

S.E.P.

S.E.S.

Tec.N.M.

INSTITUTO TECNOLÓGICO DE TOLUCA

ACTIVIDAD MICROBICIDA DE LA CLINOPTILOLITA MODIFICADA CON PLATA O COBRE FRENTE A UN CONSORCIO MICROBIANO (COLIFORMES Y LEVADURAS) EN PRESENCIA DE COMPONENTES ORGÁNICOS ASOCIADOS AL AGUA RESIDUAL MUNICIPAL

TÉSIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE: DOCTOR EN CIENCIAS AMBIENTALES

P R E S E N T A: M. en C. LUIS GERARDO ROSSAINZ CASTRO No. DE CONTROL: 0128D1745

> DIRECTOR: DR. ISAÍAS DE LA ROSA GÓMEZ

CODIRECTOR: DRA. MARÍA TERESA OLGUÍN GUTIÉRREZ

METEPEC, ESTADO DE MÉXICO, AGOSTO DE 2017





TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO Instituto Tecnológico de Toluca

"Año del Centenario de la Promulgación de la Constitución Política de los Estados Unidos Mexicanos"

Metepec, Méx., 27/junio/2017

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

DEPI-395-1139/2017

DR. JOSÉ LUIS GARCÍA RIVAS JEFE DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN P R E S E N T E.

Por este medio comunicamos a usted que la Comisión Revisora designada para analizar la tesis denominada "ACTIVIDAD MICROBICIDA DE LA CLINOPTILOLITA MODIFICADA CON PLATA O COBRE FRENTE A UN CONSORCIO MICROBIANO (COLIFORMES Y LEVADURAS) EN PRESENCIA DE COMPONENTES ORGÁNICOS ASOCIADOS AL AGUA RESIDUAL MUNICIPAL", que como parte de los requisitos para obtener el grado académico de Doctor en Ciencias Ambientales presenta el C. LUIS GERARDO ROSSAINZ CASTRO, con número de control 0128D1745 para sustentar el acto de Recepción Profesional, ha dictaminado que dicho trabajo reúne las características de contenido y calidad necesarios para proceder a la impresión del mismo.



DR. ISAÍAS DE LA ROSA GÓMEZ DIRECTOR DE TESIS

HE GUTIÉRREZ DRA. MARÍ TFRF OI CO DIRECTORA DE TESIS

DRA. CRISTINA BURROLA AGUILAR REVISORA DRA. CLAUDIA ROSARIO MURO URISTA

RA. CLAUDIA ROSARIO MURO URISTA REVISORA

DRA. MARÍA DEL CARMEN DÍAZ NAVA REVISORA

DR. ALFREDO GÁRCÍA MENDIETA REVISOR SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO STITUTO TECNOLÓGICO DE TOLUCA SIVISIÓN DE ESTUDIOS DE



Av. Tecnológico S/N, Col. Agrícola Bellavista, C.P. 52149, Metepec, Estado de México. Tels. Dirección (01722) 208 7205, Subd. Académica 208 7207, Subd. de Planeación 208 7206, Subd. Administrativa 208 7208, Conmut. 208 72 00 e-mail: info@toluca.tecnm.mx, www.toluca.tecnm.mx







"Año del Centenario de la Promulgación de la Constitución Política de los Estados Unidos Mexicanos"

Metepec, Méx., 07/Julio/2017

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

DEPI-395-1236/2016

C. LUIS GERARDO ROSSAINZ CASTRO CANDIDATO AL GRADO DE DOCTOR EN CIENCIAS AMBIENTALES P R E S E N T E

De acuerdo con el Reglamento de Titulación del Sistema Nacional de Educación Superior Tecnológica dependiente de la Subsecretaría de Educación Superior de la Secretaría de Educación Pública y habiendo cumplido con todas las indicaciones que la Comisión Revisora realizó con respecto a su trabajo de Tesis titulado "ACTIVIDAD MICROBICIDA DE LA CLINOPTILOLITA MODIFICADA CON PLATA O COBRE FRENTE A UN CONSORCIO MICROBIANO (COLIFORMES Y LEVADURAS) EN PRESENCIA DE COMPONENTES ORGÁNICOS ASOCIADOS AL AGUA RESIDUAL MUNICIPAL", la División de Estudios de Posgrado e Investigación concede autorización para que proceda a la impresión del mismo.

Sin más por el momento, quedo de usted.

ATENTAMENTE Educación, integridad y ciencia SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA TECNOLÓGICO NACIONAL

DR. JOSÉ LUIS GARCÍA RIVASION DE ESTUDIOS DE TOLUCA JEFE DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

JLGR/dhg



Av. Tecnológico S/N, Col. Agrícola Bellavista, C.P. 52149, Metepec, Estado de México. Tels. Dirección (01722) 208 7205, Subd. Académica 208 7207, Subd. de Planeación 208 7206, Subd. Administrativa 208 7208, Conmut. 208 72 00 e-mail: info@toluca.tecnm.mx, www.toluca.tecnm.mx



A **mí madre Amalía Castro Valdes,** porque has sído el ejemplo que me ha permítido seguir adelante, porque sín tu apoyo y confíanza no estaría hoy aquí. Porque me has enseñado que los retos se toman de frente y que con esfuerzo nada te puede detener.

A **mí padre Gerardo Rene Rossaínz de Pablo** porque me enseñaste a soñar y pensar en grande a no conformarme, a luchar por lo que creo y más importante, me enseñaste que para lograr las cosas hay que hacerlas sin miedo.

A mí abuelo Luís Castro Reyes por enseñarme que la paciencia es una virtud que nos ayuda a lograr nuestras metas, enseñarme a creer en mís ideas, pero siempre escuchar las de los demás.

A ti que estas leyendo este trabajo te digo que cuanto más difícil sea la meta mayor será la satisfacción al alcanzarla. Así que nunca te rindas, lucha, esfuérzate y sobre todo confía en tí.

AGRADECIMIENTOS

Al **Instituto Tecnológico de Toluca** por la formación recibida y las instalaciones brindadas para hacer posible esta investigación.

Al **Laboratorio de Investigación en Ingeniería Ambiental** por todas las facilidades brindadas para poder realizar la investigación.

Al **Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares** por las instalaciones y análisis realizados.

Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología** por la beca otorgada para realizar los estudios de posgrado.

Al proyecto CONACyT número 254665 por los fondos destinados para la investigación.

Al proyecto DGEST número 5443.14-P por los fondos aportados para la investigación.

A la **Compañía Operadora de Ecosistemas (ECOSYS)** por la información brindada y las facilidades dadas para la toma de muestras.

Al **Dr. Isaías de la Rosa Gómez** por sus enseñanzas, su apoyo, su ejemplo y su incansable espíritu, digno de ser emulado.

A la **Dra. Maria Teresa Olguín Gutierrez** por compartir conmigo su conocimiento, sus acertados comentarios que pulieron este trabajo y por su guía que siempre supo llevarme por el camino correcto de la investigación.

