricas y cúbicas por separación centrífuga con repetidos lavados en agua.

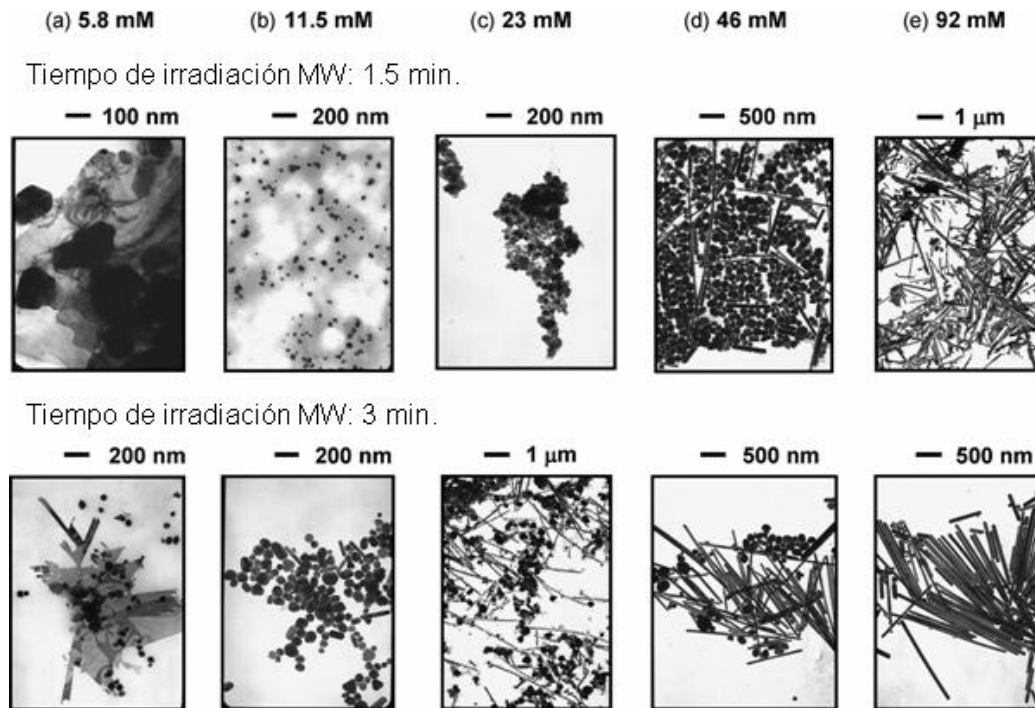


Figura 6. Imágenes (TEM) de nano-estructuras de Ag preparadas a partir de $\text{AgNO}_3/\text{H}_2\text{PtCl}_6 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (0,116 M) / PVP / EG a diversas concentraciones de AgNO_3 y una relación molar constante de PVP/ AgNO_3 de 5,7 (Matsumoto, Miyamae y cols., 2007).

Matsumoto y colaboradores, concluyeron que es posible aplicar el método poliol-microondas para llevar a cabo una síntesis rápida de nano-estructuras de plata. Estos investigadores comentan que en su experiencia se prepararon muchas muestras con diversas mezclas de nano-partículas con morfología de nanotubos y nano-cables 1-D, nano-láminas y nano-platos 2-D y esféricas y cúbicas 3-D.

Se determinó que las formas y los tamaños de las nano-estructuras de plata dependían en gran medida de parámetros experimentales como las concentraciones de Pt, PVP, y AgNO_3 y el tiempo de calentamiento en el horno de microondas.

Inspirados por las experiencias anteriormente mencionadas, en especial por la realizada por Matsumoto y su grupo de colaboradores donde plantean un método sencillo e innovador para la preparación de nano-estructuras de plata, se plantea el objetivo de la presente investigación.

OBJETIVOS

General:

Evaluación de un sistema preparado a partir de nano-partículas de plata, soportadas sobre gamma-alúmina ($\text{Ag}/\text{Al}_2\text{O}_3$), a escala laboratorio, con miras a su utilización como desinfectante para aguas de consumo humano y uso industrial

Específicos:

- Sintetizar un material con características bactericidas, a partir de nano-partículas de plata soportadas sobre gamma-alúmina
- Analizar las propiedades bactericidas de los materiales preparados
- Diseñar y construir un sistema de desinfección, a escala laboratorio, de utilidad práctica en aguas para consumo humano o industrial
- Evaluar de manera preliminar la factibilidad técnico-económica de su potencial aplicación en aguas para consumo humano o industrial

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

En este capítulo se establecen las bases teóricas necesarias para alcanzar los objetivos planteados, comenzando con la calidad del agua, agentes asociados a ella y sus posibles desinfectantes.

II.1. Contaminación de los cuerpos de agua

El aumento del uso del agua para diferentes actividades, ha incrementado los niveles de contaminación en la misma. Esta contaminación se relaciona con los vertidos, tanto de origen doméstico como industrial, en los cuerpos de agua. En el caso de los residuos de origen doméstico, la carga contaminante está representada por altos porcentajes de materia orgánica y microorganismos de origen fecal. Estos microorganismos son causantes de enfermedades de origen hídrico, que generan altos porcentajes de mortalidad en la población. Ante los posibles riesgos de contaminación tanto a nivel humano como ambiental, surge la necesidad de determinar y controlar la presencia de ciertos microorganismos en los cuerpos de agua, con la finalidad de brindar herramientas necesarias para conocer la calidad del líquido y poder tomar medidas en cuanto a sus usos y tratamientos.

Actualmente, organizaciones como la UNICEF y la Organización Mundial para la Salud (OMS) monitorean los progresos alcanzados en el cumplimiento de la meta número 10 de los Objetivos de Desarrollo del Milenio (ODM). Dicha meta tiene como finalidad reducir a la mitad para 2015, el porcentaje de personas que carecen de acceso sostenible al agua potable y el saneamiento básico. Definiendo como agua potable, al agua utilizada para los fines domésticos y la higiene personal, así como para beber y cocinar. Las características microbianas, químicas y físicas del agua potable deben cumplir con pautas de la OMS o los patrones nacionales sobre la calidad del agua potable (http://www.who.int/water_sanitation_health/mdg1/es/,2008).

II.1.1 Calidad del agua

El término calidad del agua se refiere a la composición de la misma, en la medida en que ésta es afectada por la concentración de sustancias producidas por procesos naturales y actividades humanas. Vale destacar, que es un término que no puede ser clasificado como bueno o malo, ya que depende del uso que se le da al líquido, dependiendo de si se trata de agua para consumo humano (agua potable), agrícola o industrial, recreacional o estético. Los límites tolerables de las diversas sustancias contenidas en el agua son establecidos por organizaciones como la Organización Mundial de la Salud (O.M.S.) y la Organización Panamericana de la Salud (O.P.S.) y cada país los asume o no según sus reglamentos internas como valores normativos (Tampo, 2004).

II.1.2. Agua potable, saneamiento, salud y enfermedades

Según la OMS, aproximadamente la mitad del mundo en desarrollo, lo que es equivalente a unos 2600 millones de personas carecen de servicios básicos sanitarios como letrinas, mientras que 1100 millones de personas no poseen acceso a fuentes de agua potable. Acontecimientos como estos ocasionan un gran número de consecuencias directas sobre comunidades o poblaciones en su mayoría rurales, algunas de éstas se mencionan a continuación:

- Aproximadamente 1,6 millones de personas mueren al año por enfermedades relacionadas a la falta de acceso de agua potable salubre. De este gran número de personas más del 90% son niños que no superan los 5 años de edad.
- Existen 160 millones de personas a nivel mundial infectados por esquistosomiasis, enfermedad que causa decenas de miles de muertes anuales.
- Las helmintiasis intestinales (ascariasis, tricuriasis y anquilostomiasis) afectan al mundo en desarrollo por falta de agua, saneamiento e higiene adecuados, incrementándose preocupantemente su número de casos a nivel mundial.

- 133 millones de personas sufren de fuertes parasitosis intestinales causadas por el uso de aguas contaminadas, reportándose 1,5 millones de casos de hepatitis A clínica anualmente en todo el mundo.

La meta mencionada anteriormente, que pretende alcanzar la OMS, implica el compromiso de aumentar la cobertura mundial de agua potable de un 77% en 1990 a un 88,5% en 2015. Para alcanzar esta meta se requerirá un esfuerzo sin precedentes, puesto que 2600 millones de personas carecían de acceso al saneamiento básico en 2002. Durante el período 1990-2002, el acceso a un mejor saneamiento aumentó un 9% hasta llegar a un 58% a nivel mundial. Para reducir a la mitad el porcentaje de personas carentes de un mejor saneamiento, la cobertura mundial debe aumentar hasta llegar a un 75% en 2015, a partir de un 49% en 1990. Sin embargo, si sigue la tendencia registrada en 1990-2002, faltará cubrir las necesidades de más de 500 millones de personas para que el mundo alcance la meta de saneamiento. (http://www.who.int/water_sanitation_health/mdg1/es/, 2008).

Por ello es de gran importancia el desarrollo de nuevas tecnologías que permitan sanear cuerpos de agua con el fin de sustentar las necesidades básicas de una determinada población o comunidad.

II.1.3. Bacterias como indicadores de contaminación

Las bacterias que se encuentran con mayor frecuencia en los cuerpos de agua son las bacterias entéricas que colonizan el tracto gastrointestinal del hombre y son eliminadas a través de la materia fecal. Cuando estos microorganismos se introducen en el agua, las condiciones ambientales son muy diferentes y por consiguiente su capacidad de reproducirse y de sobrevivir son limitadas. Debido a que su detección y recuento a nivel de laboratorio son lentos y laboriosos, se ha buscado un grupo alternativo de indicadores que sean de más rápida y fácil detección. El grupo más utilizado es el de las bacterias coliformes (Tortora, G. J., 2007).

El grupo de microorganismos coliformes es adecuado como indicador de contaminación bacteriana por las razones que se enumeran a continuación:

- Son contaminantes comunes del tracto gastrointestinal tanto del hombre como de los animales de sangre caliente.
- Están presentes en el tracto gastrointestinal en grandes cantidades.
- Permanecen por más tiempo en el agua que las bacterias patógenas.
- Se comportan de igual manera que los patógenos en los sistemas de desinfección.

Los coliformes fecales y la *Escherichia Coli* en particular, se han seleccionado como indicadores de contaminación fecal debido a su relación con el grupo tifoide-paratifoide y a su alta concentración en diferentes tipos de muestras. Los coliformes fecales son un subgrupo de los coliformes totales, capaz de fermentar la lactosa a 44.5 °C.

Aproximadamente el 95% del grupo de los coliformes presentes en heces, están formados por *Escherichia Coli* y ciertas especies de *Klebsiella*. Ya que los coliformes fecales se encuentran casi exclusivamente en las heces de animales de sangre caliente, se considera que reflejan mejor la presencia de contaminación fecal. Uno de los aspectos negativos del uso de los coliformes totales como indicador es el hecho de que algunos coliformes son capaces de multiplicarse en el agua (Baquero, F., 2008).

Los coliformes fecales se denominan termo-tolerantes por su capacidad de soportar temperaturas más elevadas. Esta denominación está ganando más adeptos actualmente, pues sería una forma más apropiada de definir este subgrupo que se diferencia de los coliformes totales por la característica de crecer a una temperatura superior. La capacidad de reproducción de los coliformes fecales fuera del intestino de los animales homeotérmicos es favorecida por la existencia de condiciones adecuadas de materia orgánica, pH, humedad, etc. Algunos géneros son autóctonos de aguas con residuos vegetales, como hojas en descomposición. También pueden reproducirse en las bio-películas que se forman en las tuberías de distribución de agua potable. Por estas razones y por la

existencia de bacterias que responden a la definición de coliformes que no son de origen fecal y que incluso pueden ser lactosa-negativas (apareciendo como positivas si se aplica la prueba de B-galactosidasa), el grupo de los coliformes totales tiene actualmente poca utilidad como indicador de contaminación fecal. Su uso se ha restringido para aguas tratadas y aguas minerales. Para aguas superficiales o para evaluar la eficiencia de una planta de tratamiento de aguas residuales deben usarse los coliformes fecales. Solamente deberá recurrirse a los coliformes totales si no hay condiciones para cuantificar los coliformes fecales (Tortora, G. J., 2007).

En aguas tratadas, los coliformes totales funcionan como un alerta de que ocurrió contaminación, sin identificar el origen. Indican que hubo fallas en el tratamiento, en la distribución o en las propias fuentes domiciliarias. Su presencia acciona los mecanismos de control de calidad y de procesamiento dentro de la planta de tratamiento de agua, e intensifica la vigilancia en la red de distribución (Baquero, F., 2008).

II.2. Teoría de la desinfección del agua

La desinfección del agua para uso humano tiene por finalidad la eliminación de los microorganismos patógenos contenidos en el agua que no han sido eliminados en las fases iniciales del tratamiento del agua. La desinfección del agua es necesaria como uno de los últimos pasos en la planta de tratamiento de agua potable, para prevenir que esta sea dañina para nuestra salud. Muchas veces, tratándose de agua de manantiales naturales o de pozo, la desinfección es el único tratamiento que se le da al agua para su potabilización.

Existen descripciones de civilizaciones antiguas en referencia al agua hervida y el almacenamiento del agua en recipientes de plata con el fin de promover su purificación.

La desinfección se ha utilizado durante muchos siglos. Sin embargo es a partir de 1900 que los desinfectantes se empiezan a utilizar extensamente por las compañías de tratamiento de aguas o relacionadas de alguna manera a ésta, para evitar la expansión de enfermedades y mejorar la calidad de la misma (American Water Works Association, A.W.W.A., 2002).

Los procesos de mezcla, coagulación, sedimentación y filtración remueven, con mayor o menor eficiencia, la mayoría de las bacterias y virus presentes en el agua. Desde este punto de vista, pueden ser considerados como procesos preparatorios para la desinfección, pues cumplen dos objetivos (Arboleda, 2000):

- a. Disminuyen la carga bacteriana del agua.
- b. Hacen más eficientes los métodos de desinfección.

II.2.1. Tipos de remoción primaria en desinfección del agua

Existen dos tipos de remoción primaria en la desinfección de aguas:

- ***Remoción producida por la coagulación-floculación y sedimentación.***

Los procesos de coagulación-floculación-sedimentación son altamente eficientes para la remoción de bacterias vegetativas. En este tipo de proceso la remoción de bacterias es directamente proporcional a la remoción de turbiedad, pudiendo alcanzar remociones de hasta 99.7%, cuando se obtiene una eficiencia muy alta en el proceso de coagulación y sedimentación. Este proceso se basa en añadir un coagulante en el cuerpo de agua que se desea tratar, así, el mismo se encarga de agrupar los micro-flóculos que se forman al comienzo del proceso de coagulación y que varían entre 1μ y 4μ , con las bacterias presentes en el medio cuya dimensión puede variar entre 0.5μ y 3.5μ . De esta manera, al progresar el aglutinamiento de las partículas, tanto las bacterias como los virus quedan incorporados dentro de la flora y sedimentan con el mismo (Arboleda, 2000).

- ***Remoción producida por la filtración.***

Estudios recientes acerca de la filtración, han demostrado que si ésta no va precedida de coagulación, aún cuando se use arena fina (0.28mm), se remueve sólo una pequeña porción de los virus presentes en el agua (menos de 20%). Es por eso conveniente agregar siempre algún coagulante al agua, inclusive en los casos en que debido a la baja turbiedad se hace filtración directa sin sedimentación previa.

Por otra parte, en el caso de la filtración en lechos de arena y arena-antracita, se ha observado también que la remoción de turbiedad es proporcional a la remoción de los virus. Toda irrupción de turbiedad va usualmente acompañada de un incremento en la penetración de los virus (Arboleda, 2000).

II.2.2. Desinfección del agua

La desinfección del agua se refiere como se mencionó anteriormente, a la destrucción de los organismos causantes de enfermedades o patógenos presentes en ella. Los principales son:

- a. Bacterias (Salmonellas, Vibrio comma, Shigellas y E. Coli).
- b. Protozoarios (Amoebas, Giardia lamblia y Cryptosporidium).
- c. Virus (Hepatitis y poliomeilitis).

Las condiciones que debe tener un desinfectante ideal para poder ser usado en las plantas de purificación son:

- Debe ser capaz de destruir los organismos causantes de enfermedades.
- Debe realizar esta labor a la temperatura del lugar y en un tiempo adecuado.
- No debe hacer el agua tóxica, peligrosa para la salud o de sabor desagradable.
- Debe ser de fácil obtención, sencillo manejo y bajo costo.
- Su concentración en el agua debe poderse determinar prontamente.

- Debe dejar un efecto residual, para que proteja el agua contra posteriores contaminantes.

La efectividad de un proceso de desinfección se mide por el porcentaje de organismos muertos dentro de un tiempo, una temperatura y un pH prefijados (Arboleda, 2000).

II.2.2.1. Velocidad con la que se realiza la desinfección

El proceso de desinfección del agua no es instantáneo sino que se realiza progresivamente, con más o menos velocidad a través del tiempo y se considera terminado cuando el 100% (99.99%) de los organismos que se trata de destruir han muerto. La forma como este proceso se realiza puede describirse matemáticamente, considerando que se trata de una reacción de primer orden y que por tanto el número de organismos destruidos en la unidad de tiempo es proporcional al número de organismos remanentes en el tiempo t considerado. En otras palabras, si n es el número de organismos y K la velocidad de reacción:

$$- (dn/n) = Kadt$$

Ec.1

Esta es la llamada Ley de Chick donde integrando el primer término entre n (número de organismos en el tiempo $t = 0$) y n (número de organismos en el tiempo $t = t$) y el segundo entre $t = 0$ y $t = t$, se obtiene la siguiente expresión:

$$t = - (2.303/Ka)\log(n/n_0)$$

Ec.2

Por tanto, según este modelo, el tiempo necesario para eliminar un determinado tipo de organismo con un desinfectante, es directamente proporcional al logaritmo de la relación de organismos remanentes (n) sobre organismos iniciales (n_0). En consecuencia, al graficar el tiempo de contacto vs. el porcentaje de organismos sobrevivientes, se obtiene una línea recta en los casos en que se cumple la Ley de Chick.

Sin embargo, no siempre el proceso de destrucción de microorganismos es una reacción de primer orden, por lo tanto, se presentan frecuentemente desviaciones a la Ley de Chick. Por ejemplo, la eliminación de quistes de *E. histolítica* con cloro libre y yodo, tiene una cinética de primer orden, pero la supervivencia de bacterias entéricas, así como de algunos virus, no sigue dicho comportamiento, pues la velocidad de destrucción ($\log n/n_0$) aumenta o disminuye con el tiempo debido a: (a) la presencia de sustancias interferentes que impiden mantener un residual adecuado con ciertos desinfectantes; (b) errores experimentales; (c) la distinta susceptibilidad de los organismos; (d) la mezcla inapropiada de los desinfectantes con el agua; (e) existencia de colonias de bacterias de tamaños variados que establecen una concentración no uniforme de los organismos en el líquido (Arboleda, 2000).

Por tanto, la Ley de Chick tiene más que todo valor de referencia para evaluar el comportamiento de un determinado proceso de desinfección, en donde se conoce (n/n_0) y se quiere calcular la constante de la desinfección (K).

II.2.2.2. Factores que influyen en la desinfección

Por ser la desinfección una reacción, depende de los siguientes factores:

- ***Relación concentración-tiempo***

La eficiencia de la desinfección depende de la relación entre el tiempo de contacto y la cantidad de desinfectante dosificado. Una alta concentración necesitará menos tiempo para eliminar el 100% de los organismos que una concentración débil. Según sea el desinfectante, decrecerá más o menos rápidamente el poder bactericida, a medida que se va disminuyendo la concentración. El tiempo de contacto t , necesario para eliminar un determinado número de organismos viene dado por la expresión de Watson:

$$t = (Ka/C^n)$$

Ec. 3

Donde,

Ka = Constante de la desinfección.

C = Concentración del desinfectante (mg/l).

n = Coeficiente que expresa la eficiencia bactericida del desinfectante y que se conoce como el coeficiente de disolución.

El valor de ***K*** ha sido evaluado para distintos microorganismos y desinfectantes, lo que permite conocer la relación concentración-tiempo necesaria para realizar la desinfección (Arboleda, 2000).

- ***Temperatura***

Las bacterias pueden vivir sólo a determinadas temperaturas, generalmente entre 5°C y 80°C. Igualmente, la temperatura influye en la velocidad de reacción de las sustancias.

Es lógico, por lo tanto, que la desinfección sea afectada por este factor. En términos generales, cuanto más caliente esté el agua tanto más eficiente y rápida será la desinfección, así la constante ***K*** aumentará (Arboleda, 2000).

Se ha encontrado la siguiente expresión para relacionar la constante ***K*** a la temperatura considerada, con el valor de la misma a 20°C:

$$K = K_{20}(1 + \theta)^{T-20}$$

Ec.4

Donde,

K = Constante de la desinfección a T (°C).

***K*₂₀** = Constante a 20°C.

T = Temperatura (°C).

θ = Factor que varía entre 0.06 y 0.08.

- **Potencial hidrógeno - pH**

Las bacterias son altamente susceptibles al pH como a la temperatura. Los potenciales muy altos o muy bajos le son fatales. Los virus a un pH menor a 4 y mayor a 10 sobreviven solamente horas. El pH óptimo de los microorganismos está alrededor de 7.

En igual forma, la actividad de los desinfectantes químicos depende del pH del agua. Generalmente cada desinfectante presenta un rango de pH en el cual tiene su máxima efectividad, lo cual constituye su característica. A partir de este punto, la eficiencia decrece para una misma dosis, un mismo tiempo de contacto y una misma temperatura (Arboleda, 2000).

- **Número y tipo de organismos**

El número de organismos presentes en el agua pudiera afectar el proceso de desinfección. La misma concentración y tiempo de contacto del desinfectante se necesitan para eliminar una gran cantidad de microorganismos que una pequeña, siempre y cuando la temperatura y el pH sean los mismos. El tipo de microorganismos en cambio si influye notablemente en los resultados, pues la sensibilidad de cada especie varía según el desinfectante (Arboleda, 2000).

II.2.2.3. Modos de desinfección del agua

La desinfección del agua se puede dividir en dos tipos, **natural** y **artificial**.

La primera se refiere a la muerte progresiva de las bacterias, producida por agentes naturales tales como la luz solar, la sedimentación, la filtración en las capas arenosas del suelo, o la estabilización de la materia orgánica que disminuye la reserva de alimento para los microorganismos.

La desinfección artificial puede realizarse mediante agentes físicos o químicos, además de mecánicos. Los agentes mecánicos más importantes son los filtros, entre estos se pueden mencionar:

- **Filtros mecánicos:** Este tipo de filtros actúa reteniendo la suciedad del agua al hacer circular esta a través de un material filtrante. Solo es capaz de limpiar del agua partículas o microorganismos hasta un determinado tamaño. Las partículas muy pequeñas pueden atravesarlo sin quedar retenidas, pero este tipo de partículas no influye en la "suciedad" visible del agua. Existen materiales filtrantes con un tamaño de poro muy fino, capaces de retener partículas de hasta 0,01 mm. Los filtros mecánicos no tienen influencia sobre la calidad química del agua, solo retienen la suciedad macroscópica para que el agua se mantenga transparente, pero no influyen en los niveles de amoníaco, nitritos o nitratos que hay disueltos en esta. La efectividad antibacteriana de este tipo de filtro no es muy buena ya que solo se basa en retener por diferencias de tamaño las partículas extrañas en el agua al igual que microorganismos. Debido al pequeñísimo tamaño de los virus y algunas bacterias estos filtros resultan inofensivos, es por ello que se les suele añadir un filtro biológico a la descarga del mismo. (Gray, N. F., 1997) :

Además de los filtros anteriormente mencionados existen otros diseñados exclusivamente para retener partículas de un tamaño muy reducido, llegando al orden de la nanotecnología. Entre estos se pueden mencionar:

1. **Filtros microporosos:** Estos filtros se basan en una membrana de alta tecnología. Dichas membranas de filtración microporosa ofrecen una barrera física al paso de partículas y microorganismos, y tiene valores absolutos de hasta 0,1 micras. Algunos sistemas también incluyen "ultramicro filtros" con un valor de 0,05 micras. La mayoría de aguas sin depurar contienen coloides, que quedan atrapados en estas membranas ya que no son capaces de atravesar sus poros. El rendimiento del filtro se

puede mejorar utilizando microfiltros que incluyen una superficie modificada que atraerá y retendrá estos coloides de formación natural, los cuales son generalmente mucho más pequeños que los tamaños de poro en la membrana. Los microfiltros con un tamaño de poro absoluto de 0,2 micras se utilizan mucho en los sistemas de tratamiento de agua. Atrapan los contaminantes, incluyendo disgregados de carbón de cartuchos de adsorción orgánica, partículas de resina de cartuchos de intercambio iónico y bacterias.