A la Dra. Claudia Rosario Muro Urista, Dra. Cristina Burrola Aguilar, Dra. María del Carmen Díaz Nava y Dr. Alfredo García Mendieta por el tiempo dedicado a la revisión de esta investigación y los comentarios vertidos que permitieron su mejora.

A la **Dra. María Sonia Mireya Martínez Gallegos** por sus enseñanzas y apoyo en técnicas de análisis instrumental.

Al **M. en C. Víctor Enrique Gonzaga Galena** por su apoyo y consejos que permitieron sortear los obstáculos encontrados. Pero aún más importante por su amistad.

A la I.Q. Martha Manjarrez Olvera y la Q.F.B. Maribel Verónica Albiter López por el gran apoyo tanto material y humano, así como la amistad brindada a un servidor en todo momento.

RESUMEN

Una zeolita natural del Estado de Chihuahua se modificó con iones plata o iones cobre, para evaluar el efecto que tienen como agente microbicida estos materiales zeolíticos (ZAg o ZCu), frente a Escherichia coli (E. coli), Candida albicans (C. albicans) o un consorcio microbiano (E. coli y C. albicans), en presencia de compuestos asociados al agua residual de origen municipal, encontrados en el efluente de una planta de tratamiento del Valle de Toluca. Para ello, la zeolita natural se modificó con soluciones de sales de plata o cobre a reflujo. La caracterización de los materiales se realizó mediante Microscopía Electrónica de Barrido, Espectroscopia de Energía Dispersiva de Rayos-X y Difracción de Rayos-X. Se verificó la concentración de Ag y Cu en los materiales zeolíticos mediante Análisis por Activación Neutrónica. La concentración de los compuestos orgánicos propuestos se determinó en el efluente de una planta de tratamiento por espectroscopia de UV/VIS y cromatografía de líquidos de alta presión. Para evaluar el efecto microbicida, la E. coli, la C. albicans o un consorcio microbiano de ambas, se suspendieron en solución acuosa y se pusieron en contacto con los materiales zeolíticos (ZAg y ZCu) ya sea en un sistema en lote o en uno, en flujo semi-continuo. Simultáneamente al proceso de desinfección, se consideró la desorción de los iones Ag⁺ o Cu²⁺ de las zeolitas modificadas. Los datos experimentales de la desinfección se ajustaron a los modelos de Chick, Chick-Watson y de crecimiento poblacional. Para describir el comportamiento de la desorción de los iones metálicos de los materiales zeolíticos, se consideró el modelo de Higuichi y Korsmeyer-Peppas. La E. coli y C. albicans mostraron mayor resistencia al estar en contacto con ZCu, aún y cuando la masa es 10 a 20 veces superior que la ZAg. Las constantes cinéticas mostraron que las cinéticas de desinfección dependen en primera instancia, de la desorción del ion de intercambio que modifica la estructura del material zeolítico, y posteriormente de los procesos de difusión en la membrana celular y la interacción de los iones desorbidos con los compuestos encontrados en el efluente de la plata de tratamiento, donde éstos últimos son interferentes del proceso de desinfección. Sin embargo, la disminución de la concentración estos compuestos por el uso de un método fisicoquímico, mejora la eficiencia de dicho proceso. El modelo cinético de pseudo segundo orden (Ho-McKay), describe el proceso de adsorción, de los diferentes interferentes (cloruros, proteína y ácido fúlvico).

ABSTRACT

Natural Zeolite from the State of Chihuahua was modified with silver (ZAg) or copper (ZCu) ions, in order to evaluate its effect as microbicidal agent against *Escherichia coli* (*E. coli*), *Candida albicans* (*C. albicans*) or a microbial consortium (*E. coli* and *C. albicans*) in the presence of municipal waste water related compounds found in an effluent from a water treatment plant in Toluca Valley. Natural zeolite was modified with solutions of silver or copper salts by means of a reflux technique. The characterization of the obtained materials was done by Scanning Electron Microscopy, X-ray Dispersive Energy Spectroscopy, and X-ray Diffraction. The concentration of Ag and Cu in the zeolitic materials was verified by Neutronic Activation Analysis. Proposed organic compounds concentration was determined in the effluent of the treatment plant by UV / VIS spectroscopy and high-pressure liquid chromatography.

In order to elucidate the microbicidal effect, cells of either *E. coli* or *C. albicans*, or a microbial consortium composed of both microorganism, were suspended in aqueous solution and placed in contact with the zeolitic materials (ZAg or ZCu) either in a batch process or in a semi-continuous flow process. A simultaneous process of Ag⁺ o Cu²⁺ ions desorption was considered. The experimental data obtained from the disinfection process were adjusted to the Chick, Chick – Watson, and the population growth models. With the aim of describing the metallic ions desorption behavior in the zeolitic materials the Higuichi y Korsmeyer–Peppas model was considered.

E. coli and *C. albicans* exhibited greater resistance in contact with ZCu even though the mass was 10 to 20 times higher than ZAg. Kinetic constants indicated that disinfection kinetics depend first on the exchange ion desorption that modifies the structure of the zeolitic material, and subsequently on the cell membrane diffusion processes and the interaction of desorbed ions with the compounds found in the effluent of the treatment plant, as the last mentioned interfere with the disinfection process. However, decreasing the concentration of these compounds using a physicochemical method improves the efficiency of such disinfection process. The pseudo second-order kinetic model (Ho-McKay) describes the adsorption process of different interferents (chlorides, proteins and fulvic acid).

AGRADECIMIENTOS	v
RESUMEN	vi
ABSTRACT	vii
CONTENIDO	viii
RELACIÓN DE TABLAS	xii
RELACIÓN DE FIGURAS	xvii
INTRODUCCIÓN	1
1. FUNDAMENTOS	3
1.1 El agua y su consumo	3
1.2 Agua residual municipal (ARM)	5
1.2.1 Contaminación de cuerpos de agua	5
1.2.2 Sistemas de tratamiento del Agua Residual Municipal (ARM)	15
1.3 Procesos de desinfección	16
1.3.1 La plata	18
1.3.2 El cobre	23
1.3.3 Zeolitas	25
1.4 Procesos de adsorción	33
1.5 Modelos cinéticos	36
1.5.1 Modelos de desinfección para procesos en lote	36
1.5.2 Modelo cinético de desinfección en flujo semi-continuo	39
1.5.3 Modelos cinéticos de adsorción	41
1.5.4 Modelo cinético de desorción	43
2. MÉTODO	45
2.1 Molienda y tamizado de la zeolita natural	47
2.2 Acondicionamiento de la zeolita natural	47
2.2.1 Con sodio	47
2.2.2 Con plata	47
2.2.3 Con cobre	
2.3 Caracterización de la zeolita antes y después del acondicionamiento	
2.3.1 Difracción de rayos-X (DRX)	

CONTENIDO

2.3.2 Microscopia electrónica de barrido (MEB) y Espectroscopia de energía dispersiva de rayos-X (EDS)	48
2.3.3 Análisis por activación neutrónica (AAN)	48
2.4 Determinación de los componentes orgánicos del Agua Residual Municipal ((ARM)49
2.4.1 Toma de muestra en el ARM	49
2.4.2 Cuantificación	50
2.5 Determinación de la actividad microbicida de la ZAg frente a E. coli y C. albie en presencia de compuestos orgánicos contenidos en el ARM	cans, 51
2.5.1 Preparación de la suspensión de E. coli y C. albicans	51
2.5.2 Determinación de la concentración de coliformes y levaduras	51
2.5.3 Prueba control con zeolita acondicionada con sodio (ZNa) como referenc	cia 52
2.5.4 Determinación de la actividad microbicida de la zeolita acondicionada co plata (ZAg)	on 53
2.5.5 Efecto de los compuestos orgánicos sobre la actividad microbicida de la	ZAg . 53
2.5.6 Desorción de Ag	54
2.6 Determinación de la actividad microbicida de la ZCu frente a E. coli o C. albi y en consorcio microbiano (E. coli y C. albicans)	cans 54
2.6.1 Preparación de la suspensión de E. coli y C. albicans	54
2.6.2 Determinación de la actividad microbicida de la ZCu	55
2.6.3 Desorción de Cu	55
2.7 Efecto de los compuestos orgánicos sobre E. coli y C. albicans	55
2.8 Remoción de compuestos interferentes	56
2.8.1 Selección de adsorbentes	57
2.8.2 Determinación de la capacidad de adsorción	57
2.9 Determinación de la actividad microbicida de la ZAg sobre E. coli en presence concentraciones bajas de compuestos orgánicos e inorgánicos	cia de 57
2.10 Desinfección del agua en flujo semi-continuo	58
2.11 Modelos cinéticos	58
2.12 Análisis estadístico	59
3. RESULTADOS	60
3.1 Caracterización de la zeolita antes y después del acondicionamiento	60
3.1.1 Difracción de Rayos-X	60

3.1.2 Microscopia electrónica de barrido (MEB) y Espectroscopia de energía	
dispersiva de rayos-X (EDS)	61
3.1.3 Análisis por activación neutrónica (AAN)	63
3.2 Determinación de los componentes orgánicos del Agua Residual Municipal (ARM)	64
3.2.1 Toma de muestra en el ARM	64
3.2.2 Contenido de proteínas	64
3.2.3 Contenido de ácido fúlvico	65
3.3 Determinación de la actividad microbicida de la ZAg frente a E. coli y C. albicans,	
en presencia de compuestos orgánicos contenidos en el ARM en un proceso tipo Batch	65
3.3.1 Prueba control con zeolita ZNa como referencia	65
3.3.2 Determinación de la actividad microbicida de la ZAg	66
3.3.3 Efecto de la proteína sobre la actividad microbicida de la ZAg	69
3.3.4 Efecto del ácido fúlvico sobre la actividad microbicida de la ZAg	71
3.3.5 Efecto de una mezcla de interferentes (MI) sobre la actividad microbicida de la ZAg	73
3.4 Determinación de la actividad microbicida de la ZCu frente a E. coli o C. albicans y en consorcio microbiano (E. coli y C. albicans) en un proceso tipo Batch	75
3.5 Efecto de los compuestos orgánicos sobre E. coli y C. albicans	77
3.6 Remoción de compuestos interferentes	79
3.6.1 Selección de adsorbentes	79
3.6.2 Determinación de la capacidad de adsorción	80
3.7 Determinación de la actividad microbicida de la ZAg sobre E. coli en presencia de concentraciones bajas de compuestos orgánicos e inorgánicos en un proceso tipo	
Batch	81
3.7.1 Cloruros	81
3.7.2 Proteína	83
3.7.3 Ácido fúlvico	84
3.8 Determinación de la actividad microbicida de la ZAg sobre E. coli en presencia de compuestos orgánicos e inorgánicos en un proceso en flujo semi-continuo	86
3.9 Modelos cinéticos	89
3.9.1 Desinfección en lote	89
3.9.2 Adsorción de interferentes	97

3.9.3 Desorción de iones al medio	
3.9.4 Desinfección en flujo semi-continuo	102
CONCLUSIONES	105
RECOMENDACIONES	108
REFERENCIAS	109
ANEXO A. ADSORCIÓN DE INTERFERENTES (CI ⁻ Y PROTEÍNA) POR QUITOSANO	123
A.1 Metodología	123
A.1.1 Síntesis de las perlas de hidrogel de quitosano (PHQ)	123
A.1.2 Caracterización	124
A.2 Resultados	125
A.2.1 Síntesis de las PHQ	125
A.2.2 Caracterización	125
A.2.3 Capacidad de adsorción	130
A.2.4 Cinéticas de adsorción de interferentes	137
ANEXO B. TABLAS Y FIGURAS	141
B.1 Tablas	141
B.2 Figuras	154
ANEXO C. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	163
C.1 Cinética de desinfección	163
C.2 Eficiencia del desinfectante	167
C.3 Desorción de iones al medio	170
ANEXO D. PRODUCCIÓN CIENTÍFICA	174

RELACIÓN DE TABLAS

Tabla 1.1. Distribución del consumo de agua con base en la actividad desarrollada por	
una persona en un día	4
Tabla 1.2 Descripción de la cepa de <i>E. coli</i> ATCC 25922	. 13
Tabla 1.3 Descripción de la cepa de <i>C. albican</i> s ATCC 10231	. 14
Tabla 1.4 Caracterización de la clinoptilolita - heulandita de Sonora	. 27
Tabla 1.5 Caracterización de la clinoptilolita-heulandita de Taxco.	. 27
Tabla 1.6 Caracterización de la Zeolita de Gördes	. 29
Tabla 1.7 Modelos cinéticos de desinfección	. 37
Tabla 2.1 Concentración a utilizar de los compuestos orgánicos, en el proceso de	
desinfección	. 54
Tabla 3.1 Composición elemental del material zeolítico por EDS	. 62
Tabla 3.2 Composición elemental del material zeolítico por AAN	. 63
Tabla 3.3 Remoción de Cl ⁻ por carbón activado y ZAg	. 79
Tabla 3.4 Remoción de proteína	. 80
Tabla 3.5 Parámetros cinéticos obtenidos del modelo de Chick partiendo de una masa	
de 10 mg de ZAg	. 90
Tabla 3.6 Parámetros cinéticos obtenidos del modelo de Chick partiendo de una masa	
de 20 mg de ZAg	. 91
Tabla 3.7 Parámetros cinéticos obtenidos del modelo de Chick partiendo de una masa	
de 200 mg de ZCu	. 91
Tabla 3.8 Parámetros cinéticos obtenidos del modelo de Chick-Watson partiendo de	
una masa de 10 mg de ZAg	. 92
Tabla 3.9 Parámetros cinéticos obtenidos del modelo de Chick-Watson partiendo de	
una masa de 20 mg de ZAg	. 93
Tabla 3.10 Parámetros cinéticos obtenidos del modelo de Chick-Watson partiendo de	
una masa de 200 mg de ZCu	. 94
Tabla 3.11 Parámetros obtenidos de modelos cinéticos de adsorción	. 97