Las membranas microporosas generalmente se consideran indispensables en un sistema de purificación de agua, a menos que se sustituyan por un ultrafiltro (Gray, N. F., 1997).

2. **Ultrafiltros:** La ultrafiltración utiliza una membrana muy similar en diseño a la ósmosis inversa, excepto que los poros del ultrafiltro son ligeramente más grandes, de 0,001 a 0,02 micras. Para la eliminación de pirógenos, los poros de un ultrafiltro deben ser de un diámetro aproximado de 0,002 micras o menos, y deben excluir todas las moléculas con un peso molecular de 5.000 o más grandes. Los ultrafiltros se pueden utilizar de forma similar a las membranas microporosas, pero también se pueden configurar para que una pequeña parte del agua de alimentación circule tangencialmente en la membrana para minimizar la acumulación de contaminantes y el crecimiento de bacterias. La ultrafiltración es una excelente tecnología para garantizar una calidad homogénea de agua ultra pura en relación con partículas, bacterias y pirógenos (Gray, N. F., 1997).

En cuanto a los agentes físicos purificadores de agua más destacados se pueden mencionar:

- **Calor:** Es principalmente un sistema de desinfección doméstico no aplicable a plantas de purificación. Quince o veinte minutos de ebullición son suficientes para destruir cualquier microorganismo patógeno. El agua, sin embargo, adquiere un sabor peculiar debido a la expulsión de los gases por el incremento de temperatura (Gray, N. F., 1997).

- **Rayos ultravioleta:** Este tipo de desinfección se lleva a cabo pasando una lámina de agua delgada bajo una fuente de rayos ultravioleta. La penetración de los rayos, así como la eficiencia de la desinfección, depende de la turbiedad del líquido. Se usa principalmente en desinfección de aguas emvasadas. No deja efecto residual, ni se puede determinar en el agua la cantidad aplicada en forma fácil. No es aconsejable para acueductos (Gray, N. F., 1997).

Los métodos que se enumeran a continuación interactúan directamente sobre los agentes bacterianos que se desean neutralizar, en otras palabras, estos métodos se basan en el ataque químico que proporcionan algunos compuestos directamente sobre las membranas de las bacterias produciendo su degradación. Los agentes químicos más importantes son: Los halógenos (cloro, bromo y yodo), la plata ionizada y el ozono. Entre los halógenos el más conocido de todos es el cloro, el cual por ser ampliamente utilizado se estudiará con más detalle.

II.2.2.4. Desinfección con cloro

La cloración es el proceso de desinfección que hasta el presente reúne las mayores ventajas: es eficiente, fácil de aplicar y deja efecto residual que se puede medir por sistemas muy simples y al alcance de todos. Tiene, en cambio, la desventaja de ser corrosivo y especialmente, en algunos casos, formar subproductos posiblemente peligrosos para la salud y producir sabor desagradable en el agua.

El cloro puede aplicarse también utilizando algunas de sus sales. Las más conocidas son el hipoclorito de sodio y el hipoclorito de calcio que se expenden en polvo o solución con concentraciones entre 12% y 70%. El cloro y los hipocloritos producen reacciones similares en el agua y su eficiencia bactericida es idéntica. La única diferencia es que el cloro baja el pH y el hipoclorito lo sube ligeramente. El cloro se emplea generalmente en plantas grandes y medianas. El hipoclorito en plantas pequeñas, piscinas y pozos, pues los hipocloritos son más sencillos de manejar. El costo de la hipocloración, sin embargo, es más alto que el de la cloración con cloro gaseoso. Por otra parte, la capacidad del agua para

disolver el cloro es función de su temperatura. A mayor temperatura menor solubilidad (Arboleda, 2000).

La eficiencia de la desinfección con cloro está relacionada con:

- El tipo de microorganismos que se intenta destruir.
- El compuesto de cloro que se forma en el agua.
- El tiempo de contacto del cloro en el agua.

Los cuatro compuestos básicos que se forman en el agua con el cloro; ácido hipocloroso (HOCl), ion hipoclorito (OCl⁻), monoclaramina (NH₂Cl) y dicloramina (NHCl₂) tienen diferente poder desinfectante. En general, el ácido hipocloroso tiene el mayor poder desinfectante, mientras que las cloraminas, aunque son más persistentes, poseen una capacidad desinfectante menor.

La forma como los compuestos clorados atacan a los organismos bacterianos ha sido objeto de bastantes estudios. Se ha observado que el cloro actúa en concentraciones muy bajas (0.1 a 2.0 mg/l), esto se debe a que el sistema enzimático de la célula es muy sensible a bajos niveles de sustancias inhibitoras. Los compuestos clorados reaccionan con los grupos sulfhídricos presentes en las enzimas celulares paralizando el proceso metabólico de oxidación de la glucosa y en especial interfiriendo en la transformación del ácido triosefosfórico en ácido fosfoglicérido, con lo que la actividad enzimática de la célula queda irreversiblemente destruida. Sin embargo, existen otros compuestos oxidantes que no son igualmente efectivos, esto se debe a la actividad de la membrana celular la cual tiene un comportamiento selectivo que permite el paso de determinadas sustancias e impide el de otras.

Según sea el tipo de microorganismos que se quiere eliminar, cada compuesto de cloro tiene una efectividad distinta en base a la cual deberán estimarse los tiempos de contactos necesarios. La tabla 2, presenta una comparación de la efectividad de diferentes compuestos de cloro, para matar o inactivar el 99% de organismos tales como bacterias entéricas, quistes de amibas, virus y esporas bacterianas. Vale la

pena recordar que la capacidad bactericida del cloro disminuye drásticamente al aumentar el pH (Arboleda, 2000).

Tabla N° 2. Actividad germicida de los desinfectantes químicos. (Compuestos de cloro). Concentración en mg/l requerida para matar o inactivar el 99% de los organismos listados en 10 min a 5°C.

Desinfectante	Bacterias Entéricas	Tipo de organismo		
		Quistes de amibas	Virus	Esporas bacterianas
ClO ₂ (pH 6-7)	0.4 – 0.75	---	0.2 – 6.7	---
HOCl como Cl ₂	0.02	10	A 0.40	10
OCl ⁻ como Cl ₂	2	10	>20	>10
NH ₂ Cl como Cl ₂	5	20	10 ²	4 x 10 ²
Cl libre, pH 7.5	0.04	20	0.8	20
Cl libre, pH 8	0.1	50	2	50

Fuente: Arboleda, (2000).

La eficiencia de la cloración depende también en parte importante del tipo de bacteria o microorganismo a tratar. La destrucción de las esporas por el cloro se produce de manera diferente que las de las formas vegetativas, pues aquellas no poseen la capacidad de oxidar la glucosa o su viabilidad no depende de dicha cantidad. De allí su mayor resistencia a la desinfección, la cual también se puede atribuir a la impermeabilidad de la capa protectora de las células. Por otra parte se ha estudiado muy profundamente la resistencia que las distintas especies bacterianas tienen a la desinfección con cloro. Hay estudios que exponen las dosis mínimas de cloro necesarias para matar 503 diferentes tipos de bacterias, entre las cuales 21 especies son de *Salmonella tifosa*, 33 de *Escherichia Coli* y 41 de *Aerobacter aerogenos*. Estos estudios se realizaron usando agua destilada como medio, y se concluyó que 0.1 mg/l de cloro libre era suficiente para matar entre 15 y 30 min todas las especies de *Escherichia Coli* (Arboleda, 2000).

II.2.2.5. Desinfección con otros agentes químicos

Además del cloro, existen una serie de desinfectantes químicos con diferentes características y por consiguiente, diferentes usos; entre los más importantes se encuentran:

- ***Filtros biológicos***

La función de este filtro, principalmente, es la de transformar las substancias nitrogenadas nocivas que hay presentes en el agua por otras que resultan menos peligrosas. Los filtros biológicos se denominan así puesto que esta acción desintoxicante no la lleva a cabo ningún material diseñado por el hombre, sino la propia naturaleza a través de reacciones químicas que se producen entre las mismas bacterias y microorganismos. Como consecuencia de la degradación de la materia orgánica, aparece amoníaco en el agua, el cual resulta muy tóxico para algunas especies animales. Sin embargo, existen grupos de bacterias capaces de transformar este amoníaco. El funcionamiento de un filtro biológico es simple, está compuesto por un material que ofrece gran cantidad de superficie en un volumen reducido para que las bacterias lo colonicen. El agua circula a través del material de relleno del filtro, sobre el cual han crecido las bacterias, las cuales a su vez toman amoníaco o nitritos del agua para transformarlos en substancias menos nocivas (nitritos y nitratos respectivamente). Las bacterias encargadas de llevar a cabo esta labor son aerobias, es decir, necesitan de la presencia de oxígeno para crecer y sobrevivir, por lo que es esencial que el agua tenga unos niveles adecuados de oxígeno al pasar por el filtro biológico. La acumulación de gran cantidad de suciedad en un filtro biológico es nociva para las bacterias que lo colonizan, pudiendo llegar a matarlas, por lo cual se hace necesario un filtrado mecánico previo a el filtro biológico. A diferencia del filtro mecánico, el filtro biológico no tendría por qué limpiarse nunca, puesto que nunca debería llegar suciedad macroscópica a este. Las bacterias tardan un tiempo en colonizar el filtro biológico y multiplicarse en cantidad suficiente como para llevar a cabo su labor (15 días - un mes) (Gray, N. F., 1997).

- **Yodo**

En los últimos años se ha venido hablando del yodo como posible alternativa para el cloro. El I_2 es el halógeno de mayor peso atómico y que por su bajo poder de oxidación resulta el más estable. Sus efectos residuales por eso se conservan por mucho más tiempo que los de cloro. Una dosis de 0.5 mg/l produce la muerte de 99.99% de E. Coli en un minuto, de virus poliomefítico tipo I, en 10 minutos y de quistes de amibas en 100 minutos; lo cual se compara ventajosamente con el cloro, dado que el yodo resulta igualmente eficiente para destruir coliformes, más efectivo para matar amibas y un poco menos para inactivar virus.

La mayor dificultad en su uso está en el precio pues es varias veces más costoso que el cloro y en que se desconocen hasta el momento los efectos fisiológicos que pueda producir su ingestión continua, en especial en el funcionamiento de la tiroides.

Se ha comprobado que dos gotas por litro de solución de yodo al 7% desinfectan el agua en un período de 15 minutos. Siendo la tintura de yodo un medicamento encontrado en caso de catástrofes, resulta especialmente adecuado como método de desinfección en tales circunstancias, ya sea para uso personal o para uso colectivo en abastecimiento de aguas municipales (Arboleda, 2000).

- **Bromo**

El bromo, al igual que los otros halógenos, tiene propiedades desinfectantes. Sin embargo, si bien la eficiencia del bromo es comparable a la del cloro y el yodo en la destrucción de microorganismos, su costo es más alto que el de dichos compuestos y su manejo (en especial el de bromo líquido) crea problemas. Por eso su uso se ha limitado a la desinfección de piscinas pues produce menor irritación de los ojos que el cloro (Arboleda, 2000).

- ***Ozono***

El ozono es en la actualidad, tanto por su costo como por su eficiencia como desinfectante, el más serio competidor del cloro. El ozono es un gas de olor característico que se puede sentir después de las tempestades. Se ha usado preferentemente en plantas de tratamiento de aguas potables en Europa y en desinfección de líquidos cloacales en los Estados Unidos, por cuanto no deja efecto residual. El ozono se desintegra rápidamente en el agua de modo que los residuales permanecen por poco tiempo y por consiguiente no interfiere con el ecosistema de los ríos y embalses donde dichos líquidos cloacales son descargados.

Debido a la rapidez con que el ozono elimina a los microorganismos, los pequeños tiempos de contacto no crean mayor problema. Debe advertirse, por último, que el ozono en el aire es un compuesto muy tóxico, concentraciones de 1.0 mg/l respiradas durante un cierto tiempo, induce daños en el sistema respiratorio, pudiendo causar efisema pulmonar a concentraciones mayores.

Una de las grandes ventajas del ozono es que no produce trihalometanos. Sin embargo los productos de la oxidación son por lo menos tan numerosos como los del cloro y se conoce mucho menos de su efecto sobre la salud. No debe olvidarse, que los generadores de ozono son equipos altamente sofisticados, inadecuados para países en desarrollo que demandan un gran consumo de energía eléctrica cuyo suministro requiere ser confiable las 24 horas del día (Arboleda, 2000).

- ***Dióxido de cloro***

Los equipos de dióxido de cloro utilizados son los mismos que para la cloración pero debe agregársele un generador de ClO_2 . La principal ventaja del dióxido de cloro es que no produce trihalometanos. Sin embargo, para que esto ocurra es indispensable que no quede exceso de cloro en el agua que pueda reaccionar con los precursores. Para evitar explosiones debe mantenerse una concentración de ClO_2 inferior al 10% en el aire y a 30 g/l en el agua. En algunos casos el dióxido

de cloro se aplica como pretratamiento, debido a que tiene una buena capacidad para destruir los fenoles y clorofenoles, eliminando así el mal sabor del agua. Su principal desventaja es la de que los cloratos y cloritos que se producen en el proceso tienen, posiblemente, efectos tóxicos a largo plazo cuya significación no ha sido aun establecida. Se cree que inducen anemia hemolítica, motivo por el cual se ha fijado un límite de 1.0 mg/l para el ClO_2 aplicado (Arboleda, 2000)

- **Plata ionizada**

Los iones de plata son un desinfectante utilizado en algunos países europeos especialmente en plantas de purificación para usos industriales. Este método de desinfección es más caro que la cloración y deja efectos residuales. Algunas veces se utilizan los iones de plata en filtros de porcelana porosa con relativo éxito (Arboleda, 2000).

Su uso está actualmente limitado debido al establecimiento de la normativa EPA, la cual sugiere como límite máximo una concentración de 50 ppb en aguas para consumo humano. Este límite fue colocado para evitar la *argyrosis*, enfermedad que requiere una acumulación neta de 1 g de plata en el cuerpo, manifestándose por presentar una coloración o manchado azul /grisáceo de la piel, ojos, y membranas mucosas. Expertos han calculado que se podría beber agua tratada con 50 ppb por 27 años antes de acumular a 1 g. de plata en el cuerpo. La plata solamente ha probado ser efectiva en contra de quistes de las bacterias y de los protozoarios, aunque es probable una cierta efectividad en contra de los virus.

La plata puede ser usada en forma de una sal, comúnmente nitrato de plata, una suspensión coloide, o una cama de plata metálica. La electrólisis también puede usarse para añadir plata metálica a una solución. Estudios han sugerido que la plata depositada en filtros del bloque de carbón puede matar agentes patógenos sin la necesidad de añadir plata directamente al agua (Salopek-Sondi y cols., 2004).

II.3. Iones de Plata y sus propiedades antibacterianas

La plata metálica (Ag) ha sido usada para tratar una variedad de enfermedades durante siglos, más notablemente infecciones. Está bien documentado que los griegos y romanos usaban plata como desinfectante, los macedonios la usaban para favorecer la cura de heridas y más recientemente la NASA seleccionó un sistema en base a plata para mantener la pureza del agua y un ambiente sin bacterias en sus transbordadores espaciales. La oxidación catalítica de la plata metálica y la reacción de los iones de plata monovalentes disueltos en el medio, probablemente contribuyan a su efecto bactericida. Un hecho curioso es que no es probable que los microbios desarrollen resistencia a la plata como lo hacen contra los antibióticos convencionales, esto se debe a que el metal ataca una amplia gama de objetivos en el microorganismo, lo que significa que el mismo tendría que desarrollar una serie de mutaciones simultáneamente para protegerse. Así, los iones de plata se han utilizado como un componente antibacteriano en la consulta dental, en resinas compuestas, en zeolitas sintéticas y en los revestimientos de algunos productos sanitarios (Pal, Song y Tak., 2007).

Actualmente con los problemas de microbios resistentes a los antibióticos, la plata está de moda otra vez: Venture Ishikawa (Japón) ha desarrollado una arena anti-bacterial usando plata, Microbial Systems (Reino Unido) ha desarrollado una pintura con plata que es efectivo contra las levaduras y varias bacterias incluyendo *E. coli* y el metro de Hong Kong está usando la plata coloidal contra el virus de gripe aviar. Otros productos que se están beneficiando de las propiedades sobresalientes de desinfección antibacterial son las plumas, disquetes, baldosas, volantes, cepillos de dientes, calcetines, ropa de combate, cosméticos y asientos de lavabo.

La finalidad del proceso de ionización es la eliminación de bacterias en los líquidos, debido a su manifiesta acción germicida a muy bajas concentraciones. El método consiste en agregar iones plata (Ag) al agua mediante un proceso electrolítico. Esto se logra haciendo circular una corriente eléctrica de baja tensión a través de un sistema de electrodos de plata inmersos en el líquido a desinfectar,

logrando desprender así iones plata, aportados al agua a tratar. La cantidad de estos iones disueltos en el líquido se puede determinar mediante las Leyes de Faraday. Por problemas de construcción se utiliza una corriente máxima por cada par de electrodos de 100 mA, la que deposita 0,4 g de plata por hora en el líquido. Luego, el sistema deberá controlar la cantidad de iones plata depositados en función del caudal que se quiera desinfectar. La ionización se utiliza como tratamiento secundario para la eliminación de bacterias y virus, lográndose así, mantener el agua libre de nuevas contaminaciones por varios meses. Con dosificaciones pequeñas y con tiempos de contacto no demasiado largos se logran buenos resultados dada su generación fácil y económica. Además, la plata, usada en combinación con el gas ozono, logra un tratamiento completo y confiable del agua, especialmente cuando se quiere conservar su potabilidad por períodos prolongados.

La generación de plata en los equipos ionizadores, se realiza a partir de agua filtrada, que atraviesa un conjunto de placas que se hallan polarizadas alternativamente y controladas en su secuencia por un sistema electrónico que es regulado según la necesidad, para aportar al agua la dosificación correcta, logrando así la mayor economía con total seguridad. De esta manera, se produce una oxidación de la plata metálica que se transforma en plata ionizada en el electrodo activo y una reducción en el electrodo pasivo. Para que el desgaste sea parejo, periódicamente se invierte el sentido de circulación de corriente.

II.3.1. Preparación de nano-partículas de plata: método poliol

Además de la ionización existen nuevos métodos que se han puesto en funcionamiento recientemente. Numerosos grupos de investigación han desarrollado métodos antibacteriales a base de la nanotecnología de partículas de plata (Arnaud, M., Dowling, D. y cols., 2003; Kiwi y cols., 2006). Los diversos métodos empleados poseen metodologías diferentes pero objetivos comunes: analizar la actividad antibacterial de materiales sintetizados en el laboratorio, compuestos por nano-partículas de plata metálica (soportadas o sin soportar). En la mayoría de las experiencias donde se sintetizan nano-partículas de plata se usa

el método poliol, en el cual las nano-partículas metálicas se formaran a partir de la reducción de los iones plata presentes en el medio de reacción (generalmente un solvente como el etilenglicol y la solución donadora de iones plata (Ag^+)). Para sintetizar nano-partículas metálicas estables, es significativamente importante la escogencia del solvente, especialmente cuando el medio para llevarse a cabo la síntesis requiere de concentraciones elevadas de iones metálicos, además de la estabilización del surfactante. Se ha referenciado recientemente que en ausencia de un surfactante estabilizador, las nano-partículas de plata sintetizadas con glicerol son mucho más estables que las sintetizadas con etilen-glicol o soluciones acuosas. La mayor estabilidad de estas nano-partículas sintetizadas con glicerol es producto de una difusión más lenta debido una mayor viscosidad del solvente. Es preferible desarrollar la síntesis de las nano-partículas metálicas en un medio orgánico, ya que además de funcionar como solvente, también actúan como agente reductor (Ha, Il y Ullah, 2006).

Geckeler y cols. (2007), Hwang, J. y cols. (2007) y Kiwi y cols. (2006), entre otros, han evaluado la opción de utilizar materiales “soportes” donde se depositen directamente las nano-partículas de plata. A escala nano-métrica, la reducción de las nano-partículas de plata se efectúa en el interior de los espacios huecos de la estructura del soporte empleado, llenando estas cavidades. Uno de los materiales soportes estudiados que ofrece una alta efectividad es la alúmina en sus diferentes fases (α -, η - y δ -alúmina), ya que la misma presenta estructuras moleculares que ofrecen amplios espacios vacíos dispuestos homogéneamente. Las distintas fases de la alúmina generan diferentes estructuras lo que puede ocasionar variaciones entre los tamaños y forma física de las partículas metálicas allí reducidas (Díaz, Esteban-Cubillo y cols., 2006).

II.3.2. Nano-partículas de plata como bactericidas alternativos.

Informes sobre el mecanismo de acción inhibitoria de los iones de plata sobre microorganismos muestran que el tratamiento con Ag puede inducir que el ADN de los microorganismos pierda su capacidad de replicación, así como algunas otras proteínas y enzimas celulares. Sin embargo, el mecanismo de acción

bactericida de las nano-partículas de plata aún no es bien comprendido (Pal, Song y Tak., 2007).

Cuando una partícula de plata metálica entra en contacto con la membrana de algunos tipos de bacteria, genera una reacción que le provoca la ruptura provocando así la muerte del microorganismo (Salopek-Sondi y cols., 2004).

En la actualidad, se han llevado a cabo una serie de estudios acerca de la actividad bactericida de nano-partículas de plata soportadas o depositadas sobre compuestos porosos de gran área superficial, originando materiales con posibles propiedades bactericidas. La Tabla 3 resume algunas de las experiencias más relevantes relacionadas con este tema. Hasta los momentos se han utilizado una gran variedad de materiales soportes, como hidrogeles y aerogeles, algunos polímeros y diferentes compuestos metálicos como plata y platino. La selección del soporte a usar es fundamental para el desempeño bactericida del material final que se desea sintetizar. Es por ello que debe cumplir con ciertos requerimientos fundamentales como poseer una estructura molecular con abundantes espacios huecos (vacíos), además de tener grandes áreas superficiales, esto con el fin de que las nano-partículas de plata se depositen y alojen en los espacios vacíos de dichas estructuras logrando una gran dispersión y cubriendo uniformemente la superficie del soporte, generando así el material deseado (Geckeler y cols., 2007; Chen, Z., Zhang, S. y cols., 2004).

La metodología general que se ha empleado para la preparación de nano-partículas de plata coloidales en los procesos industrializados se basa en el método poliol. En este proceso se utiliza un solvente determinado donde se disuelve una cierta cantidad de una solución donadora de iones metálicos (usando generalmente en las experiencias soluciones con iones plata Ag^+) los cuales se reducen en el mismo medio con la agregación de otra solución que provoca dicha reducción (método poliol), formando nano-partículas (Geckeler y cols. (2007)). En cuanto al método utilizado para soportar dichas nano-partículas sobre los diferentes materiales, se destaca el de “impregnación”, método en el cual se sumerge el soporte en la solución donde se llevará a cabo la reducción de los iones metálicos, logrando así su deposición directamente en el interior de la estructura. Luego de

que se promueve la deposición de las nano-partículas, los materiales resultantes son secados y sometidos a estudios con la finalidad de evaluar su actividad antibacterial. (Chen, Z., Zhang, S. y cols., 2004).

La mayoría de las investigaciones que se han desarrollado en los últimos años sobre estudios de la actividad antibacteriana de las nano-partículas de plata, han aportado resultados positivos que certifican su eficiencia en la eliminación de microorganismos patógenos.

II.3.3. Toxicidad

El agua tratada con iones plata, no tendrá ningún efecto nocivo sobre el organismo humano, si se mantienen las concentraciones adecuadas. Para lograr una acción aceptable en un tiempo razonable, las concentraciones deben ser próximas a los 0,05 mg/L, y no superar este valor ya que constituye uno de los límites establecidos por el Código Alimentario Internacional. Tampoco afecta el sabor ni el olor del agua, lo cual es especialmente ventajoso para su uso en aguas envasadas (Arboleda, 2000).

II.3.4. Propiedades químicas

El contenido sano y natural de sales minerales como también las propiedades químicas del agua no sufre ningún cambio por el tratamiento. El poder bactericida de los iones plata aumenta en presencia de un valor de pH y temperatura, más alta (lo contrario a lo que ocurre con el cloro). En aguas de temperaturas más bajas, el efecto germicida sobre las bacterias y virus tiene tendencia a ser más lento. A una misma temperatura y dosis de iones plata, al aumentar el pH aumenta el efecto bactericida pero al mismo tiempo la solubilidad de la plata es menor. Los iones de plata presentan un poder bactericida bajo con respecto al ozono, pero su poder residual es muy superior, de aquí la conveniencia de complementar ambos tratamientos (Arnaud y cols., 2003).

Tabla N° 3. Estudios recientes relacionados con nano-partículas metálicas de plata y su carácter antibacterial.

Autor	Sistema antibacterial empleado.			Bacterias analizadas	Conclusiones del estudio
	Agente bactericida.	Soporte del agente bactericida	Método de síntesis del agente bactericida		
Geckeler, K., Lee, K., Mohan, Y. y Premkumar, T. Gwangju, Korea del Sur. (2007).	- Nano-partículas de plata.	- Diferentes tipos de hidrogeles (diferentes concentraciones).	- Método poliol, directamente sobre el soporte (inmersión).	- <i>Escherichia Coli.</i>	Se sintetizaron nano-partículas de plata de aprox. 2,67 nm de diámetro, las cuales mostraron un excelente comportamiento antibacterial sobre la bacteria seleccionada. Los hidrogeles con plata soportada se obtuvieron por impregnación de estos en una solución de nitrato de plata 5mM, donde posteriormente se promovió la oxidación de la plata para que se fijara en la estructura del hidrogel en forma de nano-partículas. Para las pruebas bactericidas se pusieron en contacto directo con los cultivos de bacterias preparados, diversas muestras a diferentes concentraciones en plata de los hidrogeles sintetizados.
Byeon, J., Hwang, J., Park, J. y Yoon, K. Seoul, Korea. (2007).	- Nano-partículas de plata. - Nano-partículas de cobre.	- Sin soporte (nano-partículas en contacto directo sobre las bacterias).	- Método poliol.	- <i>Escherichia Coli.</i> - <i>Bacillus subtilis.</i>	Se demostró que ambos tipos de nano-partículas poseen comportamiento anti-bacterial, siendo las de plata más efectivas que las de cobre. Evidenciando que la <i>Escherichia Coli</i> es más resistente que la <i>Bacillus subtilis</i> a la acción de las nano-partículas.

Tabla N° 3. Estudios recientes relacionados con nano-partículas metálicas de plata y su carácter antibacterial (continuación).

Autor	Sistema antibacterial empleado.			Bacterias analizadas	Conclusiones del estudio
	Agente bactericida.	Soporte del agente bactericida	Método de síntesis del agente bactericida		
Arnaud, M., Betts, A., Dowling, D., McConnell, M. y Pope, A. Irlanda-Francia. (2003).	<ul style="list-style-type: none"> - Nano-partículas de plata. - Nano-partículas de platino. 	<ul style="list-style-type: none"> - Polímeros laminados de silicón y poliuretano. 	<ul style="list-style-type: none"> - Método poliol, directamente sobre el soporte (inmersión). 	<ul style="list-style-type: none"> - <i>Staphylococcus epidermidis</i>. 	<p>Tanto el cubrimiento de plata como plata/platino poseen una alta actividad antibacterial. Se evidenció que la adición de 1% de platino aumenta los efectos antibacteriales de los cubrimientos. Entre ambos cubrimientos utilizados, el más eficiente fue la combinación plata/platino, alcanzando los más altos niveles de reducción bacteriana.</p>
Chen, Z., Fu, R., Wu, D., Xu, W., Ye, Q. y Zhang, S. Guangzhou, China. (2004).	<ul style="list-style-type: none"> - Nano-partículas de plata. 	<ul style="list-style-type: none"> - Distintos tipos de aerogeles (diferentes concentraciones). 	<ul style="list-style-type: none"> - Método poliol, directamente sobre el soporte (inmersión). 	<ul style="list-style-type: none"> - <i>Escherichia Coli</i>. - <i>Staphylococcus aureus</i>. 	<p>El contenido de plata en los aerogeles se ve alterado por la concentración de nitrato de plata empleado en la formación de las nano-partículas. Los aerogeles sintetizados poseen fuertes comportamientos bactericidas, que varían dependiendo de diversas variables presentes en la experiencia como tamaño y forma de las nano-partículas de plata.</p>

Tabla N° 3. Estudios recientes relacionados con nano-partículas metálicas de plata y su carácter antibacterial (continuación).

Autor	Sistema antibacterial empleado.			Bacterias analizadas	Conclusiones del estudio
	Agente bactericida.	Soporte del agente bactericida	Método de síntesis del agente bactericida		
Candan, F., Sökmen, M. y Sümer, Z. Sivas, Turquía. (2001).	- Nano-partículas de plata.	- Óxido de Titanio (TiO ₂).	- Método poliol, directamente sobre el soporte (inmersión).	- <i>Escherichia Coli.</i>	Luego de someter a las bacterias a 15 minutos de la acción del material antibacterial se alcanzó una mortandad del 100% de las mismas, evidenciando una fuerte y efectiva actividad bactericida.
Kiwi, J., Laub, D., Mathieu, H., Pulgarin, C., Rincon, A., Xantopoulos, N. y Yuranova, T. Lausanne, Suiza. (2006).	- Nano-partículas de plata.	- Diferentes tipos de textiles de algodón.	- Método poliol, directamente sobre el soporte (inmersión).	- <i>Escherichia Coli.</i>	Los textiles con nano-partículas de plata soportadas tuvieron un comportamiento antibacterial fuerte hacia los dos tipos de bacteria, siendo mucho mas eficaces en la destrucción de la E. coli, logrando eliminar una colonia de E. Coli de 10 ⁶ individuos en 3 minutos, además concluyeron que las nano-partículas de Ag poseían tamaños entre 2 y 12 nm de diámetro.
Jang, Y. y Park, S. Taejon, Korea del Sur. (2003).	- Nano-partículas de plata.	- Fibras de Carbón Activado (ACF).	- Método poliol, directamente sobre el soporte (inmersión).	- <i>Escherichia Coli.</i> - <i>Staphylococcus aureus.</i>	Se concluyó que el material sintetizado con la mayor concentración de plata fue el que presentó un mayor nivel de inhibición en el crecimiento de ambas bacterias, ya que al aumentar la concentración de la solución donadora de iones metálicos involucrada en el proceso poliol el contenido de plata en la cubierta del Carbón aumenta, promoviendo su carácter antibacterial.

Tabla N° 3. Estudios recientes relacionados con nano-partículas metálicas de plata y su carácter antibacterial (continuación).

Autor	Sistema antibacterial empleado.			Bacterias analizadas	Conclusiones del estudio
	Agente bactericida.	Soporte del agente bactericida	Método de síntesis del agente bactericida		
<p>Pal, S., Song, J. y Tak, Y. Guangzhou, China. (2007).</p>	-Nano-partículas de plata	- Sin Soporte.	- Método poliol.	- <i>Escherichia Coli.</i>	<p>En este estudio se concluyó que la inhibición completa del crecimiento bacteriano se observó casi inmediatamente al colocar nano-partículas de plata sobre los platos de cultivo bacteriano, señalando que la inhibición depende de la concentración de plata, así como del número inicial de bacterias.</p>
<p>Salopek-Sondi, Banka y Sondi, Ivan. Zagreb, Croacia. (2004).</p>	- Nano-partículas de plata.	- Sin soporte (nano-partículas en contacto directo sobre las bacterias)-	- Método poliol.	- <i>Escherichia Coli.</i>	<p>Se lograron altos niveles de inhibición del crecimiento bacterial, alcanzando el 70% y 100% de efectividad variando la concentración de plata en las nano-partículas. Según los autores el efecto antimicrobiano de las nano-partículas de plata se debe a interacciones entre éstas y la membrana de las bacterias, produciendo cambios y alteraciones en la misma, que degradan y destruyen las células bacterianas. Estos estudios se llevaron a cabo empleando concentraciones de 10 a 100 µg cm⁻³ de nano-partículas de plata que se pusieron en contacto directo con las bacterias anteriormente mencionadas, para todas las concentraciones de plata se evidencio un alto efecto bactericida, sin embargo a diferentes tiempos de contacto entre las bacterias y las nano-partículas.</p>

Tabla N° 3. Estudios recientes relacionados con nano-partículas metálicas de plata y su carácter antibacterial (continuación).

Autor	Sistema antibacterial empleado.			Bacterias analizadas	Conclusiones del estudio
	Agente bactericida.	Soporte del agente bactericida	Método de síntesis del agente bactericida		
Matsumoto, K., Miyamae, N., Nishizawa, Y., Tsuji, M., Tsuji, T. y Zhang, X. Guangzhou, China. (2007).	- Nano-partículas de plata.	- Polivinilpirrolidona (PVP).	- Método Poliol con irradiación por microondas (MW).	- <i>(Ninguna)</i> .	Se determinó que se puede obtener una amplia gama de formas y tamaños de las nano-estructuras de plata sintetizadas variando parámetros experimentales como las concentraciones de PVP, AgNO ₃ y el tiempo de calentamiento en el horno de microondas.

II.4. Las alúminas, como soportes catalíticos para la inactivación de microorganismos en aguas

La alúmina es un óxido de aluminio, cuya fórmula química es Al_2O_3 . Los óxidos de aluminio son excelentes aislantes térmicos y eléctricos en su forma cristalina llamada corindón (zafiro y rubíes). Este tipo de óxidos metálicos, tienen grandes aplicaciones como soportes para catalizadores, pegamentos y adsorbentes, entre otros.

En la actualidad las alúminas de transición son ampliamente utilizadas por sus propiedades físicas tales como área superficial, distribución y volumen de poros poseen un efecto significativo sobre sus potenciales aplicaciones; estas se emplean en la fabricación de materiales refractarios de altas temperatura, y en el secado de gases y líquidos; tienen la ventaja de ser prácticamente inertes frente a un gran número de compuestos y recuperan su actividad por calentamiento.

Las alúminas de transición, hidróxidos y oxihidróxidos de aluminio se pueden representar por la fórmula general $Al_2O_3 \cdot XH_2O$, en la cual el valor de X varía según los diferentes compuestos. Se diferencian estos, por lo tanto, por su mayor o menor contenido de agua, lo que influye en su estado de cristalización y su estructura (Droguett, 1972).

Las propiedades de la superficie de la alúmina dependen mayormente del pH. En un medio ácido, por debajo del punto carga cero, la superficie se carga positivamente. En un medio básico, por encima del punto de carga cero, la superficie se carga negativamente.

El punto de carga cero, es aquel valor de pH, en el cual la carga neta de la superficie es cero. Este punto puede variar de 7 a 10 aproximadamente dependiendo del tipo de alúmina. Es importante acotar que el pH 5 es el valor adecuado para obtener la fase de la bohemita necesaria, para luego ser sintetizada y producir la fase de γ -alúmina.

La formación de la carga superficial y la fuerte dependencia del pH de la alúmina, son de crucial importancia cuando se habla de las aplicaciones de la alúmina como catalizador o como adsorbente en el tratamiento de aguas.

Es importante destacar, que bajo óptimas condiciones de reacción pueden ser obtenidas alúminas, con alta actividad catalítica y la alta capacidad de adsorción para procesos de remoción de impurezas del agua.

En el tratamiento de aguas, la alúmina es principalmente usada como intercambiador iónico, debido a su alta área superficial y alta afinidad, por ende es recomendada para remover gran cantidad de compuestos inorgánicos.

Recientemente las alúminas han sido empleadas como soportes catalíticos para la inactivación de *Escherichia coli* (E coli) en aguas. Se ha demostrado que los catalizadores $\text{Ag}/\text{Al}_2\text{O}_3$ exhiben alta actividad bactericida a temperatura ambiente (Gregg y Sing, 1982).

II.5. Técnicas de Caracterización

A continuación se describen algunas técnicas empleadas para distinguir y cuantificar ciertas propiedades relacionadas con la mecánica, la estructura y la composición de los materiales sólidos sintetizados.

II.5.1. Difracción de rayos X (DRX)

La difracción es un fenómeno netamente ondulatorio que conlleva la generación de interferencias constructivas y destructivas entre las ondas incidentes y las dispersadas por un medio. Los átomos se encuentran organizados de manera tal, que al incidir un haz de rayos-X, provoca una interacción con el campo eléctrico, haciendo dispersar el haz en cualquier dirección del espacio, en algunas direcciones se ilumina de manera

constructiva y otra de manera destructiva, permitiendo así la identificación de los compuestos presentes en la muestra.

Los patrones de DRX de sólidos sintetizados, permiten en primer lugar la identificación de la fase sintetizada y su posible contaminación con otras fases cristalinas.

II.5.2. Microscopía Electrónica

La Microscopía Electrónica en sus diversas modalidades se presenta como una poderosa herramienta que permite la caracterización de materiales utilizando para ello un haz de electrones de alta energía que interactúa con la muestra. Por otra parte, al poder incorporar a los microscopios electrónicos dispositivos para análisis elemental, estos se convierten en instrumentos analíticos de gran resolución. Se puede decir que existen dos grandes familias de microscopios electrónicos: los de transmisión y los de barrido.

II.5.3. Microscopio electrónico de Transmisión (MET)

Este tipo de instrumento nos suministra imágenes en un plano. Permite obtener una imagen aumentada de la muestra utilizando los electrones primarios que la atraviesan. Para facilitar la comprensión de la estructura de un MET puede considerarse que éste está formado por un sistema de iluminación y uno de formación de imagen.

Sistema de iluminación: El cañón de electrones y los lentes condensadores pueden considerarse como el sistema de iluminación de un MET.

Sistema de formación de imagen: Está formado por el lente objetivo, los condensadores y los proyectores.

II.5.4. Microscopio electrónico de Barrido (MEB)

Este instrumento permite observar la topografía de una muestra utilizando los electrones secundarios producidos por la interacción de un haz de electrones de alta energía con el material de estudio. Para formar la imagen en un MEB se utiliza la señal de electrones secundarios; que son generados por la interacción inelástica del haz primario con la muestra. La cualidad más importante de un microscopio electrónico de barrido es su gran profundidad de campo, la cual puede considerarse como una distancia en la cual puede observarse en foco los componentes de la muestra contenida en dicha distancia.

A continuación y a manera de ejemplo se enumeran algunos parámetros que pueden ser estudiados con la microscopia electrónica:

- 1.- Tamaño y forma de cristales.
- 2.- Porosidad.
- 3.- Análisis químico, distribución de los elementos que componen una muestra y la relación entre ellos.
- 4.- Dispersión de una fase en otra o re-dispersión en catalizadores soportados.
- 5.- Imágenes de red: pueden observarse arreglos de planos cristalográficos y arreglos de átomos, por lo tanto es posible estudiar defectos cristalográficos como son los inter-crecimientos cristalinos.
- 6.- Poros: es posible observar meso y micro-poros, al igual que poros de mayor tamaño.
- 7.- Con los estudios de difracción de electrones se puede determinar el tipo de celda unitaria, parámetros de red y tipo de compuesto.
- 8.- Si se dispone del dispositivo adecuado es posible realizar experimentos *in situ*: calentamiento, enfriamiento, reacciones químicas, etc.

II.5.5. Espectroscopia de Rayos X característicos

Los rayos X característicos emitidos por la muestra pueden ser analizados de dos maneras diferentes:

a) Utilizando un cristal semiconductor que dispersa los RX en función de su energía y que se conoce como detector del tipo EDS (Energy Dispersive Spectroscopy). Generalmente este tipo de análisis es semicuantitativo.

b) Utilizando un cristal que dispersa los RX en función de su longitud de onda (Ley de Bragg), este tipo de detección se conoce como WDS (Wavelength Dispersive Spectroscopy). Lo usual es realizar estos análisis de manera cuantitativa.

Cuando se analiza una muestra usando la señal de RX característicos, la composición elemental obtenida proviene de varios micrómetros de profundidad, es decir, que no es un análisis superficial.

II.5.6. Espectroscopia Auger y XPS

En este caso la señal estudiada son electrones de relativa baja energía (50 a 1000 eV) que salen de la muestra. Ambas técnicas permiten el análisis elemental cualitativo y cuantitativo del material. Esta técnica se basa en la medición de la radiación que emite un sólido cuando es irradiado con fotones, electrones o partículas pesadas como iones, átomos, etc. La técnica del XPS analiza los electrones emitidos o dispersados en la superficie de la muestra como consecuencia de su excitación por la acción de los rayos X o electrones, es por ello que dicha técnica se utiliza en el análisis superficial de diversos materiales y compuestos.

Las técnicas XPS (x-ray photoelectron spectroscopy) y UPS (Ultraviolet-ray photoelectron spectroscopy) se basan en el análisis en energía de los electrones que

emite un sólido cuando es irradiado con rayos X o ultravioleta monoenergéticos. Por tanto con la técnica UPS se podrán estudiar los electrones procedentes de los niveles más externos de la muestra.

II.5.7. Difracción de electrones

Cuando el haz de electrones de un microscopio electrónico de transmisión interacciona con una muestra cristalina, estos son dispersados en ángulos bien definidos según la Ley de Bragg. El resultado de este fenómeno se observa como un patrón de difracción cuyo análisis permite estudios de la estructura cristalina e integridad estructural.

II.5.8. Espectroscopía de Infrarrojo (IR)

Cada compuesto químico tiene asociado un espectro infrarrojo característico, donde los máximos de absorción corresponden a determinadas energías de vibración (tensión, flexión, etc.) de los enlaces químicos presentes. Es una técnica de caracterización que permite identificar grupos funcionales y la estructura de la molécula

II.5.9. Espectrometría ultravioleta-visible

La espectrometría ultravioleta-visible o espectrofotometría UV-Vis implica la espectroscopia de fotones en la región de radiación ultravioleta-visible. Utiliza la luz en los rangos visible y adyacentes, el ultravioleta (UV) cercano y el infrarrojo (IR) cercano. En esta región del espectro electromagnético, las moléculas se someten a transiciones electrónicas. Esta técnica es complementaria de la espectrometría de fluorescencia, que trata con transiciones desde el estado excitado al estado basal, mientras que la espectrometría de absorción mide transiciones desde el estado basal al estado excitado. La espectrometría UV/Vis se utiliza habitualmente en la determinación cuantitativa iones de metales de transición. La ley de Beer-Lambert

establece que la absorbancia de una solución es directamente proporcional a la concentración de la solución. Por tanto, la espectrometría UV/VIS puede usarse para determinar la concentración de una solución. La ley de Beer-Lambert es útil para la caracterización de muchos compuestos, pero no sirve como relación universal para la concentración y absorción de todas las sustancias (Jacobs, 1984).

II.5.10. Adsorción física de nitrógeno

Consiste en el estudio de las cantidades de N₂ adsorbidas por el sólido, en función de la presión relativa del gas en contacto, a temperatura constante. La curva característica de estas medidas es la isoterma de adsorción. Basándonos en su análisis a su temperatura normal de saturación (77K), sobre la superficie de un sólido, se procede a la caracterización de la superficie porosa y superficial de los distintos materiales. El gas empleado para el análisis y para la evaluación de los espacios libres ha sido N₂. En todas las muestras, previamente a la obtención de la isoterma, se ha procedido a un pre-tratamiento de desgasificación durante 16 horas a 140°C, y con un vacío de 10⁻³ mmHg. Este tratamiento tiene por objeto eliminar los gases o moléculas adsorbidas en la superficie y sistema poroso del sólido a analizar, generalmente agua, que interfieren la adsorción de nitrógeno, obteniéndose datos de volumen del gas adsorbido (mL STP/g muestra) frente a la presión relativa de nitrógeno (P/Po) (Gregg, 1991).

Cada punto de la isoterma que se obtiene representa un punto de equilibrio entre dichas magnitudes. Una vez alcanzada, mediante adsorciones sucesivas de gas, presiones relativas próximas a la unidad, es posible determinar la cantidad de adsorbato que permanece retenido para valores decrecientes de P/Po. La curva resultante es la isoterma de desorción. Ambas curvas, desorción y adsorción, no tiene porque coincidir en todo el rango de presiones relativas. La diferencia entre una y otra se conoce como curva de histéresis. Para un tipo de sólido la forma de la isoterma y del ciclo de histéresis están determinados por la estructura porosa. Así pues, la primera fuente de información sobre textura de un sólido se obtiene de la forma de la isoterma de adsorción y del ciclo de histéresis. En la estructura porosa de cualquier

material, el tamaño de poro es uno de los parámetros principales. La clasificación del tamaño de poro adoptada por la IUPAC (Unión internacional de la Química pura y aplicada) y que fue propuesta por Dubinin está basada en los efectos observados en las isothermas de adsorción (Dubinin, 1960).

Las isothermas se clasifican en cinco tipos básicos. Esta clasificación fue propuesta por Brunauer, Deming y Teller, y recibe el nombre de BDDT. Esta clasificación relaciona la forma de la isoterma con el tamaño de poros del adsorbente y con la intensidad de la interacción adsorbente-adsorbato. De Boer propuso una clasificación que relacionaba la forma del ciclo de histéresis con la de los poros presentes en el adsorbente, siendo pues, otro parámetro que aporta información sobre la estructura del sólido. Recientemente la IUPAC ha establecido una nueva clasificación de los ciclos de histéresis, en cuatro ciclos H1, H2, H3 y H4 (Gregg, 1991).

II.5.11. Superficie específica, S_{BET}

Para su medida, la IUPAC recomienda la utilización del método desarrollado por Brunauer, Emmet y Teller (método BET). Basados en la adsorción física de gases a temperaturas próximas a la de condensación de los mismos, los autores propusieron un método de análisis e interpretación de resultados que se basa en ciertas premisas que condujeron mediante consideraciones termodinámicas a la ecuación siguiente, conocida como ecuación BET:

$$\frac{P}{V_{ads} \times (P - P_o)} = \frac{1}{V_m \times C} + \frac{(C - 1)}{V_m \times C} \times \frac{P}{P_o} \quad \text{Ec. 5}$$

Donde: P es presión parcial del gas que se adsorbe, Po es tensión de vapor del gas a la temperatura que se realiza la adsorción, Vm es volumen de gas adsorbido cuando se ha formado una monocapa, C es constante dependiente del calor de condensación y

adsorción del adsorbato y V_{ads} es volumen de gas adsorbido a la presión P . Si manejamos los datos experimentales correspondientes a la zona en que se está formando la monocapa inicial, la representación de los datos experimentales de $P/V_{ads}(P-P_0)$ frente a P/P_0 será una línea recta según la ecuación BET. En esta recta, de la pendiente y la ordenada al origen se puede calcular C y V_m . En la práctica, esta linealidad se presenta para un cierto intervalo de valores de P/P_0 (Gregg, 1991). Una vez conocido el volumen de la monocapa, la superficie específica viene dada por la siguiente ecuación:

$$S_g = \frac{V_m \times N \times A_m}{M \times g} \quad \text{Ec.6}$$

Donde:

N : Número de Avogadro,

M : Volumen molar,

V_m : Volumen de gas adsorbido cuando se ha formado una monocapa,

g : Peso de la muestra de adsorbente empleado,

A_m : Sección ocupada por la molécula adsorbida, que se puede calcular asimilando el estado adsorbido al estado líquido, para el caso del nitrógeno, a la temperatura de condensación (-196°C ó 77K), se admite $0,162 \text{ nm}^2$ (IUPAC).