Tabla 3.12 Parámetros cinéticos obtenidos del modelo de Korsmeyer-Peppas partiendo
de 10 mg de ZAg
Tabla 3.13 Parámetros cinéticos obtenidos del modelo de Korsmeyer-Peppas partiendo
de 20 mg de ZAg
Tabla 3.14 Parámetros cinéticos obtenidos del modelo de Higuchi partiendo de 10 mg de
ZAg
Tabla 3.15 Parámetros cinéticos obtenidos del modelo de Higuchi partiendo de 20 mg de
ZAg100
Tabla 3.16 Parámetros cinéticos de desorción partiendo de 200 mg de ZCu 100
Tabla 3.17 Parámetros cinéticos de desinfección en flujo semi-continuo 102
Tabla 3.18 Parámetros de eficiencia de la columna 103
Tabla A.1 Porcentaje de humedad de perlas de hidrogel de quitosano (PHQ) 127
Tabla A.2 Remoción de Cl ⁻ por PHQ131
Tabla A.3 Remoción de proteína por PHQ 133
Tabla A.4 Remoción de ácido fúlvico por PHQ134
Tabla A.5 Remoción de Cl ⁻ , proteína y ácido fúlvico en solución con PHQ 136
Tabla A.6 Parámetros obtenidos de modelos cinéticos de adsorción de Cl ⁻ , proteínas y
ácido fúlvico por PHQ 137
Tabla B.1 Toma de muestras de agua 141
Tabla B.2 Actividad microbicida de 10 y 20 mg de ZAg frente a <i>E. coli</i>
Tabla B.3 Actividad microbicida de 10 y 20 mg de ZAg frente a C. albicans 142
Tabla B.4 Actividad microbicida de 10 y 20 mg de ZAg frente a un consorcio microbiano
(E. coli y C. albicans)
Tabla B.5 Efecto de 104.9 mg/L de proteína sobre la actividad microbicida de 10 y 20 mg
de ZAg en presencia de <i>E. coli</i> o <i>C. albicans</i> 144
Tabla B.6 Efecto de 104.9 mg/L de proteína sobre la actividad microbicida de 10 y 20 mg
de ZAg en presencia de un consorcio microbiano (E. coli y C. albicans) 145
Tabla B.7 Efecto de 150 mg/L de ácido fúlvico sobre la actividad microbicida de 10 y
20 mg de ZAg en presencia de <i>E. coli</i> o <i>C. albicans</i>

Tabla B.8 Efecto de 150 mg/L de ácido fúlvico sobre la actividad microbicida de 10 y	
20 mg ZAg en presencia de un consorcio microbiano (<i>E. coli</i> y <i>C. albicans</i>)	146
Tabla B.9 Efecto de una mezcla de interferentes (MI) sobre la actividad microbicida de	
10 y 20 mg de ZAg en presencia de <i>E. coli</i> o <i>C. albicans</i>	147
Tabla B.10 Efecto de una MI sobre la actividad microbicida de 10 y 20 mg de ZAg en	
presencia de un consorcio microbiano (<i>E. coli</i> y <i>C. albicans</i>)	148
Tabla B.11 Actividad microbicida de 200 mg de ZCu sobre E. coli, C. albicans o en	
consorcio microbiano (<i>E. coli</i> y <i>C. albicans</i>)	149
Tabla B.12 Efecto de 104.9 mg/L de proteína sobre <i>E. coli</i> , <i>C. albicans</i> o en consorcio	
microbiano (E. coli y C. albicans)	150
Tabla B.13 Efecto de 150 mg/L de ácido fúlvico sobre E. coli, C. albicans o en consorci	O
microbiano (<i>E. coli</i> y <i>C. albicans</i>)	151
Tabla B.14 Efecto de la MI sobre <i>E. coli</i> , <i>C. albicans</i> o consorcio microbiano (<i>E. coli</i> y	
C. albicans)	151
Tabla B.15 Efecto de la MI a bajas concentraciones sobre la actividad microbicida de	
20 mg de ZAg en presencia de <i>E. coli</i>	152
Tabla B.16 Desinfección del agua en flujo semi-continuo con 200 mg de ZAg en	
presencia de componentes orgánicos e inorgánicos y E. coli como microorganismo de	
prueba	153
Tabla B.17 Modelo logístico de crecimiento poblacional para la desinfección de <i>E. coli</i>	
con ZAg	160
Tabla B.18 Modelo logístico de crecimiento poblacional para la desinfección de <i>E. coli</i>	
con ZAg en presencia de 5.245 mg/L de proteína	161
Tabla B.19 Modelo logístico de crecimiento poblacional para la desinfección de <i>E. coli</i>	
con ZAg en presencia de 52.5 mg/L de ácido fúlvico	161
Tabla B.20 Modelo logístico de crecimiento poblacional para la desinfección de <i>E. coli</i>	
con ZAg en presencia de 25.36 mg/L de cloruros	161
Tabla B.21 Modelo logístico de crecimiento poblacional para la desinfección de E. coli	
con ZAg en presencia de MI totales	162