CAPITULO III. MARCO METODOLÓGICO

A fin de cumplir con los objetivos planteados, el trabajo se realizó en cuatro etapas, enumeradas a continuación:

1. Síntesis y caracterización de las nano-partículas de plata;
2. Preparación y caracterización de las nano-partículas soportadas en la alúmina, partiendo de la preparación del soporte de gamma-alúmina;
3. Análisis de la capacidad bacteriológica del material;
4. Simulación del proceso de desinfección a escala de laboratorio

III.1. Etapa 1. Síntesis y caracterización de nano-partículas de plata.

Esta etapa incluye los aspectos relacionados con la síntesis de las nano-partículas utilizando el método poliol con calentamiento por microondas y su caracterización mediante UV-visible.

III.1.1. Preparación de nano-partículas de plata.

La síntesis de las nano-partículas de plata se llevó a cabo empleando el método poliol, que comprende un proceso donde una base reacciona con una solución acuosa de sal de plata (AgNO_3), en presencia de un agente orgánico y/o reductor como el etilenglicol.

Se prepararon soluciones coloidales de nano-partículas de plata a diferentes concentraciones, específicamente 0.3, 0.6, 1 y 8%, empleando para ello NaOH como base y promotor de la reducción y etilenglicol como medio solvente. Para determinar las diferentes concentraciones sintetizadas se empleó la Ec. 7, donde se relaciona la concentración de la solución con la cantidad de sal de plata.

$$M = \frac{S * \%}{100 - \%} * \frac{PMAgNO_3}{PMAg} \quad \text{Ec.7}$$

Donde:

M: Masa de AgNO₃ [g]

S: Masa del soporte [g]

% : Porcentaje de Plata en el soporte [%]

PM: Peso molecular

III.1.2. Caracterización de las Nano-partículas de plata

Se obtuvieron los espectros de UV-visibles de las muestras de las nano-partículas preparadas a diferentes concentraciones. Dichas muestras también se analizaron efectuando un estudio de la variación de potencias en el calentamiento por microondas, utilizando un espectrofotómetro Hitachi U2010.

III.2. Etapa 2. Preparación de las Nano-partículas de plata soportadas

Una vez sintetizadas las nano-partículas de plata, éstas fueron soportadas sobre gamma-alúmina, tanto comercial como sintetizada en el laboratorio (MSM). Para soportar dichas nano-partículas sobre la gamma-alúmina se emplearon metodologías de ultrasonido y de impregnación.

III.2.1. Preparación del soporte

Se utilizaron dos soportes de gamma-alúmina, una comercial y otra sintetizada en el laboratorio.

La gamma-alúmina comercial fue suministrada en forma de extrudados (pellets o pastillas), los cuales fueron triturados para obtener la forma de polvo.

El segundo soporte de gamma-alúmina, identificado como MSN, fue sintetizado en el laboratorio, en forma de polvo, para lo cual se siguió el siguiente procedimiento:

- En un recipiente de agua destilada, fue añadida una cantidad de isopropóxido de aluminio y glucosa agitando continuamente durante 45 minutos.
- El pH de la mezcla fue ajustado a pH 5, empleando una solución de HNO₃ al 10%.
- Una vez alcanzado el valor de pH 5, se detuvo la agitación y se mantuvo la muestra en reposo por 5 horas.
- La solución fue colocada en una estufa por 20 horas a 70°C, para su secado, y calcinada en un horno a 600 °C, siguiendo una rampa de calentamiento requerida.

III.2.2. Preparación de las nano-partículas soportadas

Las nano-partículas de plata fueron soportadas sobre la gamma-alúmina empleando los métodos de preparación ultrasonido e impregnación. En el primero, se añadió la alúmina comercial pulverizada en la solución donde se sintetizaron las nano-partículas metálicas, posteriormente la suspensión fue colocada en un equipo de ultrasonido por 45 minutos y finalmente se evaporó el solvente a una temperatura de 100° C por 24 horas. En el segundo método, la impregnación, solo se sumergió la alúmina en la solución con las nano-partículas de plata y se agitó continuamente unas horas hasta que la evaporación del solvente fue completada, posteriormente se secó en una estufa, a 80 °C por 24 horas. En esta etapa se soportaron las nano-partículas en la alúmina comercial, tanto en polvo como en pellets. A objeto de comparación, se empleó también una alúmina mesoporosa en polvo; alúmina (MSM).

II.2.3. Determinación del contenido de plata en las muestras sintetizadas

Se realizaron estudios de espectroscopia de absorción atómica de llama para determinar el contenido de plata en los soportes de gamma-alúmina, tanto en polvo como en pellets.

III.2.4. Caracterización del soporte y las nano-partículas de plata soportadas sobre gamma-alúmina

Los sólidos sintetizados se caracterizaron para su identificación y determinar cristalinidad, morfología, tamaño y composición de su superficie, mediante las técnicas de difracción de rayos X, microscopía de transmisión (TEM) y microscopía de barrido, espectroscopía fotoelectrónica de rayos X (XPS),. En el caso del área superficial de las alúminas se utilizó la técnica de adsorción física de nitrógeno. Los materiales soportados fueron caracterizados mediante análisis químico y difracción de rayos X para la identificación y cuantificación de la plata, además de análisis de microscopía de transmisión (TEM) y microscopía de barrido.

En nuestro caso utilizamos un (Scanning Electron Microscope) modelo S-2400 de la marca Hitachi (Fig.7), ubicado en el Centro de Microscopia Electrónica de la Facultad de Ingeniería de la UCV.



Figura 7. Microscopio Electrónico de Barrido modelo S-2400 (Hitachi).

III.3. Etapa 3. Análisis de la capacidad bactericida de los materiales preparados

Una vez soportadas las nano-partículas de plata sobre la alúmina, fueron realizadas las primeras pruebas bacteriológicas al material, para comprobar si poseían o no efecto bactericida. Para el estudio se utilizaron bacterias *e. coli* (cepa wild tipe). El crecimiento bacteriano fue medido con el uso de un espectrofotómetro Perkin Elmer modelo lambda 2, tomando las medidas en 660 nm. Un cultivo en medio líquido de las bacterias en su fase exponencial de crecimiento, fue dividido en tres porciones de volúmenes iguales. En la primera porción fueron colocadas las nano-partículas de plata soportadas sobre gamma-alúmina comercial en forma de pellets, bajo el tratamiento de ultrasonido. En las otras dos porciones fueron colocadas las nano-partículas de plata soportadas en gamma-alúmina comercial en pellets, mediante tratamiento de impregnación, con porcentajes de impregnación de 1% y 8%. El efecto bactericida de los pellet fue determinado como porcentaje de inhibición en el tiempo, tomando como referencia positiva los cultivos en ausencia de pellets.

III.4. Etapa 4. Simulación del proceso de desinfección mediante ensayos escala laboratorio

Tomando como referencia los estudios presentados en la Tabla 3, así como en los factores que inciden en la desinfección, desarrollados en el marco teórico, a continuación se describen las actividades y pruebas realizadas para analizar la capacidad bactericida de las nano-partículas de plata soportadas sobre gamma-alúmina:

III.4.1. Condiciones generales del ensayo

El agua utilizada para las pruebas fue recolectada en el afluente de la planta de tratamiento de agua La Mariposa, que abastece parcialmente a la ciudad de Caracas. El agua contenía densidades de microorganismos en el orden de $10^4 - 10^3$ ufc/100

mL, típicas de aguas procedentes de fuentes medianamente intervenidas, utilizadas para el abastecimiento humano. Con la idea de analizar la influencia de la presencia de turbiedad y material suspendido, en general, se realizó el filtrado de parte de la misma, a modo de poder comparar el efecto bactericida del material sintetizado, bajo las condiciones de: agua filtrada y agua cruda. La filtración se realizó a través de dos medios de distinta porosidad: primero a través de papel filtrante Whatman N° 4 (filtrado grueso) y luego a través de papel Whatman N° 42 (filtrado fino), para mejorar la eficiencia de remoción de los materiales suspendidos.

En las pruebas enumeradas a continuación, se utilizaron las nanopartículas de plata soportadas en gamma-alúmina en forma de polvo, tanto la preparada a partir de la pulverización de los pellets comerciales, como la sintetizada en el laboratorio mediante la metodología antes mencionada, identificada como alúmina “MSM”, así como la alúmina comercial en forma de pellets.

Se trabajó en un sistema por carga, utilizando el equipo de Prueba de Jarros (Phipps&Bird PB-700 JARTESTER), de uso común para la fijación en el tratamiento de potabilización de aguas, que permite la agitación simultánea de seis (6) recipientes de 2 L de capacidad, a velocidad variable, y en un sistema continuo, diseñado y construido a partir de una columna de vidrio de 1 cm de diámetro, variando la longitud en dos de las pruebas realizadas.

En el sistema por carga se evaluaron los materiales en forma de polvo y en pellets, mientras que en el sistema continuo se utilizaron sólo los pellets de gamma-alúmina comercial impregnados con nano-partículas de plata.

Finalmente, el ensayo fue complementado con el análisis de plata residual en el agua tratada, a fin de comparar los valores obtenidos con el límite máximo permitido en la normativa de agua potable.

III.4.2. Determinación de la capacidad bactericida de las nano-partículas de plata soportadas en polvo de gamma-alúmina comercial, en un sistema por carga, escala laboratorio

Esta prueba fue diseñada para estimar el comportamiento del material propuesto como desinfectante, utilizando el equipo de pruebas de jarra descrito anteriormente.

En tres de los recipientes se vertió agua cruda y en los otros tres, agua filtrada para comparar el efecto de la presencia de los sólidos suspendidos. Tanto para las muestras de agua cruda como filtrada se aplicaron dosis de 10, 50 y 100 mg del material preparado (nano-partículas soportadas sobre gamma-alúmina comercial en polvo).

Se analizaron muestras de agua cruda y filtrada sin tratar, utilizadas como blanco, para cuantificar la densidad inicial de microorganismos.

Para determinar la incidencia del tiempo de retención o de contacto, se captaron muestras a 5 y 30 minutos, a partir del momento de iniciación de la experiencia.

En cada una de las muestras se realizaron análisis de organismos coliformes totales, siguiendo la metodología estándar, por el método de filtración por membrana, según el Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. Cabe resaltar que, en el método de análisis señalado, la filtración se realizó a través de un papel filtrante de 0,45 micras, es decir que cabe esperar que las nano-partículas soportadas lo atraviesen, por lo tanto no interferirán en el crecimiento de los microorganismos que queden retenidos.

El tamaño de las partículas permite suponer que su sedimentabilidad debe ser muy baja. A pesar de ello, una vez transcurrido un tiempo de sedimentación, se realizaron análisis de plata al sobrenadante, para confirmarlo. Sin embargo no está previsto su

uso en esa forma. La experiencia sólo permite obtener un rango en el tiempo y dosis de aplicación para fijar las condiciones de los ensayos posteriores.

A partir de los resultados obtenidos se realizaron nuevas pruebas, con miras a ajustar las mejores dosis y tiempos de contacto, para lograr la máxima remoción de microorganismos e incluso la forma o sistema de flujo de agua.

III.4.3. Determinación de la capacidad bactericida de las nano-partículas de plata soportadas en pellets de gamma-alúmina comercial, en un sistema por carga, escala laboratorio

Esta experiencia fue diseñada para evaluar el efecto de la concentración de los pellets de diferentes grados de impregnación con nano-partículas de plata y compararlo, de manera preliminar, con el del cloro. El número de pellets y su grado de impregnación que fueron colocados en cada uno de los jarros del equipo utilizado para el ensayo por carga, se presenta en la tabla 4.

Tabla 4. Descripción de la prueba por carga para analizar el efecto de la concentración y grado de impregnación de los pellets.

Jarro N°	N° pellets (peso aprox. p/pellet, 0.0375 g)	% de impregnación	Dosis de cloro (mg/L)
1	10	5	0
2	10	8	0
3	20	5	0
4	20	8	0
5	0	0	6
6 (blanco)	0	0	0

Igual que en la experiencia anterior, las muestras fueron captadas a los 5 y 30 minutos del inicio, para determinar la incidencia del tiempo de retención o de contacto. Para cada una de las muestras se realizaron análisis de organismos coliformes totales, siguiendo la metodología estándar, por el método de filtración por membrana, según el Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. Los resultados de este ensayo fueron utilizados para analizar de manera preliminar la factibilidad técnico-económica del sistema propuesto.

III.4.4. Comparación entre la capacidad bactericida de las nano-partículas de plata soportadas en polvo de gamma-alúmina comercial con las soportadas en polvo de gamma-alúmina sintetizada MSM

Para comparar el comportamiento entre las nano-partículas soportadas sobre la gamma-alúmina comercial y la sintética fueron aplicadas distintas dosis del material preparado en polvo, impregnadas al 8% p/p, así como una muestra de gamma-alúmina sin impregnación, según se presenta en la tabla 5.

Tabla 5. Descripción de la prueba por carga para la comparación entre los materiales comercial y sintetizado en polvo.

Jarro N°	Gamma-alúmina	Dosis aplicada (mg)
1	Comercial al 8% p/p	50
2	MSN al 8% p/p	50
3	Comercial al 8% p/p	100
4	MSN al 8% p/p	100
5	Comercial sin impregnar	100
6 (blanco)	0	0

Igual que en las pruebas anteriores, se recolectaron las muestras a los 5 y 30 min con el fin de evaluar la incidencia del tiempo de retención o de contacto, a partir del momento de iniciación de la experiencia y se determinó el número de unidades formadoras de colonias de organismos coliformes totales, siguiendo la metodología estándar, por el método de filtración por membrana, según el Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater.

III.4.5. Determinación de la capacidad bactericida de las nano-partículas de plata soportadas en pellets de gamma-alúmina comercial, en un sistema continuo de lecho fijo, escala laboratorio

Para las pruebas en forma continua se prepararon dos torres empacadas de igual dimensión, con un lecho en la columna de 25 cm (largo) x 1 cm (diámetro) relleno de pellets de alúmina (diámetro aprox. 3mm) a diferentes dosis de impregnación (5 y 8%, p/p) y por donde se hizo pasar el agua de forma continua, con un caudal contante, para así poder tomar muestras en diferentes tiempos.

De igual forma en cada una de las muestras se hicieron análisis de organismos coliformes totales, siguiendo la metodología estándar, por el método de filtración por membrana, según el Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater.

III.4.6. Determinación de la capacidad bactericida de las nano-partículas de plata soportadas en pellets de gamma-alúmina comercial, en un sistema continuo de lecho fijo, escala laboratorio, duplicando la altura del lecho.

Con base en los resultados obtenidos en los ensayos anteriores, se preparó un lecho de mayor tamaño, constituido por los granos o extrudados previamente impregnados con nano-partículas de plata, para así verificar si el tiempo de contacto entre los

pellets y el agua a tratar, poseía un efecto notorio en el sistema continuo del lecho y el aumento del área de contacto. Se trabajó con un caudal constante que pudiera circular a través de la unidad durante el desarrollo de la experiencia.

Se utilizó una columna de vidrio de 50 cm de largo por 1 cm de diámetro, en donde el material granular se introdujo, se soportó el lecho a través de una rejilla en el fondo, malla de vidrio para evitar posibles sedimentos y se instaló un sistema de mangueras de entrada y salida que permitieron, mediante pinzas regular el flujo a través de la unidad. Se determinaron las densidades de los organismos coliformes en el afluente y efluente de la unidad, así como análisis de plata en el agua residual, a fin de asegurar la capacidad de adherencia del material.

III.4.7. Determinación del contenido de plata residual en los ensayos para la determinación de la capacidad bactericida

En los ensayos descritos en III.4.4 y III.4.5 fue analizado el contenido de plata residual al agua una vez tratada con las nano-partículas de plata soportadas, tanto en gamma-alúmina polvo como pellets, en los sistemas, por carga y continuo. El análisis fue realizado mediante espectroscopia de absorción atómica de llama.

CAPITULO IV. RESULTADOS Y DISCUSION

En este capítulo se presentan los resultados obtenidos de la caracterización de las nano-partículas de plata, soportadas en la gamma-alúmina empleando los métodos de preparación por ultrasonido e impregnación, así como los de las pruebas bacteriológicas realizadas con el material diseñado.

IV.1. Caracterización de las alúminas empleadas como soporte

Inicialmente se presentan los difractogramas correspondientes a las alúminas utilizadas en la preparación de los sólidos, los difractogramas obtenidos muestran los picos que permiten establecer cualitativamente la fase de la alúmina.

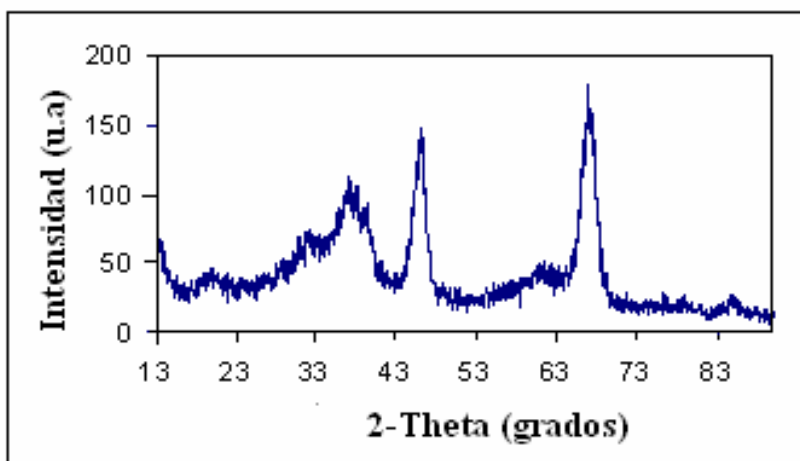


Figura 8. Difractograma de rayos x de la alúmina comercial, fuente CuK α .

En la figura 8 se observan las señales características correspondientes a los óxidos de aluminio presentándose tres picos principales en 37, 45 y 68°, los cuales corresponden a los planos de reflexión d_{311} , d_{400} , d_{440} de la fase gamma.

Seguidamente se presenta el difractograma de la alúmina sintetizada empleada en el presente estudio con la finalidad de identificarla y compararla con la alúmina comercial.

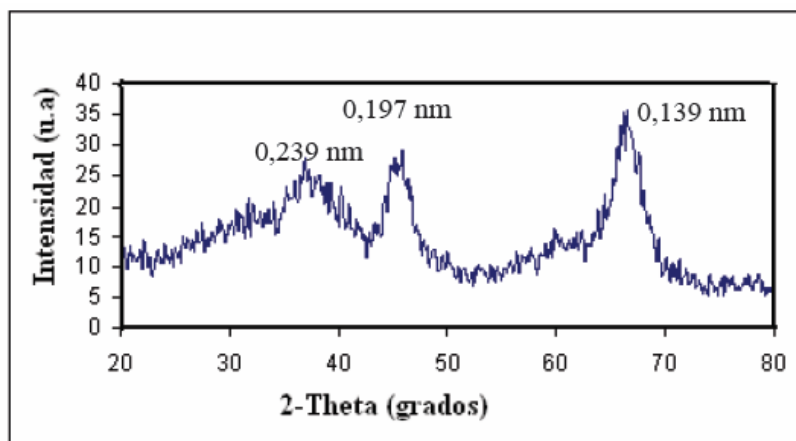


Figura 9. Difractograma de rayos x de la alúmina sintetizada, fuente CuK α .

Como puede apreciarse en la figura 9, se observan las reflexiones características a los planos d_{311} , d_{400} y d_{440} , lo que implica que se está en presencia de alúmina en la fase gamma. Al comparar los DRX de ambas alúminas (comercial y sintetizada), se ha podido observar la fase correspondiente a la γ -alúmina en ambos casos, pero la intensidad de los picos detectados es más pronunciada en la alúmina comercial con respecto a la alúmina sintetizada. Este hecho podría atribuirse a que si el área superficial específica es mayor, la cohesión entre las partículas de alúmina es menor y por lo tanto los picos obtenidos en los difractogramas de rayos X son más pequeños. Si por el contrario el área superficial es menor, la cohesión entre las partículas de alúmina es más grande y los picos obtenidos en el DRX son mas grandes, esto de acuerdo a lo reportado en la bibliografía (Rodríguez, 2003).

Según lo antes descrito se puede inferir que la alúmina sintetizada debería poseer un área superficial mayor, hecho que se corrobora con el estudio de fisisorción de nitrógeno.

IV.2. Caracterización textural de las alúminas a través del estudio de la adsorción-desorción de nitrógeno.

Continuando con la caracterización de las dos muestras de alúmina utilizadas en este trabajo especial de grado, se realizó la determinación del área superficial específica empleando el método desarrollado por Brunauer Emmet y Teller (BET). Adicionalmente se determinó el volumen de poro, el radio de poro empleando el método t-plot y BJH. En la figura 10, se muestra la evolución del volumen de N₂ adsorbido sobre la superficie del sólido comercial en función de la presión relativa (P/Po) de N₂ a -196°C.

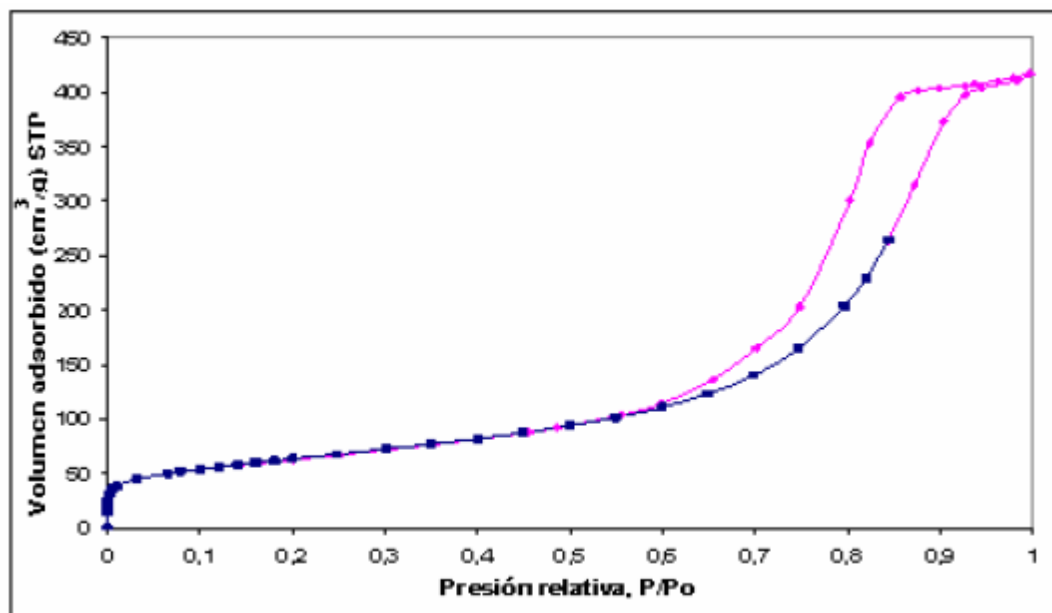


Figura 10. Isotermas de adsorción-desorción de N₂ sobre la alúmina comercial a -196°C.

La isoterma de adsorción-desorción para la alúmina comercial, presenta un comportamiento similar a la isoterma tipo IV con histéresis H2 según la clasificación IUPAC ó tipo E de acuerdo a la clasificación original de Böer, lo que indicaría la presencia de poros interconectados con una angosta distribución de tamaño de poro. Un aspecto importante de estas isotermas es el incremento del volumen adsorbido en la región de altas presiones relativas (P/P_0) normalmente causadas por la adsorción en los mesoporos. No obstante, los mesoporos observados en la gráfica corresponden a los espacios intra-partícula que se generan en el material, ya que esta alúmina comercial empleada, no es de tipo mesoporosa. Una vez analizada la muestra comercial, se procede a realizar la isoterma adsorción-desorción de N_2 para la alúmina sintetizada.

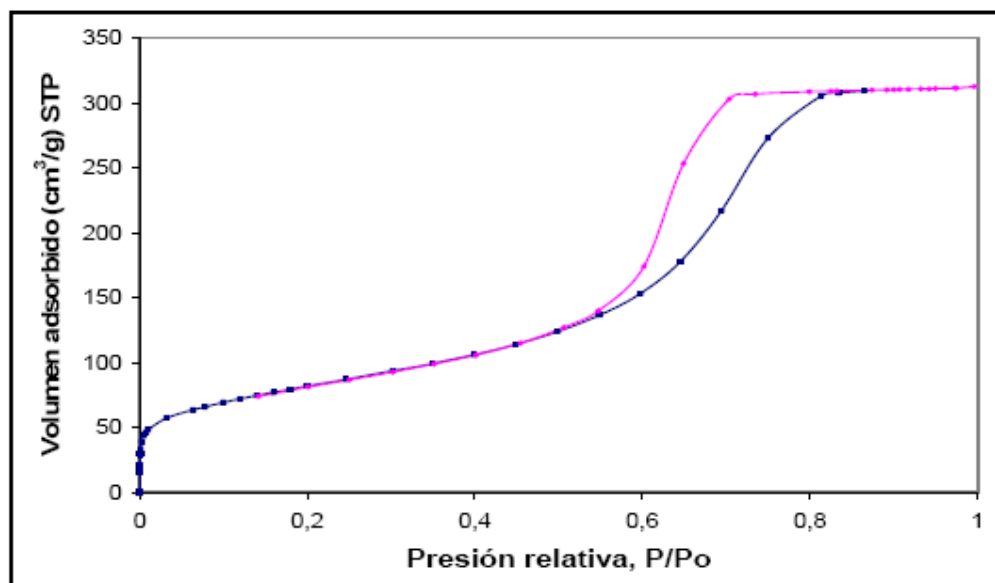


Figura 11. Isotermas de adsorción-desorción de N_2 sobre la alúmina sintetizada a 196°C .

Como se puede apreciar en la figura 11, la evolución del volumen de N₂ adsorbido a medida que aumenta la presión relativa (P/P₀) del gas N₂, es muy similar al de la muestra comercial, tanto así que presenta una isoterma tipo IV, con la presencia de histéresis H2 de acuerdo a las normas IUPAC. La isoterma obtenida es característica de sólidos mesoporosos, indicando la presencia de adsorción en múltiples capas hasta que se inicia la condensación capilar, se observa que los ramales en la sección de la histéresis no son completamente verticales. Este tipo de abertura de histéresis es característica de una estructura de poros interconectados con partes más estrechas, tal y como ha sido reportado en estudios previos (Masel, 1996).

En la siguiente tabla se muestra el área superficial específica de la alúmina comercial y la alúmina sintetizada, parámetro que fue determinado empleando la técnica de adsorción-desorción de nitrógeno.

Tabla 6. Valores de área superficial para la alúmina comercial y la alúmina sintetizada.

	A (m ² /g) BET	V _p (cm ³ /g) BJH	D (nm)
Comercial	210	65	11,6
<i>Sintetizada</i>	380	40	6,9

A: Área Superficial calculada por BET

V_p: BJH Volumen de poro calculado por el método BJH adsorción

R: Diámetro de poro promedio

En la tabla 6, se puede observar que la alúmina comercial posee un área superficial específica, determinada por BET, de 210 m²/g, mayor que la determinada para la alúmina MSM, de 380 m²/g. La diferencia de las áreas superficiales puede deberse a

que para la alúmina sintetizada se utilizó como agente templante glucosa (Xiao, 2006).

Esto corrobora lo reportado por Fajardo y colaboradores (2006) quienes indican que cuando la alúmina presenta mayor área superficial, la cohesión inter-partícula es menor y como se mencionó anteriormente el DRX presenta picos de menor intensidad y más anchos.

La dimensión de los poros se puede describir a través volumen de poro y el radio o diámetro de los mismos, estos valores son obtenidos empleando el método t-plot Y BJH (Tabla 6).

Para los sólidos estudiados se determinó la distribución de tamaños de poros mediante el método t-plot, los resultados se muestran en las figuras 12 y 13.

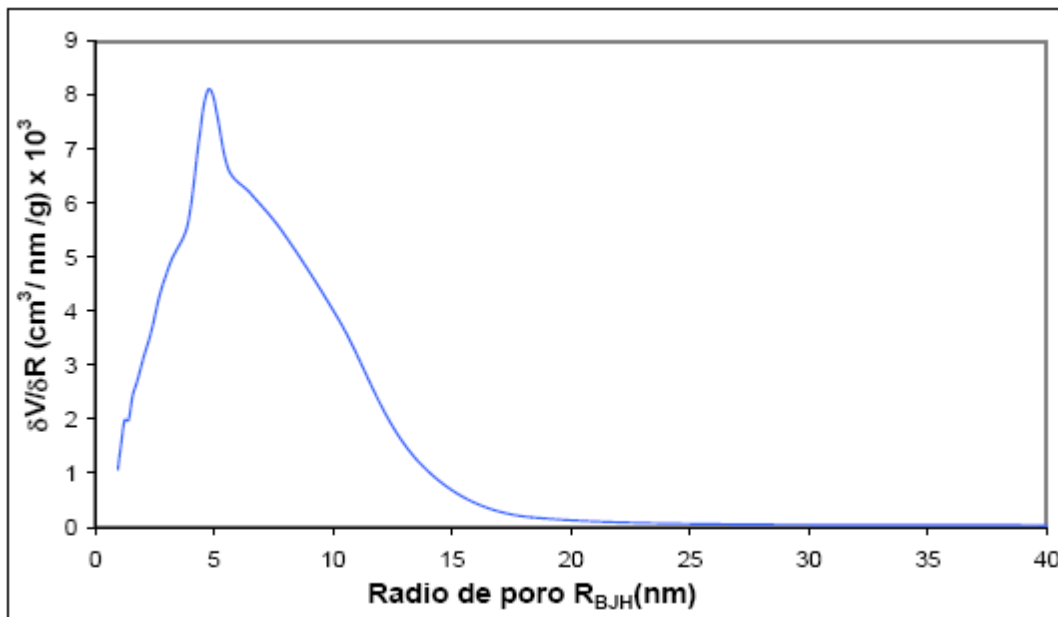


Figura 12. Distribución de tamaño de poro de la alúmina comercial.

En la figura 12, se observa que los poros de la alúmina comercial tienen una distribución con su punto máximo en un radio de poro de 5 nm, y se puede detallar que esta alúmina presenta una distribución de radios de poro comprendida entre 2 y 20 nm, coincidiendo con lo encontrado en la isoterma de adsorción-desorción en la cual se observó la presencia de histéresis H2; también se puede observar que la curva se corresponde a una distribución normal sesgada, como era de esperarse según lo reportado en la bibliografía (Gregg, 1982).

Para la alúmina sintetizada de partida la distribución de tamaño de poro y es mostrada en la figura 13.

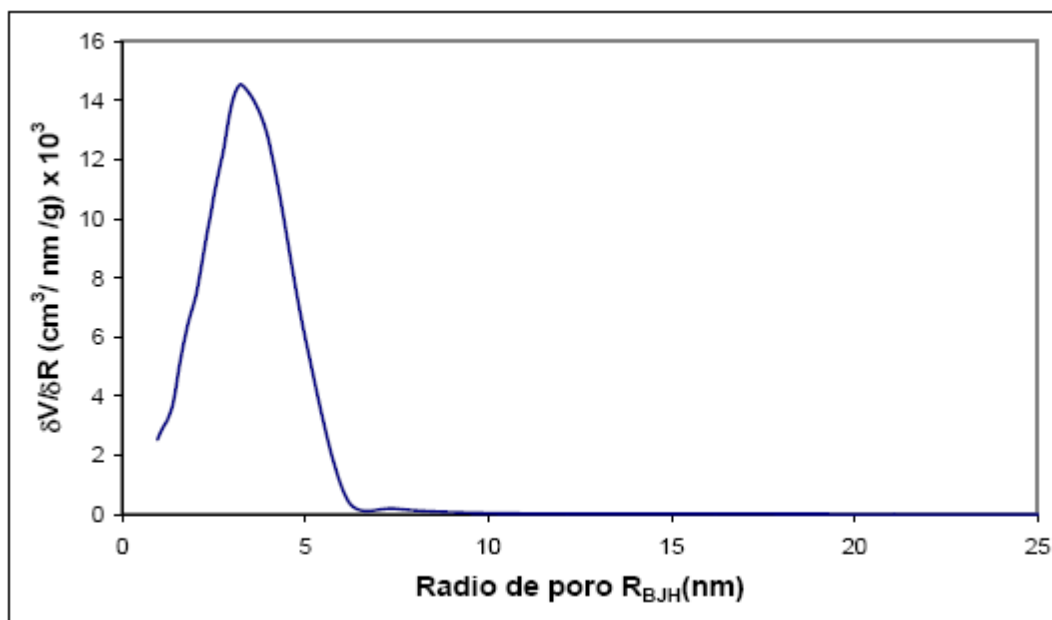


Figura 13. Distribución de tamaño de poro de la alúmina sintetizada de alta área superficial.

Se puede detallar en la figura 13, que la tendencia de la distribución de tamaño de poro presenta una forma unimodal, uniforme y mucha más estrecha que la encontrada para la alúmina comercial. Los radios de poro para esta alúmina se encuentran

principalmente entre 2 nm y 6 nm, un máximo centrado en 4 nm, los cuales se encuentran en el rango de los mesoporos. Su distribución se asemeja a una distribución normal, por lo que se puede inferir la presencia de un sólido con una porosidad uniforme.

IV.3. Caracterización de nano-partículas de plata mediante la técnica UV-visible

En la figura 14 se muestran los resultados obtenidos de los estudios de absorción por espectroscopia UV-visible para aquellas muestras preparadas con 0,3; 0,6; y 1 % de contenido de plata, empleando 325 vatios de potencia en el horno de microondas. El calentamiento por microondas se aplicó durante 60 segundos en todas las reacciones, considerando que es el tiempo necesario para alcanzar los 90° C, temperatura adecuada para la formación de las nano-partículas de plata empleando etilenglicol como medio solvente (Balasubramanya, R. H., Nachane, R. P. y cols. 2006).

Se analizó el efecto de la concentración de la mezcla de reacción manteniendo constante la relación de reactivos y el tiempo de reacción. Las curvas de los espectros de absorción UV-Vis de la figura 14 (a, b, y c) muestran una banda de resonancia de plasmón con un máximo alrededor de los 390 nm. Esta señal es frecuentemente observada cuando se está ante la presencia de nano-partículas de plata. La posición, forma e intensidad de la banda depende fuertemente de muchos factores: la constante dieléctrica del medio, el tamaño y forma de la nano-partícula, las interacciones electrónicas entre los estabilizantes, el nano-material, etc. El ensanchamiento observado en la señales de la figura, puede ser atribuido a la formación de partículas de diferentes tamaños. Por otra parte, en el estudio espectroscópico se observó que para un medio de reacción muy diluido (a) el pico de reacción decrece significativamente, observándose un bajo rendimiento.

En la figura 1(c), correspondiente al espectro UV-visible de la muestra preparada al 1%, se puede observar de forma más definida la presencia de un hombro con un corrimiento del pico de resonancia del plasmón hacia el rojo ubicado en 345 nm, indicando posiblemente la obtención de partículas metálicas de mayor tamaño y diferente morfología. En el caso de un sistema de nano-partículas esféricas monodispersas se debería observar la aparición de un único pico centrado alrededor de los 400 nm. Kottman y colaboradores (2000)

estudiaron numéricamente la longitud de onda nanométrica en el plasmón de resonancia de los UV y la morfología de la plata nano-estructurada, encontrando que un pico de absorción cercano a los 350 nm, como el observado en la figura 14, puede ser atribuido a la resonancia originada de partículas nano-estructuradas con poca simetría, tales como nanoplatos o nanotubos, con secciones transversales de tipo pentagonal. Adicionalmente, una absorción cercana a los 380 nm, puede ser indicativo de la formación de nanotubos de plata relativamente largos (Balasubramanya, R. H., Nachane, R. P. y cols. 2006).

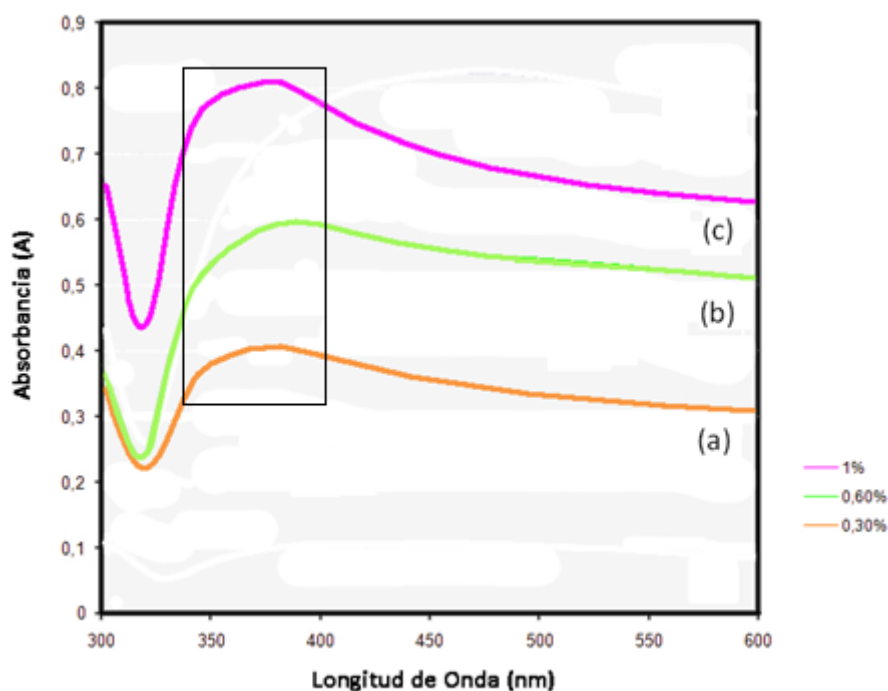


Figura 14. Espectro de absorción UV-visible para la muestra sintetizada (a) 0,3 % Ag; (b) 0,6% Ag; (c) 1% Ag a 325 Vatios.

La síntesis de las nano-partículas metálicas en ausencia de agentes protectores, como el PVP o polivinilpirrolidona, favorece la aglutinación o adherencia de las nano-partículas entre sí mismas, llevando a la formación de partículas de mayor tamaño y formas irregulares. Este fenómeno se hace más evidente al aumentar la concentración de plata en la suspensión (Balasubramanya, R. H., Nachane, R. P. y

cols., 2006). No obstante, se ha demostrado que es necesario preparar los sólidos con concentraciones de Ag de por lo menos 4 % p/p para lograr que el material posea una alta actividad bactericida en la desinfección de Escherichia coli en aguas. En este sentido se planificaron experiencias, a fin de tratar de obtener suspensiones con elevadas concentraciones de las nano-partículas metálicas (8% p/p)

La figura 15 muestra dos espectros UV-visibles de suspensiones preparadas al 8% de Ag y tratada con calentamiento en microondas durante 60 segundos a una potencia de 325 vatios. Como puede observarse en el plasmón de la figura 15(a), existe una disminución abrupta de la señal de absorbancia, indicando una baja eficiencia en la reacción, sugiriendo que pocas nano-partículas deben estar presentes en la suspensión tratada. Esto puede ser atribuido al efecto de “aglomeración” que presentan las nano-partículas en la síntesis, debido a la ausencia de un agente protector, lo que genera su coalescencia en el medio solvente.

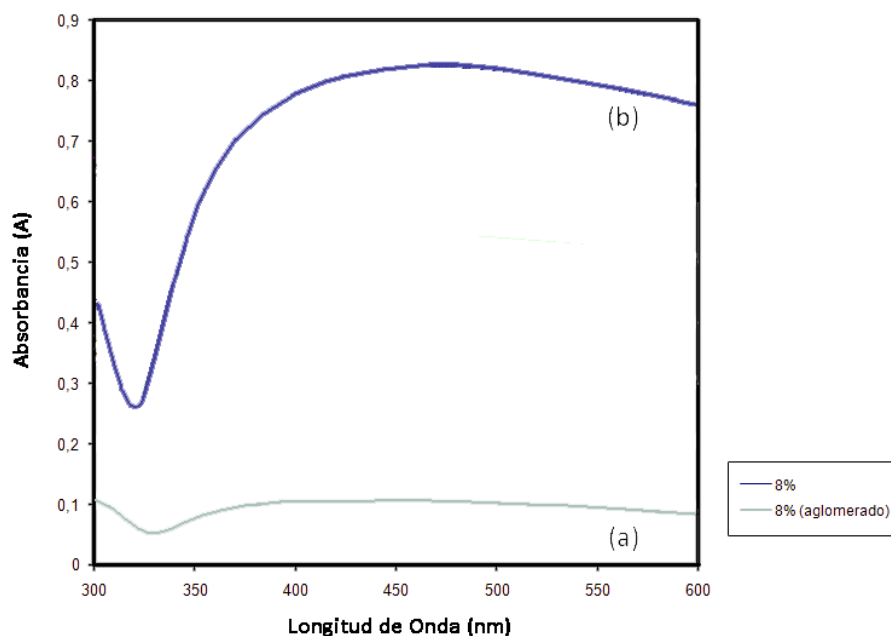


Figura 15. Espectro de absorción UV-visible para la muestra sintetizada (a) 8% Ag y (b) 8% Ag con tratamiento por ultrasonido a 325 Vatios..

La muestra obtenida fue tratada por ultrasonido, a fin de romper los agregados formados y observar el plasmón correspondiente (Fig. 15(b)). La curva obtenida luego de aplicar el tratamiento con ultrasonido indica una banda muy ancha y poco simétrica sobre los 470 nm, la cual puede sugerir la presencia de nanopartículas de plata, posiblemente de diferentes tamaños y morfologías.

IV.4 Caracterización de nano-partículas de platasoportadas sobre gamma-alúmina

Una vez obtenidas las nano-partículas, se realizó el soporte sobre la alúmina, aplicando el tratamiento por ultrasonido e impregnación. Para la caracterización del material soportado se muestran los estudios de DRX, TEM, SEM-EDX y XPS con la finalidad de analizar su estructura, elementos superficiales presentes, forma y tamaño.

IV.4.1. Espectroscopia fotoelectrónica de Rayos X (XPS)

Con la finalidad de confirmar que las especies químicas de plata formadas en la suspensión corresponden a Ag^0 , se le realizó una caracterización mediante la técnica de Espectroscopia Fotoelectronica de Rayos X (XPS). La figura 16 presenta el espectro XPS de alta resolución para la suspensión preparada con un contenido de plata del 1%, en las regiones espectrales de Ag 3d. En dicha figura se evidencian los picos de Ag 3d_{3/2} y Ag 3d_{5/2} los cuales pueden identificarse a 374.2 y 368.7 eV, respectivamente. En efecto, estas energías de enlace confirman la presencia de plata en estado reducido (Ag^0) (Moulder, J.F., Stickle, W.F y cols. 1992).

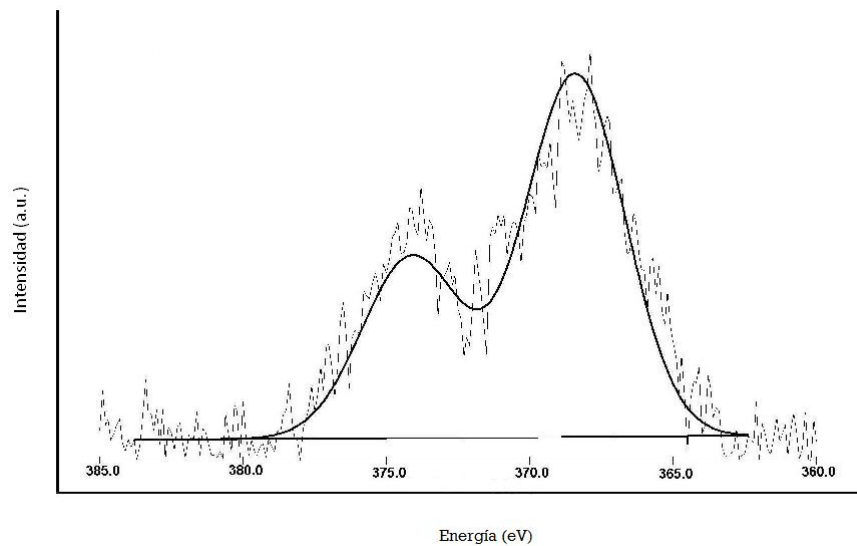


Figura 16. Espectros de rayos X en la región 3d para la suspensión de nanopartículas de plata.

En la figura 17 se muestra Espectro XPS en la región Ag 3d, para el soporte sólido preparado con un contenido de plata al 8%, p/p. En dicha figura se evidencian los picos de Ag 3d_{3/2} y Ag 3d_{5/2} los cuales pueden identificarse a 374.2 y 368.7 eV, respectivamente. En el espectro XPS de la muestra de γ -alúmina, preparada al 1% de contenido de plata, se observó solamente una composición superficial que contiene carbono, oxígeno y aluminio. No se encontró evidencia de la presencia de plata ya que las señales a Ag 3d_{3/2} y Ag 3d_{5/2} estaban ausentes. Es de asumir entonces, que las nano-partículas de plata se encuentran dentro del poro de la estructura del óxido de aluminio, ya que su presencia fue determinada a través de los estudios de difracción de rayos-X y microscopía electrónica de transmisión (TEM) y microscopía electrónica de barrido con EDX (MEB). La detección de plata metálica por XPS solo se logró observar en sólidos sintetizados con contenidos de plata mayores del uno por ciento.

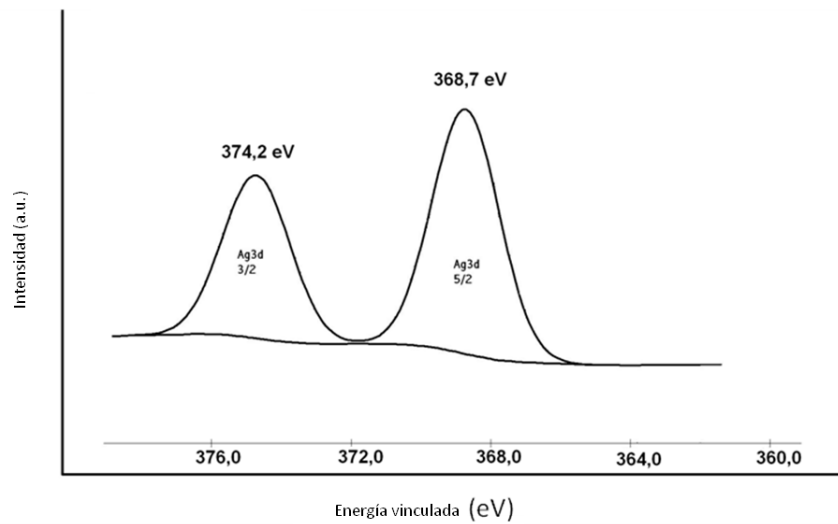


Figura 17. Espectro XPS en la región Ag 3d, para el soporte sólido preparado con un contenido de plata al 8%

IV.4.2. Difractogramas (DRX)

En la figura 18 se presentan los resultados obtenidos de las pruebas de DRX aplicadas a las muestras estudiadas (solución coloidal de nano-partículas al 1% (a) y nano-partículas de plata sobre alúmina (b)).