Tabla B.22 Modelo logístico de crecimiento poblacional para la desinfección de E. coli
con ZAg en presencia de MI reducidos 162
Tabla C.1 Efecto de la masa del desinfectante (ZAg) vs. el tipo de microorganismo sobre
la cinética de desinfección (k) 163
Tabla C.2 Efecto del material desinfectante vs. tipo de microorganismo sobre la cinética
de desinfección (k) 164
Tabla C.3 Efecto de los interferentes vs. tipo de microorganismo sobre la cinética de
desinfección (k) utilizando 10 mg de ZAg 164
Tabla C.4 Efecto de los interferentes vs. tipo de microorganismo sobre la cinética de
desinfección (k) utilizando 20 mg de ZAg 164
Tabla C.5 Efecto del tipo de interferente vs. concentración de interferente sobre la
cinética de desinfección (k)
Tabla C.6 Efecto de las diferentes variables sobre la cinética de la desinfección 165
Tabla C.7 Efecto individual de los interferentes sobre la cinética de la desinfección 165
Tabla C.8 Efecto de la masa del desinfectante (ZAg) vs. tipo de microorganismo sobre
la eficiencia del desinfectante
la eficiencia del desinfectante. 167 Tabla C.9 Efecto del material desinfectante vs. tipo de microorganismo sobre la eficiencia del desinfectante. 167 Tabla C.10 Efecto de los interferentes vs. tipo de microorganismo sobre la eficiencia del desinfectante (10 mg ZAg). 167
 la eficiencia del desinfectante. Tabla C.9 Efecto del material desinfectante vs. tipo de microorganismo sobre la eficiencia del desinfectante. 167 Tabla C.10 Efecto de los interferentes vs. tipo de microorganismo sobre la eficiencia del desinfectante (10 mg ZAg). Tabla C.11 Efecto de los interferentes vs. tipo de microorganismo sobre la eficiencia del
Ia eficiencia del desinfectante. 167 Tabla C.9 Efecto del material desinfectante vs. tipo de microorganismo sobre la 167 eficiencia del desinfectante. 167 Tabla C.10 Efecto de los interferentes vs. tipo de microorganismo sobre la eficiencia del 167 desinfectante (10 mg ZAg). 167 Tabla C.11 Efecto de los interferentes vs. tipo de microorganismo sobre la eficiencia del 167 Tabla C.11 Efecto de los interferentes vs. tipo de microorganismo sobre la eficiencia del 167 Tabla C.11 Efecto de los interferentes vs. tipo de microorganismo sobre la eficiencia del 167 Tabla C.11 Efecto de los interferentes vs. tipo de microorganismo sobre la eficiencia del 167 Tabla C.11 Efecto de los interferentes vs. tipo de microorganismo sobre la eficiencia del 168
la eficiencia del desinfectante
la eficiencia del desinfectante. 167 Tabla C.9 Efecto del material desinfectante vs. tipo de microorganismo sobre la 167 Tabla C.10 Efecto de los interferentes vs. tipo de microorganismo sobre la eficiencia del 167 Tabla C.10 Efecto de los interferentes vs. tipo de microorganismo sobre la eficiencia del 167 Tabla C.10 Efecto de los interferentes vs. tipo de microorganismo sobre la eficiencia del 167 Tabla C.11 Efecto de los interferentes vs. tipo de microorganismo sobre la eficiencia del 167 Tabla C.11 Efecto de los interferentes vs. tipo de microorganismo sobre la eficiencia del 168 Tabla C.12 Efecto del tipo de interferente vs. concentración de interferente sobre la 168 Tabla C.12 Efecto del tipo de interferente vs. concentración de interferente sobre la 168
Ia eficiencia del desinfectante. 167 Tabla C.9 Efecto del material desinfectante vs. tipo de microorganismo sobre la 167 Tabla C.10 Efecto de los interferentes vs. tipo de microorganismo sobre la eficiencia del 167 Tabla C.10 Efecto de los interferentes vs. tipo de microorganismo sobre la eficiencia del 167 Tabla C.10 Efecto de los interferentes vs. tipo de microorganismo sobre la eficiencia del 167 Tabla C.11 Efecto de los interferentes vs. tipo de microorganismo sobre la eficiencia del 167 Tabla C.11 Efecto de los interferentes vs. tipo de microorganismo sobre la eficiencia del 168 Tabla C.12 Efecto del tipo de interferente vs. concentración de interferente sobre la 168 Tabla C.13 Efecto de las diferentes variables sobre la eficiencia del desinfectante
Ia eficiencia del desinfectante. 167 Tabla C.9 Efecto del material desinfectante vs. tipo de microorganismo sobre la 167 Tabla C.10 Efecto de los interferentes vs. tipo de microorganismo sobre la eficiencia del 167 Tabla C.10 Efecto de los interferentes vs. tipo de microorganismo sobre la eficiencia del 167 Tabla C.10 Efecto de los interferentes vs. tipo de microorganismo sobre la eficiencia del 167 Tabla C.11 Efecto de los interferentes vs. tipo de microorganismo sobre la eficiencia del 167 Tabla C.11 Efecto de los interferentes vs. tipo de microorganismo sobre la eficiencia del 168 Tabla C.12 Efecto del tipo de interferente vs. concentración de interferente sobre la 168 Tabla C.13 Efecto de las diferentes variables sobre la eficiencia del desinfectante
Ia eficiencia del desinfectante.167Tabla C.9 Efecto del material desinfectante vs. tipo de microorganismo sobre la167Tabla C.10 Efecto de los interferentes vs. tipo de microorganismo sobre la eficiencia del167Tabla C.10 Efecto de los interferentes vs. tipo de microorganismo sobre la eficiencia del167Tabla C.11 Efecto de los interferentes vs. tipo de microorganismo sobre la eficiencia del167Tabla C.11 Efecto de los interferentes vs. tipo de microorganismo sobre la eficiencia del167Tabla C.12 Efecto del tipo de interferente vs. tipo de microorganismo sobre la eficiencia del168Tabla C.12 Efecto del tipo de interferente vs. concentración de interferente sobre la168Tabla C.13 Efecto de las diferentes variables sobre la eficiencia del desinfectante168Tabla C.14 Efecto individual de los interferentes sobre la eficiencia del desinfectante
la eficiencia del desinfectante. 167 Tabla C.9 Efecto del material desinfectante vs. tipo de microorganismo sobre la 167 Tabla C.10 Efecto de los interferentes vs. tipo de microorganismo sobre la eficiencia del 167 Tabla C.10 Efecto de los interferentes vs. tipo de microorganismo sobre la eficiencia del 167 Tabla C.11 Efecto de los interferentes vs. tipo de microorganismo sobre la eficiencia del 167 Tabla C.11 Efecto de los interferentes vs. tipo de microorganismo sobre la eficiencia del 168 Tabla C.12 Efecto del tipo de interferente vs. concentración de interferente sobre la 168 Tabla C.13 Efecto de las diferentes variables sobre la eficiencia del desinfectante
la eficiencia del desinfectante. 167 Tabla C.9 Efecto del material desinfectante vs. tipo de microorganismo sobre la 167 Tabla C.10 Efecto de los interferentes vs. tipo de microorganismo sobre la eficiencia del 167 Tabla C.10 Efecto de los interferentes vs. tipo de microorganismo sobre la eficiencia del 167 Tabla C.10 Efecto de los interferentes vs. tipo de microorganismo sobre la eficiencia del 167 Tabla C.11 Efecto de los interferentes vs. tipo de microorganismo sobre la eficiencia del 168 Tabla C.12 Efecto del tipo de interferente vs. concentración de interferente sobre la 168 Tabla C.13 Efecto de las diferentes variables sobre la eficiencia del desinfectante

Tabla C.17 Efecto del interferente vs. el tipo de microorganismo sobre la cinética de la	
desorción de los iones, utilizando 10 mg de ZAg 17	'1
Tabla C.18 Efecto del interferente vs. el tipo de microorganismo sobre la cinética de la	
desorción de los iones, utilizando 20 mg de ZAg17	'1
Tabla C.19 Efecto del tipo de interferente vs. concentración del interferente sobre la	
cinética de la desorción de iones 17	'1
Tabla C.20 Efecto de las diferentes variables sobre la cinética de la desorción de los	
iones 17	2
Tabla C.21 Efecto individual de los interferentes sobre la cinética de la desorción de los	
iones 17	'3

RELACIÓN DE FIGURAS

Figura 1.1 Mecanismos propuestos sobre la interacción de la plata con las células
bacterianas
Figura 1.2 Procesos de adsorción, absorción e intercambio iónico
Figura 2.1 Diagrama del desarrollo experimental45
Figura 2.2 Diagrama del desarrollo experimental (continuación)
Figura 2.3 Diagrama del proceso de tratamiento de agua de la planta ECOSYS I
Figura 3.1 Patrón de difracción de rayos-X de a) ZNat; b) ZNa; c) ZAg y d) ZCu60
Figura 3.2 Imágenes MEB de a) ZNat; b) ZNa; c) ZAg y d) ZCu
Figura 3.3 Flujo promedio en el efluente de la planta ECOSYS I64
Figura 3.4 ZNa frente a E. coli y C. albicans a) individual y b) en consorcio
Figura 3.5 Actividad microbicida de a) 10 mg de ZAg y b) 20 mg de ZAg frente a E. coli 66
Figura 3.6 Actividad microbicida de a) 10 mg de ZAg y b) 20 mg de ZAg frente a
C. albicans
Figura 3.7 Actividad microbicida de a) 10 mg de ZAg y b) 20 mg de ZAg frente a un
consorcio (E. coli y C. albicans)67
Figura 3.8 Efecto de 104.9 μ g/mL de proteína sobre la actividad microbicida de
a) 10 mg de ZAg y b) 20 mg de ZAg frente a E. coli; y desorción de la Ag69
Figura 3.9 Efecto de 104.9 μ g/mL de proteína sobre la actividad microbicida de
a) 10 mg de ZAg y b) 20 mg de ZAg frente a C. albicans; y desorción de la Ag
Figura 3.10 Efecto de 104.9 µg/mL de proteína sobre la actividad microbicida de
a) 10 mg de ZAg y b) 20 mg de ZAg frente a un consorcio (E. coli y C. albicans); y
desorción de la Ag
Figura 3.11 Efecto de 150 µg/mL de ácido fúlvico sobre la actividad microbicida de
a) 10 mg de ZAg y b) 20 mg de ZAg frente a E. coli; y desorción de la Ag
Figura 3.12 Efecto de 150 µg/mL de ácido fúlvico sobre la actividad microbicida de
a) 10 mg de ZAg y b) 20 mg de ZAg frente a C. albicans; y desorción de la Ag

Figura 3.13 Efecto de 150 µg/mL de ácido fúlvico sobre la actividad microbicida de	
a) 10 mg de ZAg y b) 20 mg de ZAg frente a un consorcio (E. coli y C. albicans); y	
desorción de la Ag	. 72
Figura 3.14 Efecto de una MI sobre la actividad microbicida de a) 10 mg de ZAg y	
b) 20 mg de ZAg frente a E. coli; y desorción de la Ag	. 74
Figura 3.15 Efecto de una MI sobre la actividad microbicida de a) 10 mg de ZAg y	
b) 20 mg de ZAg frente a C. albicans; y desorción de la Ag	. 74
Figura 3.16 Efecto de una MI sobre la actividad microbicida de a) 10 mg de ZAg y	
b) 20 mg de ZAg frente a un consorcio (E. coli y C. albicans); y desorción de la Ag	. 74
Figura 3.17 Actividad microbicida de 200 mg de ZCu en presencia de a) E. coli, b) C.	
albicans y c) en consorcio (E. coli y C. albicans)	. 76
Figura 3.18 Efecto de 104.9 µg/mL de proteína sobre E. coli y C. albicans a) individual	
y b) en consorcio	. 78
Figura 3.19 Efecto de 150 µg/mL de ácido fúlvico sobre E. coli y C. albicans	
a) individual y b) en consorcio	. 78
Figura 3.20 Efecto de la mezcla de interferentes sobre E. coli y C. albicans	
a) individual y b) en consorcio	. 78
Figura 3.21 Capacidad de la ZAg para la adsorción de Cl ⁻	. 80
Figura 3.22 Actividad microbicida de la ZAg frente a E. coli en presencia de	
a) 25.36 mg/L Cl ⁻ y b) 63.41 mg/L Cl ⁻	. 82
Figura 3.23 Actividad microbicida de la ZAg frente a E. coli en presencia de baja	
concentración de proteína	. 83
Figura 3.24 Actividad microbicida de la ZAg frente a E. coli baja concentración de	
ácido fúlvico	. 85
Figura 3.25 Actividad microbicida de la ZAg frente a E. coli en un sistema en flujo	
semi-continuo	. 86
Figura 3.26 Actividad microbicida de la ZAg frente a E. coli en presencia de proteína	
en un sistema en flujo semi-continuo	. 86
Figura 3.27 Actividad microbicida de la ZAg frente a E. coli en presencia de ácido	
fúlvico en un sistema en flujo semi-continuo	. 87

Figura 3.28 Actividad microbicida de la ZAg frente a E. coli en presencia de Cl ⁻ en un	
sistema en flujo semi-continuo	. 87
Figura 3.29 Actividad microbicida de la ZAg frente a E. coli en presencia de la MI un	
sistema en flujo semi-continuo	. 87
Figura 3.30 Actividad microbicida de la ZAg frente a E. coli en presencia de una baja	
concentración de la MI en un sistema en flujo semi-continuo	. 88
Figura A.1 Perlas de hidrogel de quitosano (PHQ)	125
Figura A.2 Imágenes de las PHQ a una ampliación de 40X a) esférica y b) corte	
transversal	126
Figura A.3 Imagen de las PHQ (corte transversal) a una ampliación de 100X	126
Figura A.4 Espectro FTIR del quitosano	128
Figura A.5 FTIR del quitosano y de las PHQ	128
Figura A.6 FTIR de las PHQ antes y después de la adsorción de Cl ⁻	129
Figura A.7 Espectro FTIR de las PHQ antes y después de la adsorción de a) proteína	
y b) ácido fúlvico	130
Figura A.8 Capacidad de adsorción de las PHQ para Cl ⁻	131
Figura A.9 Capacidad de adsorción de las PHQ para proteína	133
Figura A.10 Capacidad de adsorción de las PHQ para ácido fúlvico	135
Figura A.11 Capacidad de adsorción de las PHQ para Cl ⁻ , proteína y ácido fúlvico	137
Figura A.12 Modelo cinéticos de a) Lagergren y b) Ho-McKay aplicados a la cinética	
de adsorción de Cl ⁻ por las PHQ	138
Figura A.13 Modelo cinéticos de a) Lagergren y b) Ho-McKay aplicados a la cinética	
de adsorción de proteina por las PHQ	138
Figura A.14 Modelo cinéticos de a) Lagergren y b) Ho-McKay aplicados a la cinética	
de adsorción de ácido fúlvico por las PHQ	139
Figura B.1 Espectros de energías (EDS) de a) ZNat, b) ZNa, c) ZAg y d) ZCu	154
Figura B.2 Modelo de Chick aplicado a la cinética del proceso de desinfección de	
a) 10 mg de ZAg y b) 20 mg de ZAg frente a E. coli en presencia de interferentes	154
Figura B.3 Modelo de Chick aplicado a la cinética del proceso de desinfección de	
a) 10 mg de ZAg y b) 20 mg de ZAg frente a C. albicans en presencia de interferentes	155