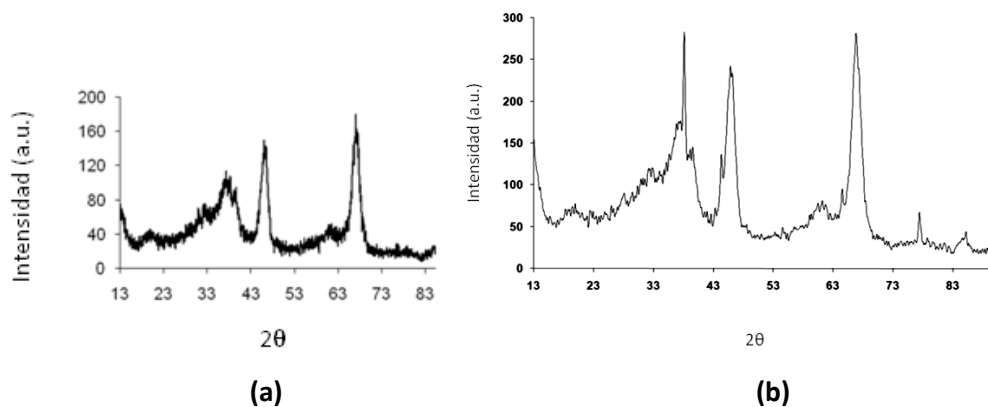


Figura 18. Difractogramas de solución coloidal (a) y de la Ag dispersa en la alúmina (b)

Los difractogramas mostrados, dejan ver claramente que la estructura de la alúmina es preservada después de la deposición de las partículas de plata, pues en el difractograma correspondiente a la figura (18b) aún se observan las señales características de los óxidos de aluminio en su fase gamma (picos a 2θ de 38° , 45° y 67°).

Igualmente se puede apreciar en el DRX correspondiente al sólido con plata soportada, unas señales estrechas a los ángulos 2θ de 38.3, 44.3, 64.7 y 77.4, correspondientes a las reflexiones asignadas a los planos (111), (200), (220) y (311), respectivamente, lo que confirma la presencia de plata metálica en la fase cúbica de caras centradas. Esto es una buena evidencia de la formación de plata de cierta cristalinidad (Murali Mohan. Y, L y cols. 2007). Por otra parte se evidencia la presencia de Ag en la muestra preparada al 1%, contrastando con los resultados de XPS anteriormente mostrados.

IV.4.3. Microscopia Electrónica y Difracción de rayos X (EDX)

Se sintetizaron tres muestras de nano-partículas de plata soportadas sobre la gamma-alúmina MSM. Dos de las muestras se soportaron empleando el método de ultrasonido y se les realizó un cubrimiento de platino-paladio para favorecer la conductividad de los electrones, con la finalidad de obtener imágenes más nítidas. La tercera muestra fue soportada empleando el método de impregnación; esto con la finalidad de determinar cuál de los métodos es más eficiente.

Dichas muestras se analizaron empleando la técnica de microscopia de barrido, para determinar la presencia de los posibles agregados formados por la aglomeración de las nano-partículas de plata y así realizar un estudio superficial de EDX para determinar la composición química de los elementos presentes en la superficie de la alúmina, y verificar la presencia de la plata en el soporte.

IV.4.3.1. Análisis de las muestras de Ag/Al_2O_3 , preparadas mediante el método de ultrasonido.

Se utilizó la técnica de microscopía electrónica con la finalidad de determinar la posible presencia de agregados de nano-partículas de plata al 1%, soportadas sobre gamma-alúmina empleando el método de ultrasonido. La figura 19, muestra en detalle partículas de alúmina, en donde no se evidencia la presencia de agregados en las partículas. A estas partículas de alúmina se le realizaron pruebas EDX en puntos aleatorios sobre su superficie para determinar la composición química de la misma.

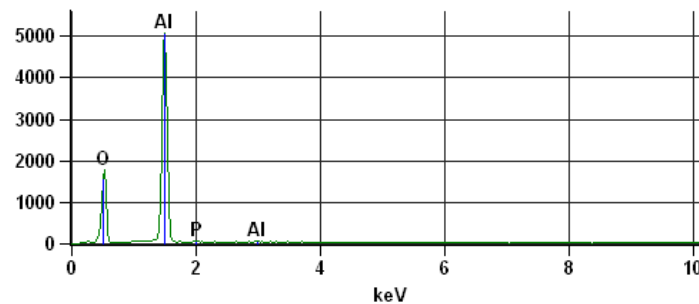
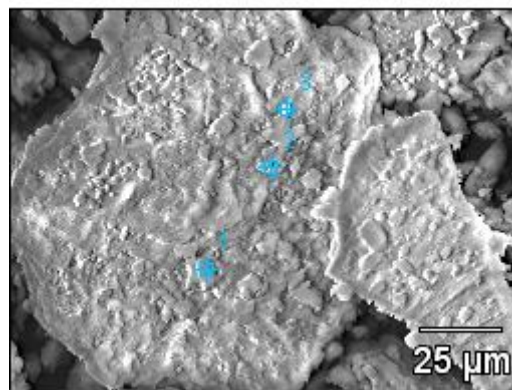


Figura 19. Microscopía de barrido SEM de 1% de Ag dispersa en la alúmina y EDX de la superficie seleccionada, con ultrasonido (Magnificación x800, voltaje 20.0KV)

Según el análisis químico obtenido, empleando la técnica de EDX, se puede apreciar que sobre la superficie de la alúmina existe la presencia de ciertos elementos como en este caso el fósforo atribuido a alguna impureza presente en la

muestra, sin embargo en ningún punto se evidencia la existencia de plata. Este fenómeno puede deberse a que las nano-partículas son muy pequeñas y estén muy distribuidas en su medio soporte sin formar agregados de mayor tamaño que pudieran ser detectados por las técnicas empleadas.

La figura 20 muestra imágenes de una muestra generada con un recubrimiento de platino-paladio, con la finalidad de mejorar la calidad y nitidez de las imágenes obtenidas. En este caso se observó la presencia de pequeños puntos más claros que los demás sobre la alúmina, lo que puede ser atribuido a la presencia de agregados de plata.

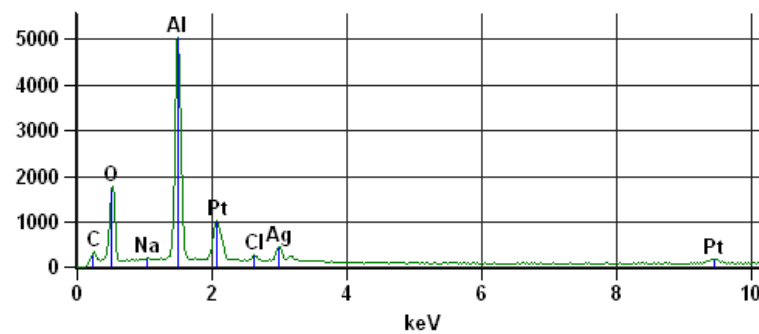
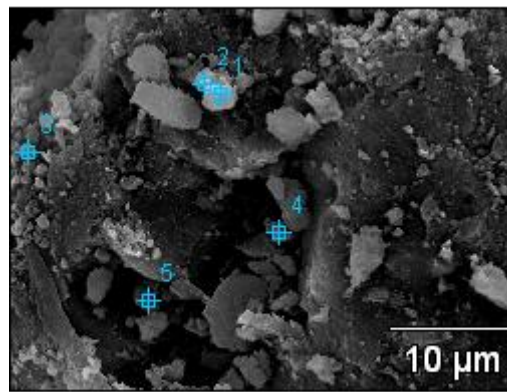


Figura 20. Microscopia de barrido SEM de 1% de Ag dispersa en la alúmina y EDX de la superficie seleccionada, con ultrasonido (Magnificación x3000, voltaje 20.0KV)

En la imagen anterior y según los resultados obtenidos por el estudio de EDX se puede verificar la existencia de plata sobre la superficie de la alúmina. Se

observan pequeñas zonas de color gris claro, que pudieran ser agregados de nano-partículas de plata. Los resultados obtenidos luego de realizar los EDX a los puntos aleatorios muestran la presencia de plata sobre la superficie de la alúmina en cuatro de los cinco puntos seleccionados. También se obtuvieron señales que evidencian la presencia de sodio, atribuible a alguna traza del hidróxido de sodio empleado en la síntesis de las nano-partículas, al igual que señales de platino y paladio debido al recubrimiento usado en la técnica.

Una vez realizado el análisis con EDX de cada punto seleccionado sobre la superficie de la alúmina, se determinó el porcentaje en peso de cada elemento presente (Tabla 7).

Tabla 7. Porcentaje en peso de los compuestos químicos presentes en las partículas de Alúmina con Plata soportada por ultrasonido.

PESO (% p/p)					
MUESTRA	F	Na	Al	Cl	Ag
Punto # 1	---	5.0+/-0.1	66.2+/-0.4	5.2+/-0.1	23.5+/-0.3
Punto # 2	---	5.0+/-0.1	40.0+/-0.2	4.6+/-0.1	50.3+/-0.3
Punto # 3	8.2+/-0.3	3.5+/-0.1	70.9+/-0.4	---	17.4+/-0.3
Punto # 4	---	0.2+/-0.1	91.9+/-0.6	---	7.8+/-0.3
Punto # 5	---	---	100.0+/-0.6	---	---

Se observó que el porcentaje de plata sobre la alúmina es bastante variado, sugiriendo que se obtuvo una distribución poco homogénea de las nano-partículas en el soporte de alúmina.

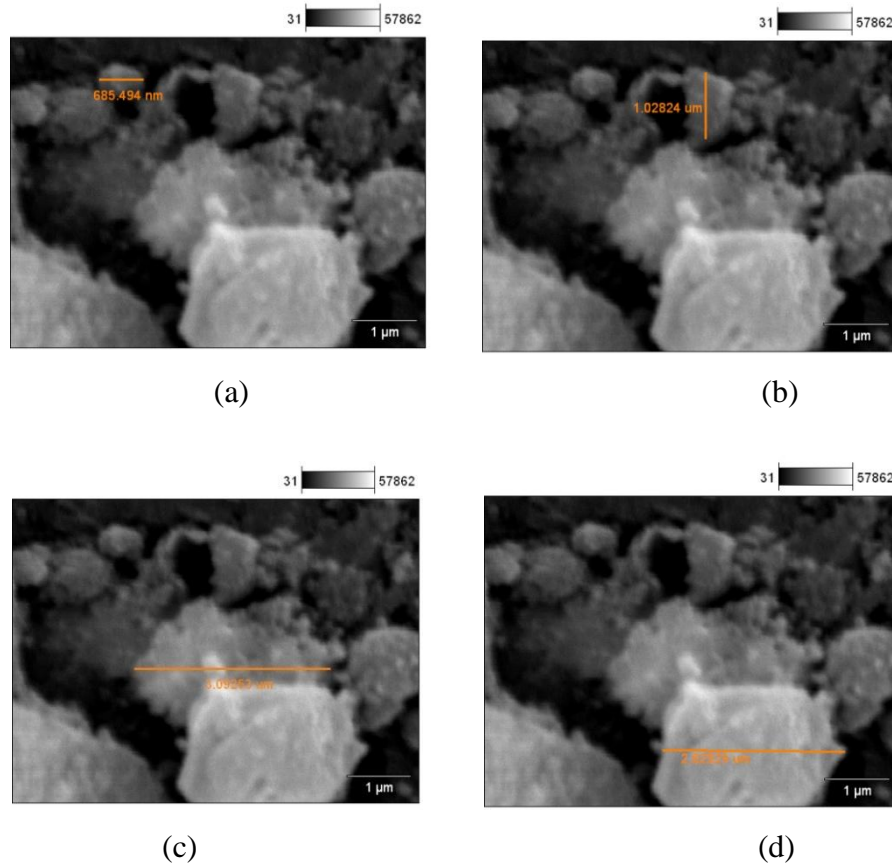


Figura 21. Microscopia de barrido SEM de Ag al 1% dispersa en la alúmina empleando ultrasonido (Magnificación x20000, voltaje 20.0 KV).

La figura 21(a) muestra partículas grandes de 685,4 nm de diámetro, alejado del rango esperado entre 0 y 50 nm; este fenómeno se produce por el posible aglomeramiento de las mismas nano-partículas entre sí por no emplear un agente protector o polímero (Dave, Kirti Patel y cols. 2005).

IV. 4.3.2. Análisis de las muestras de Ag/Al₂O₃, preparadas mediante el método de impregnación.

Se prepararon muestras de Ag/Al₂O₃ con un contenido en plata de 8% empleando para ello la impregnación como metodología de preparación del soporte. La figura 22, muestra en detalle las partículas de alúmina impregnadas con las nano-partículas metálicas, en donde se evidencia en mayor proporción la presencia de

zonas claras, que como en el caso anterior se pueden atribuir a los agregados de plata o aglomeraciones de las partículas de plata.

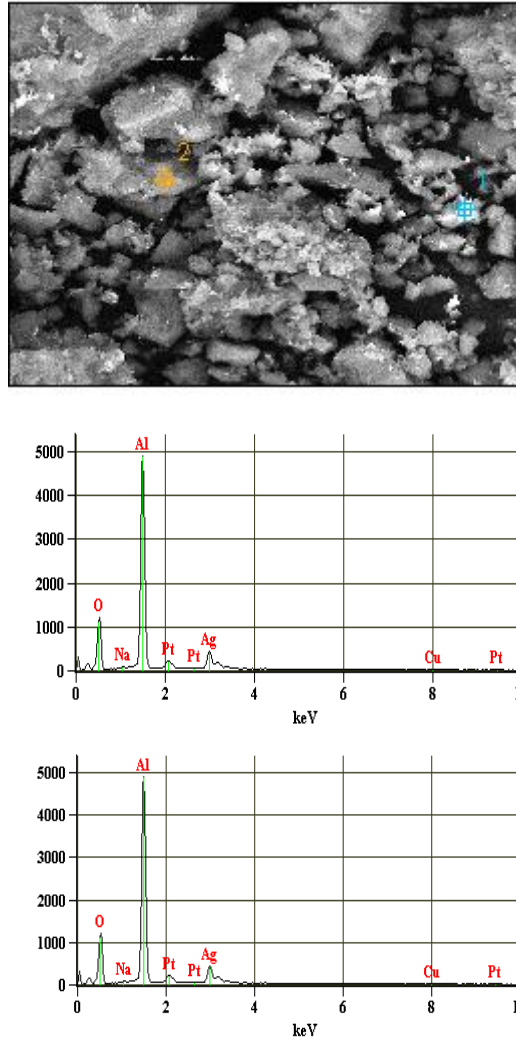


Figura 22. Microscopia de barrido SEM de Ag al 8% p/p dispersa en la alúmina y EDX de la superficie seleccionada, empleando impregnación (magnificación x10000, voltaje 20.0 KV).

De igual forma se le realizó estudio de EDX en los puntos seleccionados aleatoriamente para determinar la composición química de los mismos y en donde se evidencia la presencia de plata sobre uno de los puntos seleccionados en la superficie. Es factible que cada uno de los puntos claros (casi blancos) observados en la figura 22 sea una o un grupo de nano-partículas de plata, ya que en estas

zonas si está confirmada la presencia de dicho elemento. Además, claramente se pueden observar una gran distribución de formas y tamaños (Dave, Kirti Patel y cols. 2005). En la tabla 8, se muestran los datos sobre la composición química de cada punto estudiado de la superficie de la alúmina con plata soportada por impregnación al 8%.

Tabla 8. Porcentaje en peso de los compuestos químicos presentes en las partículas de Alúmina con Plata soportada (impregnación).

PESO (% p/p)				
Muestra	Na	Al	Cu	Ag
Punto # 1	0.7+/-0.1	71.9+/-0.4	0.8+/-0.2	26.6+/-0.4
Punto # 2	0.0+/-0.0	100.0+/-0.6	---	--

Los datos anteriores demuestran que el contenido de plata en uno de los puntos seleccionados es de 26,64%. Un valor bastante similar a algunos obtenidos por el método de ultrasonido, sin embargo según las imágenes anteriores el método de impregnación muestra regiones mas claras sobre la superficie de las partículas de alúmina; de igual manera, se forman agregados de mayor tamaño debido a la ausencia de un agente protector.

Además se comprobó que utilizando el método de ultrasonido, las nano-partículas de plata se depositan en el interior del soporte más que sobre la superficie del mismo, lo contrario que ocurre al usar la impregnación, donde el soporte se genera mas en la superficie que en el interior del mismo.

IV.4.4. Microscopia de Transmisión (TEM)

Se realizaron microscopías de transmisión a la muestra de Ag/ Al₂O₃, preparada al 8% p/p obteniendo la imagen mostrada en la figura 23.

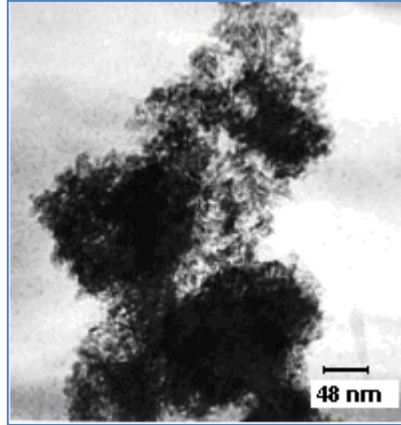


Figura 23. Microscopia de Transmisión (TEM) de Ag dispersa en la alúmina.

Como puede observarse en la figura 23, mediante este método de síntesis se obtienen partículas nanométricas, pero también algunas partículas de mayores tamaños, que pueden alcanzar los 600 nm. Sin embargo, micrografías efectuadas con TEM permitieron observar partículas con tamaños del orden de los 48 nm.

Las micrografías efectuadas con TEM permitieron estimar el diámetro promedio de las partículas metálicas presentes en el soporte, contando la frecuencia de aparición de las partículas de un tamaño determinado, lo que da como resultado el histograma mostrado en la figura 24. El número de partículas contadas por cada micrografía fue del orden de 500, y varias micrografías fueron empleadas en este análisis. Para esta data el diámetro de partículas [d(nm)] puede ser obtenido de la expresión: $d = \frac{\sum n_i d_i^3}{\sum n_i d_i^2}$. Los resultados obtenidos sugieren que el diámetro de partículas está alrededor de 14,4 nm.

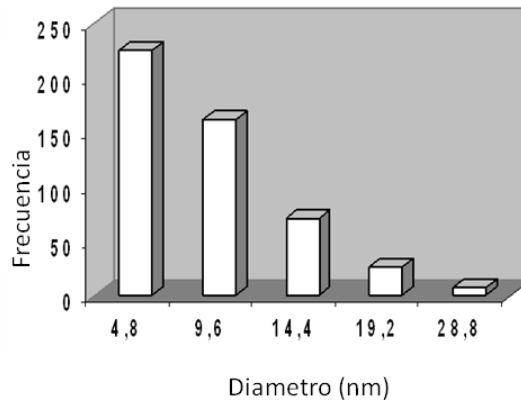


Figura 24. Distribución de los tamaños de partículas en la TEM.

IV.4.5. Determinación del contenido de plata en los sólidos sintetizados

Las muestras en suspensión coloidal presentan un color amarillo-marrón. El sobrenadante obtenido una vez efectuada la centrifugación es transparente, lo que sugiere que posiblemente no se encuentran presentes partículas coloidales de plata en la fase líquida como resultado de la deposición de la plata sobre la alúmina. La temperatura de reacción alcanzada, durante los 60 segundos de irradiación con microondas, fue cercana a los 90 °C, lo cual sería suficiente en este caso para permitir la reducción completa del AgNO_3 . Algunos autores han señalado que generalmente se obtiene una pobre adsorción de la plata sobre la alúmina debido a la presencia de los aditivos empleados para impedir la agregación de las partículas coloidales, como pudiera ser la polivinilpirrolidona (PVP). En concordancia con las observaciones de Sales et al (1998), las partículas de plata primero aparecen en solución antes de su deposición sobre la alúmina, y la presencia de PVP adsorbida sobre las partículas de plata puede disminuir la adhesión de las partículas metálicas sobre el sustrato, lo que pudiera verificarse si se observara alguna coloración en la solución sobrenadante, que indicaría una adsorción incompleta sobre el soporte. Por el contrario, empleando el método de microondas en ausencia de PVP, el análisis químico efectuado al sólido $\text{Ag}/\text{Al}_2\text{O}_3$ indicó que un 91 % de la plata inicialmente añadida quedó depositada en el sólido (Tabla 9). Por otra parte el área superficial específica del sólido preparado fue de

318 m²/g (BET), observándose una disminución del 22% con respecto a la alúmina de partida.

Tabla 9. Análisis químico elemental de la plata soportada sobre γ -alúmina

Metal/substrato	Metal inicialmente añadido (%) PESO	Contenido final del metal (%) PESO
Ag/Alúmina	1	0,91

IV.5. Capacidad bactericida de las nano-partículas de plata soportadas sobre pellets de gamma-alúmina comercial, bajo las metodologías de soporte con ultrasonido e impregnación.

Se emplearon pellets de gamma-alúmina comercial y se le soportaron las nano-partículas de plata, aplicando ultrasonido, posteriormente se colocaron en contacto directo con un volumen de líquido cultivado con bacterias, en donde no se observó efecto alguno sobre los micro-organismos presentes.

Se comprobó por medio de estudios de XPS y DRX la presencia de la plata, sin embargo la inactividad bacterial puede ser atribuida a que las nano-partículas formadas se encontraban en los poros internos de la alúmina y en los espacios intra-partículas más que en su superficie externa, lo que posiblemente impidió el contacto de las nano-partículas de plata con las bacterias.

Esto motivó a plantear una modificación de la metodología de preparación del soporte Ag /Al₂O₃, utilizando a partir de ese momento la impregnación.

Se prepararon pellets de gamma-alúmina comercial con nano-partículas de plata al 1% y 8%, soportadas, utilizando la metodología de impregnación. Dichos pellets fueron colocados en contacto con el medio líquido de cultivo de las bacterias, bajo las mismas condiciones de la prueba anterior. En este caso sólo se observó efecto bactericida con los pellets impregnados al 8% p/p.

Este fenómeno puede atribuirse, a que debido a la alta concentración de plata, una mayor cantidad nano-partículas quedan adheridas en la superficie de la alúmina, estando disponibles para su contacto con los microorganismos, lo que justifica su uso en el sistema de desinfección a escala laboratorio.

IV.6. Resultados de la simulación del proceso de desinfección de las nano-partículas de plata sobre gamma-alúmina en sus distintas configuraciones, en sistemas por carga y continuo, mediante ensayos escala laboratorio

A continuación se muestran los resultados de las pruebas realizadas con el material, en sus distintas formas y configuraciones de sistemas, para determinar su actividad bacteriológica en un agua con las características antes especificadas.

I.V.6.1. Caso 1. Nano-partículas de plata soportadas en polvo de gamma-alúmina comercial, en un sistema por carga, escala laboratorio

Para este ensayo se utilizó un material sintetizado al 8% de plata soportada en gamma-alúmina comercial en polvo, aplicando tres dosis de 10, 50 y 100 mg en un litro de agua y sometido a agitación, en un sistema por carga. Para comparar el efecto de la presencia de material suspendido la aplicación se realizó tanto en agua cruda (tal como fue captada) y en agua filtrada. La tabla 10 muestra los resultados obtenidos.

Tabla 10. Resultados del ensayo de dosificación de nano-partículas soportadas en polvo de gamma alúmina comercial, sistema por carga, escala laboratorio

Densidad de organismos coliformes (ufc/100ml)						
Concentración de nano-partículas soportadas (mg/l)	10		50		100	
	Cruda	Filtrada	Cruda	Filtrada	Cruda	Filtrada
5	> 1 x 10 ³	> 1 x 10 ³	200*	230	30*	0
30	> 1 x 10 ³	> 1 x 10 ³	120*	410	80*	0

Condiciones iniciales: Agua cruda: 1x10⁴ ufc/100 ml. Agua filtrada: 6x10³ ufc/100 ml

* Se desarrollaron incontables colonias atípicas que pudieron interferir en el crecimiento de los organismos coliformes, lo que explicaría una densidad menor en la muestra de agua cruda que en la filtrada. En las muestras filtradas, hubo desarrollo de colonias atípicas pero en menor concentración.

En la tabla anterior se puede observar el efecto prácticamente nulo al aplicar la dosis de 10 mg, mientras que la dosis de 100 mg es efectiva, especialmente en el agua filtrada, donde la remoción es total. Recientemente se ha señalado que las nano-partículas de plata actúan sobre los microorganismos afectando el ADN de la bacteria, generando que éste pierda su capacidad de replicación y se reponga a los continuos ataques; además las proteínas celulares se inactivan ante la presencia de Ag (Salopek-Sondi, 2004). Para que un material sea anti-bacterial debe existir una atracción electrostática entre las células de la bacteria cargadas negativamente y las nano-partículas positivamente.