Figura B.4 Modelo de Chick aplicado a la cinética del proceso de desinfección de
a) 10 mg de ZAg y b) 20 mg de ZAg frente a un consorcio microbiano (E. coli y
C. albicans) en presencia de interferentes155
Figura B.5 Modelo de Chick aplicado a la cinética del proceso de desinfección de
200 mg de ZCu frente a E. coli y C. albicans de forma a) individual y b) en consorcio 156
Figura B.6 Modelo de Chick–Watson aplicado a la cinética del proceso de desinfección
de a) 10 mg de ZAg y b) 20 mg de ZAg frente a E. coli en presencia de interferentes 156
Figura B.7 Modelo de Chick–Watson aplicado a la cinética del proceso de
desinfección de a) 10 mg de ZAg y b) 20 mg de ZAg frente a C. albicans en presencia
de interferentes 156
Figura B.8 Modelo de Chick–Watson aplicado a la cinética del proceso de desinfección
de a) 10 mg de ZAg y b) 20 mg de ZAg frente a un consorcio microbiano (E. coli y
C. albicans) en presencia de interferentes157
Figura B.9 Modelo de Chick–Watson aplicado a la cinética del proceso de desinfección
de 200 mg de ZCu frente a E. coli y C. albicans de forma a) individual y
b) en consorcio
Figura B.10 Modelos de Lagergren (a) y Ho-McKay (b) aplicados a la adsorción de
Cl ⁻ por la ZAg
Figura B.11 Modelos de a) Korsmeyer-Peppas y b) Higuchi aplicados a la cinética de
desorción de Ag de 10 mg de la ZAg en presencia de E. coli en presencia de
interferentes
Figura B.12 Modelos de a) Korsmeyer-Peppas y b) Higuchi aplicados a la cinética de
desorción de Ag de 10 mg de la ZAg en presencia de C. albicans en presencia de
interferentes
Figura B.13 Modelos de a) Korsmeyer-Peppas y b) Higuchi aplicados a la cinética de
desorción de Ag de 10 mg de la ZAg en presencia de consorcio microbiano (E. coli y
C. albicans) en presencia de interferentes159
Figura B.14 Modelos de a) Korsmeyer-Peppas y b) Higuchi aplicados a la cinética de
desorción de Ag de 20 mg de la ZAg en presencia de E. coli en presencia de
interferentes

Figura B.15 Modelos de a) Korsmeyer-Peppas y b) Higuchi aplicados a la cinética de	
desorción de Ag de 20 mg de la ZAg en presencia de C. albicans en presencia de	
interferentes	159
Figura B.16 Modelos de a) Korsmeyer-Peppas y b) Higuchi aplicados a la cinética de	
desorción de Ag de 20 mg de la ZAg en presencia de consorcio microbiano (E. coli y	
C. albicans) en presencia de interferentes	160
Figura B.17 Modelos de a) Korsmeyer-Peppas y b) Higuchi aplicados a la cinética de	
desorción de Cu de 200 mg de la ZCu en presencia de E. coli, C. albicans y un	
consorcio microbiano (E. coli y C. albicans)	160

INTRODUCCIÓN

La zeolita acondicionada con plata (ZAg) es un material que puede ser utilizado de manera eficiente en la eliminación de microorganismos patógenos pero que ha presentado deficiencias cuando se utiliza en aguas residuales tratadas de origen municipal. Por otro lado, la zeolita acondicionada con cobre (ZCu) ha demostrado tener propiedades microbicidas, sin embargo, su efecto es menor comparativamente con la ZAg cuando se utiliza en agua sintética de laboratorio conteniendo *E. coli*, pero no se ve afectada de manera significativa por los componentes asociados al agua residual municipal (ARM).

Algunos de los principales componentes del ARM que inhiben el efecto microbicida de la ZAg son los compuestos inorgánicos, principalmente el ion CI⁻. Sin embargo, los compuestos orgánicos asociados al ARM, pueden jugar un papel importante en la acción microbicida de la ZAg o ZCu. Debido a la capacidad de algunos de estos, como los aminoácidos o proteínas, de reaccionar como ácidos o como bases, dependiendo de las circunstancias; pudiendo interferir en la capacidad microbicida de la ZAg o ZCu. Por lo cual es necesario investigar sobre los componentes orgánicos mayoritarios que contiene el agua residual municipal y verificar el efecto que tienen sobre la acción microbicida de la ZAg y ZCu.

La hipótesis del trabajo fue la siguiente: los componentes orgánicos mayoritarios, asociados al agua residual de origen municipal, influyen sobre la actividad microbicida de la zeolita modificada con plata, considerando a un consorcio microbiano de *Escherichia coli y Candida albicans.*

El objetivo general de este trabajo fue evaluar la influencia de los componentes orgánicos mayoritarios asociados al ARM, sobre la actividad microbicida de la clinoptilolita modificada con plata o cobre, frente a un consorcio microbiano de *Eschericia coli* y *Candida albicans* y proponer los mecanismos de desinfección.

Este documento está conformado por tres apartados: en la parte de fundamentos se presenta la información sobre el tema de agua, plata, cobre, zeolita y contaminación biológica; describiendo lo fundamental de ellos debido a que son el marco sobre el cual se desarrolló esta investigación.

En el apartado de metodología se hace una descripción del desarrollo experimental; desglosando la preparación y tratamiento para el acondicionamiento de la zeolita, la caracterización por medio de microscopía electrónica de barrido y de difracción de rayos X. Se describe también el muestreo y análisis de los compuestos interferentes de interés, así como las pruebas de desinfección realizadas con la zeolita plata y cobre con cada uno de los compuestos interferentes.

En el apartado de resultados, se muestran los datos de la investigación obtenidos y la discusión de los mismos. Al final se presentan las conclusiones. Se incluyen las referencias utilizadas en la investigación.

1. FUNDAMENTOS

1.1 El agua y su consumo

Los humanos consumen agua potable, sin embargo, los recursos naturales se han vuelto escasos con la creciente población y su disposición en varias regiones habitadas es la preocupación de muchas organizaciones gubernamentales. Además, el agua es utilizada no solo para el consumo, sino también en procesos industriales, así como en las actividades cotidianas de las personas, lo que la convierte en el medio de transporte de los subproductos desechados que provocan su contaminación.

De un modo u otro, todas las formas de vida conocidas dependen del agua, por lo que una cantidad suficiente de esta debe estar disponible para cada organismo. Desde el punto de vista biológico, el agua es un elemento crítico para la proliferación de la vida ya que permite a los organismos diversas reacciones que van desde la amortiguación de la temperatura corporal, hasta el mantenimiento o control del pH que en último término posibilitan la replicación de ADN. Sus propiedades la convierten en un agente activo y esencial en muchos de los procesos metabólicos que los seres vivos realizan (Rastogi, 2006; De la Rosa-Gómez *et al.*, 2008a).

El consumo humano representa un porcentaje reducido del volumen de agua que es utilizado a diario en el mundo. El consumo real de agua por persona varía debido a diversos factores, entre los que destacan: el clima de la región donde se habita; el nivel socioeconómico de la persona y sus costumbres; la disponibilidad de agua en la zona y las dificultades para acceder a ella; la actividad económica a que se dedica la población; el nivel de cultura del agua de la persona, entre otros (FEA, 2006; Rosegrant *et al.,* 2002).