Las nano-partículas de plata de alguna manera interactúan con la membrana bacteriana provocando cambios y degradaciones en su estructura que originan la muerte de la bacteria (Salopek-Sondi, 2004). Existen casos donde se ha evidenciado en fotografías la incorporación de nano-partículas de plata sobre la membrana de alguna bacteria. Otra explicación de la actividad bacterial, se

relaciona con la permeabilidad de la membrana al estar en contacto con nano-partículas de óxidos metálicos, la cual disminuye (A. Siekkinen, Y. Xia y col, (2007)). Este fenómeno reduce la capacidad de transporte de los nutrientes a través del plasma de la membrana lo que produce la muerte del microorganismo (Salopek-Sondi y cols., 2004).

I.V.6.2. Caso 2. Nano-partículas de plata soportadas en pellets de gamma-alúmina comercial, en un sistema por carga, escala laboratorio

La tabla 11 muestra los resultados de la prueba realizada para determinar la capacidad de remoción de microorganismos de las nano-partículas soportadas en gamma-alúmina en forma de pellets, en muestras de agua filtradas, variando los tiempos de contacto, las dosis aplicadas y el grado de impregnación.

Tabla 11. Resultados del ensayo de dosificación de nano-partículas soportadas en pellets de gamma alúmina comercial, sistema por carga, escala laboratorio.

Densidad de organismos coliformes totales (ufc/ 100 mL)				
Tiempo de contacto (min)	Material	10 pellets	20 pellets	Blanco
	Concentración (%Ag)			
5'	5	$> 1 \times 10^3$	$> 1 \times 10^3$	3×10^3
	8	$> 1 \times 10^3$	$> 1 \times 10^3$	---
30'	5	$3,4 \times 10^2$	$3,0 \times 10$	7×10^3
	8	$2,1 \times 10$	$5,3 \times 10^2$ *	---

* Se formaron puntos negros en la muestra y el número de microorganismos atípicos eran incontables.

Los resultados mostrados en la tabla 11 permiten comprobar que el material en forma de pellets impregnado, utilizado en un sistema por carga no es eficiente, esto puede ser atribuido a que posee menor área de contacto que en el caso del polvo. Sin embargo se aprecia un comportamiento ligeramente mejor al aumentar el número de pellets, la concentración de plata y el tiempo de contacto

IV.6.3. Caso 3. Comparación entre las nano-partículas de plata soportadas en polvo de gamma-alúmina comercial con las soportadas en polvo de gamma-alúmina sintetizada MSM

La tabla 12 muestra los resultados del ensayo por carga, donde fueron comparadas dosis de 50 y 100 mg de nano-partículas de plata soportadas en gamma-alúmina sintética MSN y comercial, con iguales dosis de gamma-alúmina, ambas al 8%.

Tabla 12. Resultados del ensayo de dosificación de nano-partículas soportadas en polvo de gamma alúmina comercial y sintetizada (MSM), sistema por carga, escala laboratorio.

Densidad de organismos coliformes totales (ufc/100 mL)					
Concentración (mg)	50 (8% p/p)		100 (8% p/p)		100 (8% p/p)
Tiempo de contacto (min)	MSM	Comercial	MSM	Comercial	Alúmina
5'	$> 1 \times 10^3$	$1,2 \times 10^3$	$6,6 \times 10^3$	$1,1 \times 10^2$	$1,6 \times 10^4$
30'	$> 1 \times 10^3$	$> 1 \times 10^3$	$> 1 \times 10^3$	$4,2 \times 10^2$	$2,8 \times 10^4$

Blanco Filtrada: 2×10^4 ufc/100 ml

Al observar los datos de la tabla anterior, se aprecia una pequeña diferencia entre la concentración de microorganismos encontrada en el agua tratada con nano-partículas de plata soportadas sobre la gamma-alúmina comercial y el agua tratada con las nano-partículas soportadas con la alúmina sintetizada en el laboratorio (MSM), bajo las condiciones de 100mg del material al 8% y 30 minutos de tiempo de contacto.. Este efecto no es significativo desde el punto de vista de la capacidad desinfectante, pero desde el punto de vista de las características de los materiales, puede ser atribuido a las diferencias en las propiedades texturales de ambas alúminas.

La alúmina sintetizada es una alúmina mesoporosa de alta área superficial, la cual proporciona, además de los espacios intra-partículas, mesoporos de 10 nm donde pueden ser alojadas las partículas manométricas de plata. La alúmina sintetizada posee menor tamaño de partícula que la alúmina comercial, facilitando la deposición de las nano-partículas en los espacios intermoleculares. Considerando que un 43 % de las nano-partículas formadas poseen diámetros de 4,8 nm aproximadamente, es poca la cantidad de plata que quedaría disponible para la desinfección. Es importante resaltar que el diámetro de las bacterias está en el orden de algunos micrones, lo que imposibilita el acceso a los mesoporos de la superficie de la alúmina y también a los espacios intra-partícula (en ambas alúminas), los cuales también están en el orden de los nanómetros, tal y como lo demuestra el estudio de fisisorción. Se ha demostrado que la inhibición del crecimiento de las bacterias depende de la concentración de plata de las nano-partículas, así como de las bacterias a tratar. (A. Siekkinen, Y. Xia y cols, 2007).

Se puede mencionar que empleando la alúmina comercial se obtienen mejores resultados que con la sintetizada, esto se debe, a que la comercial posee un área superficial menor, por lo tanto, posee una menor porosidad. El hecho de poseer una porosidad baja ocasiona que la deposición de las nano-partículas de plata se origine sobre la superficie más que en los espacios intra-partícula, brindando una mayor área de contacto entre las nano-partículas y las bacterias. Los resultados confirman que el efecto de remoción es debido a las nano-partículas de plata, ya que no existe remoción alguna en presencia de la alúmina comercial sin impregnar. Se realizaron análisis de plata residual a las muestras una vez culminada la experiencia, mediante espectroscopia de absorción atómica de llama, para verificar que los niveles de plata en el agua tratada se encuentran dentro de los límites máximos permisibles con respecto a las normativas de agua potable. Dichos estudios presentaron como resultados concentraciones de plata por debajo de 0,1 mg/L. Esto apoya el planteamiento de que el mecanismo de desinfección es por contacto con la plata metálica y no por efecto de los iones de plata en solución.

I.V.6.4. Caso 4. Nano-partículas de plata soportadas en pellets de gamma-alúmina comercial, en un sistema continuo de lecho fijo, escala laboratorio

En la tabla 13 se muestran los resultados del ensayo en el sistema continuo de lecho fijo de 1 cm de diámetro, para tiempos de contacto de 1, 5, 10 y 20 min. Se emplearon dos columnas de lecho fijo rellenas de pellets de gamma-alúmina con nano-partículas de plata al 5% p/p y 8% p/p, soportadas mediante impregnación, completando una altura de 23cm de alto. En esta oportunidad sólo se utilizó agua previamente filtrada.

Tabla 13. Resultados del ensayo de dosificación de nano-partículas soportadas en pellets de gamma alúmina comercial, sistema lecho continuo, escala laboratorio.

Densidad de organismos coliformes totales (ufc/ 100 mL)				
Tiempo de contacto (min)	1	5	10	20
Lecho (%)				
5	1,5x10 ²	1,5x10 ²	2,0x10 ²	> 1 x 10 ³
8	3,3x10	1,0x10 ²	1,6x10 ²	3,1x10 ²

Blanco Filtrada: 3x10³ ufc/100 mL

Se puede observar que en el primer minuto de contacto ocurre alguna remoción de mado por los pellets preparados al 8% de plata por impregnación, pero luego de 5 minutos, este efecto disminuye. Esto se puede atribuir al desprendimiento de las partículas de plata adheridas a la superficie de los pellets por efecto del flujo de agua, por lo que con el tiempo se pierde toda actividad antibacterial, en la medida que se continúa desgastando la superficie.

Al preparar el material antibacterial con pellets de alúmina, se dispone de menor área superficial para la impregnación de las nano-partículas de plata. Por otra parte, se pudo verificar mediante un análisis efectuado por espectroscopia de absorción atómica de llama, que los pellets impregnados con plata 8% p/p,

contenían realmente $0,20 \pm 0,05\%$ p/p Ag. Esto indica, una poca adherencia de las nano-partículas metálicas sobre este tipo de soportes, lo cual incidió negativamente en su actividad antibacterial. A pesar de que las nano-partículas de plata se sintetizaron sin agentes protectores, no se logró que se adhirieran efectivamente a este tipo de soportes.

I.V.6.5. Caso 5. Nano-partículas de plata soportadas en pellets de gamma-alúmina comercial, en un sistema continuo de lecho fijo, escala laboratorio, duplicando la altura del lecho.

En la tabla 14 se muestran los resultados de la remoción de microorganismos en muestras de agua captadas en el efluente de una columna a escala laboratorio, de 50 cm de alto por 1 cm de diámetro, rellena con pellets impregnados al 8%, con alimentación continua, en tiempos de 1, 5, 10, 15, 30 y 60 min.

Tabla 14. Resultados del ensayo de dosificación de nano-partículas soportadas en pellets de gamma alúmina comercial, sistema continuo, escala laboratorio a doble altura.

Densidad de organismos coliformes totales (ufc/ 100 mL)						
Tiempo de contacto (min)	1'	5'	10'	15'	30'	60'
Lecho a doble altura (8% Ag/Alúmina)	1,1x10*3	INC	INC	INC	INC	INC

De esta forma se pudo confirmar que el aumento de la superficie y el tiempo de contacto no produjo remociones significativas como para que pueda ser considerado este medio en un sistema de desinfección de agua potable.

Asimismo, se va perdiendo la actividad en el tiempo, debido al desgaste de la superficie, es decir, el desprendimiento de las nano-partículas en la superficie.

I.V.6.6. Caso 6. Comparación entre las nano-partículas de plata soportadas en gamma-alúmina comercial y el cloro para evaluar su factibilidad técnico-económica

Con finalidad de evaluar la factibilidad técnico-económica de las nano-partículas soportadas sobre alúmina como bactericida, se realizó una comparación de su carácter bactericida con el del cloro, que es el desinfectante más económico y de mayor uso en la actualidad

Tabla 15. Resultados del ensayo de dosificación de nano-partículas soportadas en pellets de gamma alúmina comercial y cloro, sistema continuo, escala laboratorio.

Densidad de organismos coliformes totales (ufc/ 100 mL)					
Tiempo de contacto (min)	Material	10 pellets (peso aprox. p/pellet, 0.0375 g)	100 mg de polvo		Cloro 6 ppm
	Concentración (%Ag/Alúmina)		MSM	Comercial	
5'	5	INC	---	---	---
	8	INC	$6,6 \times 10^3$	$1,1 \times 10^2$	0
30'	5	$3,4 \times 10^2$	---	---	---
	8	$2,1 \times 10$	INC	$4,2 \times 10^2$	0

Blanco Filtrada: 2×10^4 ufc/100 mL

Al observar los datos anteriores se puede notar una gran diferencia en el comportamiento entre los materiales utilizados. Aunque la configuración del material basado en nano-partículas de plata soportadas tiene algún efecto bactericida sobre Escherichia Coli, éste no llega a ser en ninguno de los casos tan efectivo como el cloro, que alcanzó la remoción total de los organismos bacteriales. Esto lo descalifica como posible medio desinfectante, al menos bajo las configuraciones ensayadas en este estudio.

CONCLUSIONES

- Fueron sintetizadas nano-partículas de plata a través del método poliol, en ausencia de agentes protectores (PVP), polímeros o surfactantes, empleando un calentamiento con microondas en 60 segundos
- Fue sintetizado un medio de soporte, identificado como MSN, constituido por alúmina en la fase gamma, con un área superficial de 380 m²/g, mayor que el soporte de alúmina comercial, con una distribución de tamaño de poro unimodal, uniforme y más estrecha que la comercial.
- La preparación de nanopartículas de plata soportadas mediante los métodos ultrasonido e impregnación dieron como resultado contenidos similares de plata, pero en el primero estaban ubicadas en los espacios intrapartícula, mientras que en el segundo se presentaban en la superficie.
- La actividad bactericida prácticamente nula de las nanopartículas de plata soportadas mediante el método de ultrasonido, sugiere que el mecanismo de desinfección es por contacto directo de las bacterias con el elemento metálico sólido, confirmado por la ausencia de iones de plata en solución durante los ensayos.
- La eficiencia bactericida de las nano-partículas de plata disminuye con la presencia de turbiedad en el agua a tratar, así como con la mayor densidad bacteriológica.
- La impregnación de las nano-partículas de plata sobre la gamma-alúmina en polvo resultó más eficiente que en pellets, debido a la mayor área superficial disponible de la primera. En consecuencia, el efecto bactericida del material en polvo también es mayor.

- Las nano-partículas de plata soportadas en gamma-alúmina poseen un efecto bactericida cuando se preparan los materiales a concentraciones cercanas al 8% p/p, sin embargo los resultados obtenidos no cumplen con los requisitos de un buen desinfectante para agua potable, lo que si se logro con la aplicación de cloro.
- A pesar que las referencias consultadas para la realización de este trabajo sugerían la posibilidad del uso de nano-partículas de plata soportadas sobre gamma alúmina como desinfectante alternativo, los resultados obtenidos lo descalifican, al menos bajo las configuraciones ensayadas en este estudio.

RECOMENDACIONES

- Efectuar una optimización de la potencia y el tiempo de reacción, para obtener mejores resultados en la reacción.
- Para disminuir el efecto de aglomeración en las nano-partículas empleando el método poliol, podría optimizarse la concentración del agente donador de iones plata en la reacción
- Trabajar a concentraciones altas de plata para tratamientos bacteriológicos pero realizar estudios de plata residual en rangos menores al 0,05mg/L.
- Estudiar otros tipos de soportes, pudiendo emplear sólidos mesoporosos o no porosos.
- Ensayar otras formas de impregnación o configuración de nano-partículas de plata para evitar su desgaste o desprendimiento de la superficie.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- **Andrew R. Siekkinen, Joseph M. McLellan, Jingyi Chen, Younan Xia (2007)**, *Rapid synthesis of small silver nanocubes by mediating polyol reduction with a trace amount of sodium sulfide or sodium hydrosulfide* Y. Sun and Y. Xia, Science, Vol. 298, 2176-2179 (2007) (A. Siekkinen, Y. Xia y col, (2007))
- **American Water Works Association, A.W.W.A. (2002)**. *Calidad y Tratamiento del Agua*. Editorial Mc Graw-Hill. 1ª Edición. Mexico, D.F. Pág. 728-742.
- **Arboleda V., Jorge (2000)**. *Teoría y práctica de la purificación del agua*. Editorial Mc Graw Hill Interamericana, S.A. Tercera Edición. Santa Fé de Bogotá, Colombia. pag. 633-677.
- **Arnaud, M., Betts, A., Dowling, D., McConnell, M. y Pope, A. (2003)**. *Anti-bacterial silver coatings exhibiting enhanced activity through the addition of platinum*. Surface and coatings technology. Vol. 163-164. 637-640.
- **Balasubramanya, R. H., Nachane, R. P., Varadarajam, P. V. y Vigneshwaran, N. (2006)**. *A novel one-pot "green" synthesis of stable silver nanoparticles using soluble starch*. Carbohydrate Research 341. Pag. 2012-2014.
- **Baquero, F. (2008)**. *Evolutionary Biology of Bacterial and Fungal Pathogens*. Editorial American Society of Microbiology. 1ª Edición. Washington, D.C. Pág. 117-120.

- **Byeon, J., Hwang, J., Park, J. y Yoon, K. (2007).** *Susceptibility constants of Escherichia Coli and Bacillus subtilis to silver and copper nanoparticles.* Science of the Total Environment. Vol. 373. 572-575.
- **Candan, F., Sökmen, M. y Sümer, Z. (2001).** *Disinfection of E. coli by the Ag-TiO₂/UV system: lipidperoxidation.* Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry. Vol. 143. 241-244.
- **Chang-Sik, H., Habib, U. M. y Il, K. (2006).** *Preparation and optical properties of colloidal silver nanoparticles at a high Ag⁺ concentration.* Materials Letters 60. Pag. 1496-1498.
- **Chang, Q., Chen, M., He, H., Qu, J., Yan, L. y Yu, Y. (2007).** *Catalytic sterilization of Escherichia Coli K12 on Ag/Al₂O₃ surface.* Journal of Inorganic Biochemistry 101. Pag. 818-820.
- **Chen, J., McLellan, J. M., Siekkinen, A. y Xia, Y. (2006).** *Rapid synthesis of small silver nanocubes by mediating polyol reduction with a trace amount of sodium sulfide or sodium hydrosulfide.* Chemical Physics Letters N° 432. Pag. 491–496.
- **Chen, W., Lee, J., Liu, Z. y Zhao J. (2005).** *Microwave heated polyol synthesis of carbon nanotubes supported Pt nanoparticles for methanol electrooxidation.* Materials Chemistry and Physics. Vol. 91. 124-129.
- **Chen, Z., Fu, R., Wu, D., Xu, W., Ye, Q. y Zhang, S. (2004).** *Preparation and characterization of antibacterial silver-dispersed activated carbon aerogels.* Carbon. Vol. 42. 3209-3216.

- **Chou, K. y Lai, Y. (2004).** *Effect of polyvinyl pyrrolidone molecular weights on the formation of nanosized silver colloids.* Materials chemistry and physics. Vol.83. N° 1, pag. 84-86.
- **Dave D. P., Kirti Patel, Sudhir, K. y Tulsi, Mukherjee. (2005).** *Synthesis of nanosized silver colloids by microwave dielectric heating.* J. Chem. Sci. Vol. 117, N°1. Pag. 54-57.
- **Díaz, L., Esteban-Cubillo, A., Fernández, A., Moya, J., Pecharromán, C. y Torrecillas, R. (2006).** *Silver nanoparticles supported on α -, η - and δ -alumina.* Journal of the European Ceramic Society. Vol.26. 1-7.
- **Droguett, S. (1972).** *Propiedades de los hidróxidos y oxihidróxidos de aluminio estructuralmente puros.* Chile. Universidad Técnica del Estado. Escuela de Ingenieros Industriales. Escuela de Química.
- **Dubinín, W. (1960).** Chem. Rev., 60. Pag. 235.
- **Fajardo C, Urbina F, Marianis J. (2006).** *Preparación de alúminas modificadas orgánicamente para la remoción de contaminantes en aguas.* Caracas.
- **Geckeler, K., Lee, K., Mohan, Y. y Premkumar, T. (2007).** *Hydrogel networks as nanoreactors: A novel approach to silver nanoparticles for antibacterial applications.* Polymer. Vol. 48. 158-164.
- **Gray, N. F. (1997).** *Calidad del Agua Potable: Problemas y soluciones.* Editorial Acribia. 1ª Edición. Zaragoza, España. Pág. 213-229.

- **Gregg, S. y Sing, K. (1982).** *Adsorption, Surface Area and Porosity*. Segunda edición. Londres. Academic Press. 1-5. pag 92-97, 111-112 y 287.
- **Gregg, S. J. y Sing, K. S. (1991);** *Adsorption, Surface Area and Porosity*; Academic Press, Londres. Pag. 134-137.
- **J.F. Moulder, W.F. Stickle, P.E. Sobol, K.D. Bomben. (1992).** *Handbook of X-Ray Photoelectron Spectroscopy*, Perkin-Elmer, Eden Prairie, MN.
- **Ha, C., Il, K. y Ullah, M. (2006).** *Preparation and optical properties of colloidal silver nanoparticles at a high Ag⁺ concentration*. *Materials Letters*. Vol. 60. 1496–1501.
- **He, J., Ma, W., Tan, S. y Zhao, J. (2005).** *Study on surface modification of ultrafine inorganic antibacterial particles*. *Applied Surface Science*. Vol. 241. 279-286.
- **Jacobs, P. A. (1984).** *The measurement of surface acidity in Characterization of heterogeneous catalysis*. Ed. F. Delannay, M. Dekker, Inc. New York, Pag. 367.
- **Jang, Y. y Park, S. (2003).** *Preparation and characterization of activated carbon fibers supported with silver metal for antibacterial behaviour*. *Journal of Colloid and Interface Science*. Vol. 261. 238-243.
- **Kim, D., Koo, S., Lee, J., Lee, Y., Oh, C. y Oh, S. (2007).** *Facile and novel route for preparation of silica/silver heterogeneous composite particles with hollow structure*. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*. Vol. 301. 48-54.

- **Kiwi, J., Laub, D., Mathieu, H., Pulgarin, C., Rincon, A., Xantopoulos, N. y Yuranova, T. (2006).** *Performance and characterization of Ag-cotton and Ag/TiO₂ loaded textiles during the abatement of E. Coli.* Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry. Vol. 181. 363-369.
- **Kottmann JP, Martin O J F, Smith D R y Schultz S. (2000).** *Dramatic localized electromagnetic enhancement in plasmon resonant nanowires.* New J. Phys. 2
- **Matsumoto, K., Miyamae, N., Nishizawa, Y., Tsuji, M., Tsuji, T. y Zhang, X. (2007).** *Rapid synthesis of silver nanostructures by using microwave-polyol method with the assistance of Pt seeds and polyvinylpyrrolidone.* Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects. Vol. 293. 185-194.
- **Murali Mohan, Y., Lee, K., Prekumar, T., Geckeler, K. E., (2007).** Polymer 48,159-164.
- **Olivier, J. P. (1995).** Porous Mat., 2. Pag. 9.
- **Papirer, E., Lacroix, R., Donnet, J. B., Nanse, G., Fioux, P., (1994).** Carbon 32, 7, 1341.
- **Pal, S., Song, J. y Tak, Y. (2007).** *Does the Antibacterial Activity of Silver Nanoparticles Depend on the Shape of the Nanoparticle? A Study of the Gram-Negative Bacterium Escherichia coli.* Applied and environmental microbiology. Vol. 73, No. 6. 1712–1720.

- **Pilate, André (2007).** *Process for manufacture of silver-based particles and electrical contact materials.* Umicore - Patent Department, Kasteelstraat. Publicación N° WO/2007/112926. (www.wipo.int).
- **E. A. Sales, B. Benhamida, V. Caizergues, J. P. Lagier, F. Fievet, F. Bozon Verduraz. (1998),** Appl. Catal. A: Gen. 2. Pag 172
- **Salopek-Sondi, Banka y Sondi, Ivan (2004).** *Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on E. Coli as a model for Gram-negative bacteria.* Journal of Colloidal and interface Science. Vol. 275. 177-182.
- **Tampo, Deborah. (2004).** *Aguas Envasadas.* Editorial Limusa, S.A. de C.V. Grupo Noriega Editores. México, D.F. Pág.5.
- **Tortora, G. J. (2007).** *Introducción a la Microbiología.* Editorial Panamericana. 9º Edición. Bogotá, D.C., Colombia. Pág. 357-364.
- **Tian, X. Wang, X G. Cao. (2007).** *Materials Letters* 61. Pág. 130-133

REFERENCIAS WEB

<http://www.mtas.es/insht/ipcsnspn/nspn0360.htm>. Rev. 2 de Febrero de 2008

<http://www.mtas.es/insht/ipcsnspn/nspn0270.htm>. Rev. 2 de Febrero de 2008

<http://www.mtas.es/insht/ipcsnspn/nspn1116.htm>. Rev. 2 de Febrero de 2008

<http://www.mtas.es/insht/ipcsnspn/nspn0865.htm>. Rev. 2 de Febrero de 2008

<http://www.mtas.es/insht/ipcsnspn/nspn0183.htm>. Rev.2 de Febrero de 2008

http://www.who.int/water_sanitation_health/mdg1/es/. Revisado 12 de abril de 2008

http://www.espectrometria.com/espectrometra_ultravioleta-visible).Rev.1 de noviembre de 2008

ANEXOS

A continuación se resumen una serie de experimentos y estudios realizados por diversos investigadores a lo largo del mundo, que de alguna manera están relacionados con el TEG que se desarrolla.

Jang y Park (2003), sintetizaron un material antibacterial, compuesto de plata soportada en fibras de carbón activado (ACF) con la finalidad de eliminar bacterias en aguas contaminadas. Los autores hacen referencia a que las ACF han sido empleadas en el tratamiento de aguas de desecho, debido a su alta área superficial específica y elevada tasa de adsorción y la actividad antibacterial que presentan los iones plata sobre algunos microbios. La experiencia efectuada permitió evaluar la actividad antibacterial del material en aguas contaminadas con dos tipos de bacterias, *Escherichia Coli* y *Staphylococcus aureus*, ambas cultivadas en el laboratorio. Para ello fue necesaria la preparación del material (Ag/ACF).

Esta metodología consistió en impregnar las ACF en soluciones de nitrato de plata a diferentes concentraciones de Ag (0, 0.1 y 1 %) con agitación continua durante 48 horas, a fin de lograr la deposición de los iones plata en la superficie de las ACF. Las fibras fueron lavadas con agua destilada y finalmente secadas a 85° C por 24 horas. Estos estudios concluyeron que la dispersión de la plata sobre la superficie del carbón fue bastante uniforme, llenando todos los poros o espacios vacíos de la estructura original de manera regular. Para comprobar la efectiva calidad antibacterial del material, colocaron las muestras de aproximadamente 0.2 g de ACF/Ag en columnas (200 mm de largo, 30 mm de diámetro) haciendo circular un flujo de agua contaminada a una tasa de 2 L/min.

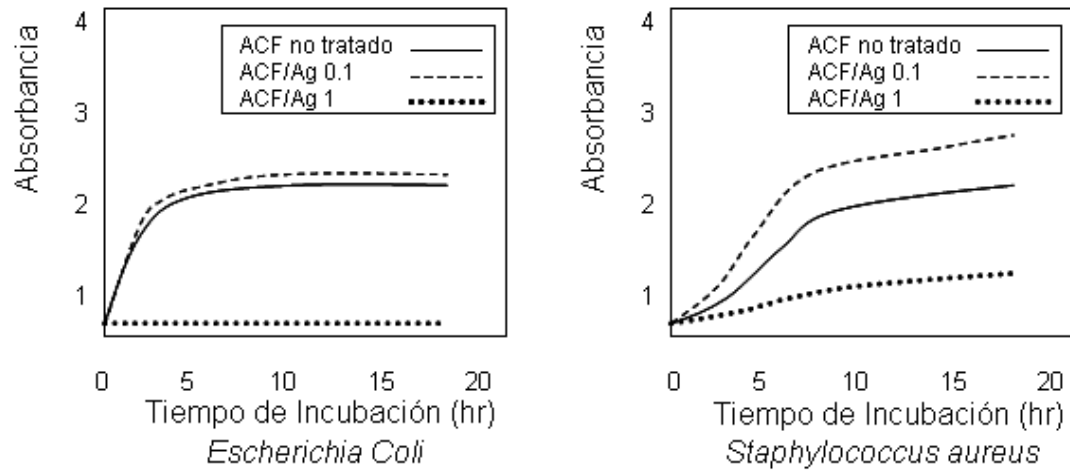


Figura 1. Inhibición del crecimiento de las bacterias por efecto del material ACF/Ag.

Los resultados obtenidos (Figura 1), permitieron concluir que el material sintetizado con la mayor concentración de plata fue el que presentó un mayor nivel de inhibición en el crecimiento de ambas bacterias, ya que al aumentar la concentración de AgNO_3 , el contenido de plata en la superficie del carbón aumenta, promoviendo así su carácter antibacterial. Se observa que a bajas concentraciones de plata las bacterias no se ven afectadas sino que se benefician, es decir, crecen, esto se debe a que muchos metales son microscópicamente nutritivos en bajas concentraciones ya que los agentes bactericidas no son capaces de atacar de forma eficiente las paredes protectoras de las bacterias o microorganismos.

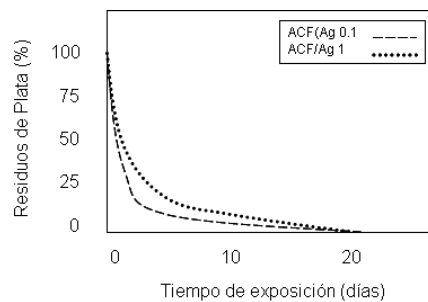


Figura 2. Pérdida de Plata en función al tiempo de exposición del ACF/Ag en flujo de agua.

Por otra parte **Jang , Park y col** (2003), determinaron la resistencia mecánica del material evaluando el proceso de erosión producido por los efectos del flujo de agua en la columna (Figura 2), midiendo el contenido de plata residual en el material. El soporte con mayor contenido de plata resistió mejor la acción erosiva del agua. Esto fue atribuido a las características de la superficie del sólido, siendo en este caso más lisa y homogénea, lo que disminuye la erosión en comparación a una superficie rugosa e irregular.

Chen, W. y Liu, Z; junto a su grupo de trabajo (2005), sintetizaron nanopartículas de platino dispersas sobre nanotubos de carbón empleando el proceso poliol con calentamiento por microondas. Los investigadores se basaron en los estudios de síntesis de nanopartículas con dispersión uniforme sobre soportes de carbón como materiales electro-catalíticos. El proceso poliol, ha sido ampliamente utilizado para preparar partículas metálicas coloidales. En la experiencia se prepararon los nanotubos de carbón (CNTs) por medio de una deposición química de vapor catalítico, obteniendo bastoncillos de carbón con diámetros de 30 a 50 nm. Los catalizadores de platino (Pt) soportados en CNTs se obtuvieron calentando (en un horno de microondas casero) la solución de etilenglicol con el compuesto de platino al que previamente se le había mezclado los CNTs. El calentamiento se realizó por 50 segundos con una potencia de 700W. Luego de esto, la solución fue filtrada y secada. Los científicos realizaron pruebas comparativas de electro-oxidación de metanol entre el catalizador sintetizado (Pt/CNTs) y un catalizador comercial compuesto de platino. Los resultados obtenidos, les permitieron concluir que el catalizador de Pt/CNTs sintetizado en el horno microondas exhibía una mayor actividad catalítica que el catalizador comercial, esto fue atribuido a la utilización de las nanopartículas de platino, ya que se logró incorporar al soporte un mayor número de partículas con una dispersión homogénea en toda su superficie. Por otra parte se demostró que el proceso poliol con calentamiento por microondas es efectivo para preparar nanopartículas metálicas soportadas en superficies de carbón. También se menciona la simplicidad, rapidez y eficiencia del proceso empleado.

Arnaud, M., Dowling, D. y col. (2003), investigaron las propiedades antibacteriales de cubrimientos a base de plata y plata / platino sobre hojas de poliuretano y silicón. El método de síntesis propuesto permitió depositar el metal sobre el sustrato a una temperatura de 70° C en comparación a los 200-300° C que se necesitan por los métodos convencionales. Los recubrimientos de plata y plata/platino fueron preparados sobre láminas de polímero de 1 cm² y 5-9 nm de espesor, las cuales se colocaron en distintos platos dónde se incubaron suspensiones bacteriales de *Staphylococcus dermidis* (9,8x10⁴ CFU (Unidades Formadoras de Colonias/ml). Las muestras permanecieron en reposo a 35-37° C, bajo agitación continua por un periodo de 24 horas. Después de la agitación, las muestras de aerogel se retiraron y las colonias de bacterias se contabilizaron. Los resultados obtenidos en la experiencia se muestran en la tabla N° 1, donde se evidencia que la adición de 1% de platino aumenta los efectos antibacteriales de los cubrimientos. Los resultados obtenidos demostraron que los cubrimientos de plata y plata/platino depositados sobre polímeros de silicón y poliuretano, poseen alta actividad antibacteriana. Entre ambos cubrimientos utilizados, el más eficiente fue la combinación plata/platino, alcanzando los más altos niveles de reducción bacteriana.

Tabla 1. Comparación entre cubrimientos de plata y plata/platino sobre poliuretano.

Referencia de la muestra	Tiempo de deposición (s)	Grosor de película (nm)	Reducción bacteriana
Sin adición de Pt			
AT1273	5	6	1,27
AT1272	10	7	1,23
AT1271	30	12	1,82
Con adición de Pt (1%)			
AT1276	5	6	2,08
AT1275	10	7	2,93
AT1277	20	10	3,57

He, J. y otros investigadores (2005), realizaron modificaciones en la superficie de las partículas de antibacteriales inorgánicos (UIAP) a base de plata, empleando titanio y aluminio como agentes modificadores con la finalidad de atacar problemas de polución microbiana, siendo objeto de estudio el efecto que producen dichas partículas sobre las colonias de bacterias. En la experiencia los investigadores utilizaron partículas antibacteriales inorgánicas ultra-finas de aproximadamente 0.5 μm de tamaño de partícula, a las que se le modificó la superficie mezclándolas con titanio y aluminio. Se emplearon dos metodologías para la modificación de la superficie del sustrato, la primera basada en una mezcla en seco a alta velocidad y la segunda, una mezcla por dilución. Una vez generada la superficie modificada por ambos métodos, se realizó la caracterización de los soportes con el fin de determinar las nuevas propiedades mecánicas y antibacteriales. Los análisis efectuados concluyeron que las UIAP (con o sin modificaciones en su estructura) poseen una gran capacidad antibacterial sobre algunas especies de bacterias a concentraciones bajas, especialmente hacia una de las bacterias de Gram (*Escherichia Coli*) y algunos hongos (Tabla 2). Los resultados obtenidos determinaron que la modificación de la superficie del material no provocó alteración alguna de la capacidad antibacterial del mismo (Tabla 3). El estudio también concluyó que el método basado en la dilución fue más efectivo que la mezcla en seco para modificar la superficie del sólido, debido a que éste presentó una mejor dispersión y adhesión interfacial entre los compuestos.

Tabla 2. Capacidad antibacterial de las UIAP con superficies modificadas.

Bacteria	Concentración de la muestra (cfu/ml) (cfu: unidades formadoras de colonia)	Tasa de mortandad de bacterias después de 24 h (%)
<i>Escherichia Coli</i>	6.9×10^5	99.48
<i>Staphylococci</i>	5.4×10^5	99.25
<i>Pyocyanic</i>	4.2×10^5	99.71
<i>Bacterium typhosum</i>	5.3×10^5	96.34
<i>Pneumobacillus</i>	4.8×10^5	92.67

Tabla 3. Concentración Mínima de Inhibición (MIC) en la superficie modificada y sin modificar de UIAP.

Bacteria	MIC(ppm)	
	Sup. no Modificada	Sup. Modificada
<i>Escherichia Coli</i>	100	100
<i>Staphylococci</i>	125	125
<i>Pyocyanic</i>	200	200
<i>Hemolytic streptococcus</i>	200	200
<i>Candida albicans</i>	200	200
<i>Bacillus subtilis</i>	400	400
<i>Bacillus foecalis alkaligenes</i>	250	250
<i>Bacillus aerogenes</i>	250	250
<i>Bacterium typhosum</i>	250	250

He, J. y cols. (2005).

Kiwi y cols. (2006), investigaron la fijación de partículas de plata en textiles de algodón (Ag-Algodón), con el fin de producir vendajes de alta calidad antibacterial para prevenir el crecimiento microbiano y la contaminación en heridas. Para ello el grupo realizó modificaciones en la superficie del textil por

medio de la deposición de partículas de plata. La figura 8 muestra de forma esquemática el proceso utilizado para unir la plata con el algodón. Dicho material fue caracterizado para determinar su nueva configuración estructural y propiedades. Se investigó la eficiencia antibacterial en cepas de *Escherichia Coli* *k12*, bajo condiciones aeróbicas. Al alcanzar una fase estacionaria de crecimiento, las células bacterianas fueron recolectadas por centrifugación a 500 x g por 10 min. a 4° C.

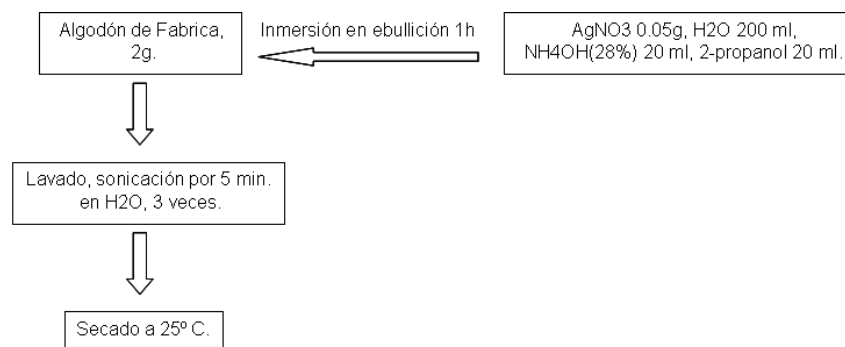


Figura 3. Esquema de la preparación de textiles de Algodón con nanopartículas de Plata.

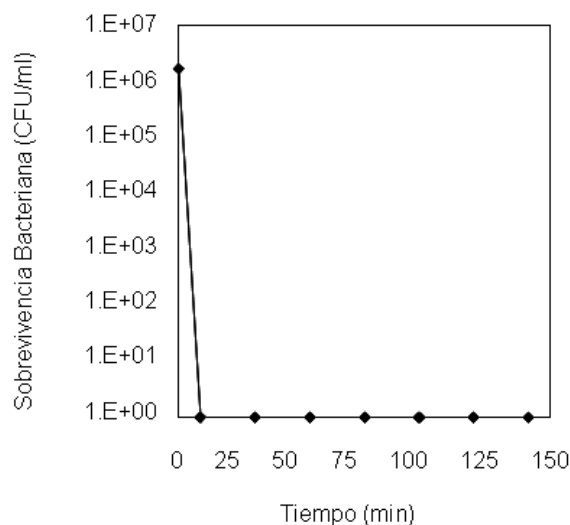


Figura 4. Sobrevivencia bacteriana de *E. Coli* en contacto con un material híbrido Ag-Algodón.

Las colonias de bacterias fueron colectadas en “pilas” de aproximadamente 10^5 a 10^6 individuos por colonia por mililitro de solución (CFU/ml). Dichas muestras se colocaron posteriormente en platos donde se realizaron las pruebas de la investigación. Al analizar los resultados obtenidos (Figura 9), concluyeron que las nanopartículas de Ag poseían tamaños entre 2 y 12 nm de diámetro, presentando una alta eficiencia antibacteriana, logrando eliminar una colonia de *E. Coli* de 10^6 individuos en 3 min., esto fue atribuido a que la estructura del algodón presenta un gran número de espacios vacíos, los cuales se “llenan” de las nanopartículas metálicas de diferentes tamaños, aportando una alta actividad antimicrobiana.

Kim, D et al. (2007), diseñaron un método para inmovilizar nanopartículas de plata sobre una superficie de sílice empleando el proceso poliol, con la finalidad de mejorar las propiedades físicas, la densidad y el área de superficie específica por unidad de masa de las partículas heterogéneas compuestas. Estos investigadores llevaron a cabo el método usando una emulsión de agua en aceite (W/O) y posteriormente el proceso poliol.

Primero sintetizaron las partículas de sílice, con una reacción entre la emulsión (W/O) y el 3-mercaptopropiltrimetosilanina. La superficie de la sílice se sometió a la acción de grupos tiol, ya que estos interactúan con los iones de plata mediante la escisión de los enlaces S-H formando espontáneamente enlaces Ag-S. Finalmente, se formó la “capa” de plata sobre la sílice sometida al tiol por medio del proceso poliol, reduciendo los iones de Ag^+ a Ag^0 (metálica) por efecto del etilenglicol. Este nuevo material sintetizado, sílice/plata, fue caracterizado con la finalidad de conocer sus propiedades morfológicas y su composición química, empleando para ello un microscopio de electrones y un rayos X de energía dispersiva. Estas pruebas concluyeron que las nanopartículas de plata poseían un diámetro de aproximadamente 50 nm, presentando además una inmovilización homogénea sobre la sílice. Los autores destacaron también la facilidad y economía que ofrece este método con el cual se podrían diseñar nuevos materiales compuestos con innumerables aplicaciones.

Hwang, J. y cols. (2007), estudiaron la constante de susceptibilidad de colonias de *Escherichia Coli* y *Bacillus subtilis* ante nanopartículas de plata y cobre, con la finalidad de estimar las actividades antimicrobianas de dichos metales. La constante de susceptibilidad Z (mL/ μ g), fue definida de la siguiente manera:

$$Z = -\ln(N/N_0)/C \quad \text{Ec.1}$$

Donde; **N**: Número de organismos luego de estar en contacto con el desinfectante (CFUs).

N₀: Número inicial de organismos (CFUs).

C: Concentración de nanopartículas (μ g/mL).

Los autores determinaron que usando un valor de Z y un valor de C , el término (N/N_0) (fracción sobreviviente) podía ser predecido. Altos valores de Z significan que la bacteria es muy susceptible a las nanopartículas, concluyendo que dichas nanopartículas poseen una efectiva actividad antimicrobiana (Tabla 5). Para la experiencia, se cultivaron aproximadamente 200 CFUs de *E. Coli* y *B. subtilis*, en diferentes platos de cultivo. Luego a estos platos se les añadieron distintas concentraciones de nanopartículas de 10 a 100 μ g/mL, tanto de cobre como de plata, conservando un plato de cada bacteria libre de nanopartículas como control. Luego de 24 horas se contaron las colonias y se analizaron los resultados, concluyendo que la fracción sobreviviente de bacterias (N/N_0) decrece con el incremento de la concentración de las nanopartículas.

Tabla 4. Concentración de nanopartículas requeridas para alcanzar una eficiencia antimicrobiana de 90%.

	Nanopartículas			
	Plata		Cobre	
Bacteria	<i>E. Coli</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>E. Coli</i>	<i>B. subtilis</i>
C ₉₀ (µg/mL) Experimental	58.41	32.12	33.49	28.20
C ₉₀ (µg/mL) Calculado	97.57	37.02	40.11	31.37
%error	67.04	15.26	19.77	11.24

Hwang, J. y cols. (2007).

La *E. Coli* y el *B. subtilis* fueron completamente destruidos usando concentraciones mayores a 70 µg/mL y 60 µg/mL de nanopartículas de plata y cobre respectivamente. Los valores de Z calculados para la *E. Coli* y el *B. subtilis* demostraron que este último es más susceptible a las nanopartículas, siendo mas resistente la *E. Coli*. Una posible explicación es que la membrana de esta bacteria está formada por moléculas lipopolisacaridas (LPS) fuertemente empacadas, lo que genera una barrera efectiva y resistente ante la acción de las nanopartículas. Con este estudio los investigadores validaron el uso de constantes de susceptibilidad con la finalidad de determinar las concentraciones de nanopartículas requeridas para mejorar la eficiencia antibacterial.

Seguidamente las tablas 5 y 6, muestran los equipos y compuestos químicos empleados en la realización del TEG, respectivamente.

Tabla N°5. Equipos y materiales a utilizar en la realización del TEG.


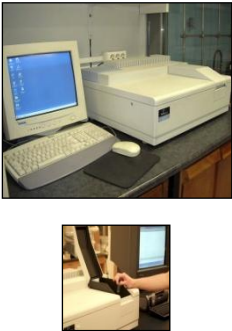

Equipo	Modelo/Marca	Ubicación	Especificaciones
<p>Microscopio Electrónico de Barrido</p> 	<p>S-2400 (Hitachi). Thermo Electrón Corporation. Noran systems SIX</p>	<p>Centro de Microscopia Electrónica. Facultad de Ingeniería. UCV</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Resolución: 4.0 nm. - Magnificación: 20x (WD = 35 mm) - 300,000x. - Tamaño máximo de muestra: 150mm.
<p>Espectrometro UV-Visible</p> 	<p>Lambda 35 (Perkin-Elmer)</p>	<p>Laboratorio de Fotoquímica. Edificio de Química Aplicada. Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas. IVIC</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Rango: 190 – 1100 nm. - Ancho de Banda (variable): 0.5 – 4 nm. - Longitud de onda programable.
<p>Balanza analítica</p> 	<p>V12140 (Ohaus)</p>	<p>Laboratorio de Refinación. Escuela de Ingeniería Química. Fac. Ingeniería. UCV</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Capacidad: 210g. - Sensibilidad: 0.0001 g. - Unidades de pesaje: mg, g, ct, oz, unidad personalizada.

Tabla N°5. Equipos y materiales a utilizar en la realización del TEG
(continuación)





Equipo	Modelo/Marca	Ubicación	Especificaciones
Ultrasonido 	50/60 (Branson Ultrasonic Cleaner, a SmithKline company).	Laboratorio de Refinación. Escuela de Ingeniería Química. Fac. Ingeniería. UCV	- 117V. - 50/60 Hz. - 80 watts.
Plancha de agitación 	Spin-Master (& hot plate) N° 4803. (Cole-Parmer Instrument Co).	Laboratorio de Refinación. Escuela de Ingeniería Química. Fac. Ingeniería. UCV	- Velocidad regulable. - 115V. - 60Hz. - 4 Amp.
Horno Microondas 	Invertir (Panasonic)	Laboratorio de Refinación. Escuela de Ingeniería Química. Fac. Ingeniería. UCV	- Capacidad: 27 litros. - Potencia: 1000W (regulable).
Material de vidrio y laboratorio 	(varios)	Laboratorio de Refinación. Escuela de Ingeniería Química. Fac. Ingeniería. UCV	- Beakers, 250ml. - Cilindros graduados, 20ml. - Vidrios de reloj. - Viales (dif. tamaños). - Espátulas, agitadores, gotero.

Tabla N° 6. Propiedades de los reactivos a emplear en la realización del TEG.








Compuesto	Formula Química	Masa Molc.	Estado Físico	Limites de Exposición	Propiedades Físicas	Etiqueta (rotulo)
Hidróxido de Sodio	NaOH	40.0	Sólido blanco e inodoro	<ul style="list-style-type: none"> - TLV: 2 mg/m³ (valor techo) (ACGIH 1992-1993). - PDK no estab. - MAK: clase G. 	<ul style="list-style-type: none"> - Pto. eb: 1390°C. - Pto. fus: 318°C. - Dens. Relativa. (agua = 1): 2.1. - Solub. en agua (g/100 ml a 20°C): 109. - Pres. vap. (kPa a 739°C): 0.13. 	
Etilenglicol	CH ₂ OH-CH ₂ OH	62.1	Líquido incoloro, inodoro, viscoso e hidroscópico	<ul style="list-style-type: none"> - TLV (valor techo): 50 ppm; 127 mg/m³. (ACGIH 1993-1994). 	<ul style="list-style-type: none"> - Pto. eb: 198°C. - Pto. fus: -13°C. - Dens. Relativa. (agua = 1): 1.1. - Solub. en agua: Miscible. - Pres. vap. (Pa a 20°C): 7. - Pto. inflam: 111°C (c.c.). - Límites de explosividad, % en volumen en el aire: 3.2-15.3. 	

Tabla N° 6. Propiedades de los compuestos a emplear durante la realización del TEG (continuación).

Compuesto	Formula Química	Masa Molc.	Estado Físico	Limites de Exposición	Propiedades Físicas	Etiqueta (rotulo)
Nitrato de Plata	AgNO ₃	169.9	Cristales, incoloros o blancos, inodoros.	- TLV (como TWA): 0.01 mg/m ³ . (como Ag) (ACGIH 1995-1996). - MAK: no estab.	Se descompone por debajo del punto de ebullición a 444°C. Pto. fus: 212 °C. Dens. Relativa. (agua=1): 4.3 a 19°C. - Solub. en agua: Muy elevada.	  
Acido Nítrico	HNO ₃	63.0	Líquido entre incoloro y amarillo, de olor acre.	- TLV (como TWA): 2 ppm; 5.2 mg/m ³ . (ACGIH 1993-1994). - TLV (como STEL): 4 ppm; 10 mg/m ³ . (ACGIH 1993-1994).	- Pto. eb: 121°C. - Pto. fus: -41.6°C. - Dens. Relativa. (agua = 1): 1.4. - Solub. en agua: Miscible - Pres. vap. (kPa a 20°C): 6.4.	 
Glucosa	C ₆ H ₁₂ O ₆	180.16	Polvo blanco, con sabor dulce.	- TLV no establecido. - MAK no establecido.	- Pto. fus: 146°C. - Dens. Relativa. (agua = 1): 1.56. - Solub. en agua: Soluble.	