Los consumos de agua por habitante en el país, con los que satisface sus necesidades humanas de beber, aseo personal y servicios, se pueden establecer como sigue: 1) La dotación promedio en el medio urbano en el país es de 250 L/hab/día y en general, por fugas de diferente tipo y origen, se pierden en los sistemas cerca de 100 L/hab/día, lo que hace que el consumo promedio por habitante sea de 150 L/día. Estos son algunos ejemplos en lugares de México (exclusivamente de uso doméstico): Tijuana, B.C.: 176 L/hab/día; León, Gto.: 116 L/hab/día; Monterrey, N. L.: 180 L/hab/día; Mexicali, B. C.: 220 L/hab/día; Naucalpan, estado de México: 225 L/hab/día.

2) En el medio rural, donde hay un sistema formal de abasto, la dotación promedio es de 150 L/hab/día y los consumos reales son en promedio de 100 L/hab/día. Generalmente estos consumos en el medio rural se incrementan por el riego de hortalizas y el abrevadero para ganado (FEA, 2006; SEMARNAT y CONAGUA, 2015).

Estos consumos de agua se distribuyen en regadera, lavado de ropa, sanitarios, alimentos, entre otros. Una distribución aproximada del uso del agua en el hogar en un país desarrollado se muestra en la Tabla 1.1.

Tabla 1.1. Distribución del consumo de agua con base en la actividad desarrollada por una persona en un día.

Actividad	% de agua consumida al día				
Inodoro	26.7				
Lavar la ropa	21.7				
Bañarse	16.8				
Grifo	15.7				
Fugas	13.7				
Otros	5.3				

Fuente: Attari, 2014

El aumento en su consumo debido al incremento de las actividades antropogénicas provoca a su vez un incremento en la contaminación del agua (Inoue *et al.*, 2002).

1.2 Agua residual municipal (ARM)

Los residuos que excretan los humanos se conocen como aguas negras sanitarias. Las aguas residuales de las áreas residenciales se describen como aguas negras domésticas, e incluyen residuos provenientes de cocinas, baños, lavado de ropa y drenaje de pisos. Éstas, junto con los residuos líquidos de los establecimientos comerciales e industriales, se designan como aguas residuales municipales (ARM). Estas normalmente se recogen en un sistema de alcantarillado público y se envían a los centros de tratamiento (Henry *et al.*, 1999).

1.2.1 Contaminación de cuerpos de agua

Se considera que el agua está contaminada, cuando ésta ya no reúne las condiciones requeridas para los usos a la que se hubiera destinado en su estado natural. En la actualidad, en México se considera que el 26% de los ríos, lagos y embalses son de buena calidad, mientras el 74% restante presenta algún grado de contaminación. Los principales contaminantes son la materia orgánica, nutrientes (nitrógeno y fósforo) y microorganismos, así como metales en áreas con actividad industrial (Aguirre, 2007).

1.2.1.1 Contaminantes fisicoquímicos

Una vez que el agua ha sido utilizada en las residencias, instituciones y locales comerciales e industriales, se le denomina agua residual. La cual puede contener una variedad de contaminantes dependiendo de su uso. Estos pueden incluir productos químicos orgánicos e inorgánicos y metales pesados, procedentes de fuentes industriales, agrícolas y de la escorrentía urbana (Manahan y Leyva, 2006). Por ejemplo, las aguas residuales domésticas se encuentran contaminadas principalmente con sustancias fecales y orina procedentes de los desechos humanos o animales, además de los desechos procedentes de los productos de limpieza los cuales se conocen como aguas grises. Muchos agentes patógenos encuentran su medio de

transporte en el agua, el cual es un acarreador de desechos humanos como el excremento. Un gran número de decesos están directamente asociados al agua y a su disposición final (Rivera-Garza *et al.*, 2000).

Las aguas residuales de origen municipal (ARM) están formadas por un 99% de agua y un 1% de sólidos tanto disueltos como en suspensión. Estos sólidos pueden clasificarse en orgánicos e inorgánicos. Los sólidos inorgánicos constituyen el 30% del total de los contaminantes en las ARM y están formados principalmente por nitrógeno, fósforo, cloruros, sulfatos, carbonatos, bicarbonatos y algunas sustancias tóxicas como arsénico, cianuro, cadmio, cromo, cobre, mercurio, plomo y zinc. El contenido de sales inorgánicas en el agua dependerá del tipo de agua del que se trate y puede ir desde varias decenas hasta varios centenares de mg/L. Siendo el orden de importancia de los iones de las sales inorgánicas contenidas en estos es el siguiente: $HCO_3^- > SO_4^{2-} > CI^- > NO_3^- y Ca^{2+} > Mg^{2+} ~ Na^+ > K^+$ (Domènech y Pérez, 2006; Acosta, 2008).

De la contaminación derivada de la presencia de compuestos inorgánicos el resultado más importante es su posible efecto tóxico, aunque hay casos en que los compuestos inorgánicos presentan una demanda de oxígeno, contribuyendo a la disminución del mismo, sin embargo, en el caso de la contaminación por compuestos orgánicos la disminución de oxígeno es mucho mayor debido a la utilización del oxigeno existente en el proceso de degradación biológica de dichos compuestos (González, 2005; Domènech y Pérez, 2006; Acosta, 2008; López y Meneses, 2012; Ramalho, 2012)

Pero además de las sales inorgánicas, el agua superficial contiene material orgánico disuelto: ácidos húmicos y sobre todo ácidos fúlvicos, además de otros compuestos orgánicos solubles. Los compuestos orgánicos constituyen el otro 70% de los contaminantes y se pueden clasificar en nitrogenados y no nitrogenados, los nitrogenados, son proteínas, ureas, aminas y aminoácidos y los no nitrogenados son principalmente celulosa, grasas y jabones. De los contaminantes orgánicos totales el

65% son proteínas, 25% son carbohidratos y 10% son grasas provenientes de los residuos de alimentos así como de los desechos humanos que son arrastrados en éstas (González, 2005; Domènech y Pérez, 2006; Aguirre, 2007; Acosta, 2008; López y Meneses, 2012).

1.2.1.1.1 Péptidos y proteínas

Las proteínas y péptidos son polímeros de aminoácidos, en los cuales las unidades individuales de aminoácidos están unidas mediante uniones peptídicas, constituyen esencialmente el protoplasma de las células, tanto animales como vegetales.

Las proteínas contienen carbono, hidrógeno y oxígeno, pero además tienen un 16% de nitrógeno junto con azufre. Las proteínas están formadas por aminoácidos, los cuales se unen entre sí por enlaces peptídicos variando en el número de unidades desde unos cuantos hasta cientos de miles.

Las proteínas se presentan en forma fibrosa o globular. Las proteínas fibrosas tienen una baja solubilidad y una alta resistencia mecánica, mientras que las proteínas globulares son solubles y fácilmente degradables.

De los 100 g de proteína que consume en promedio un adulto se pierden 10 g en las heces (Martínez *et al.*, 2005).

1.2.1.1.2 Aminoácidos

Al ser las proteínas polímeros de aminoácidos unidos mediante enlaces amino carbonilo o uniones peptídicas, la presencia de proteínas en el agua producto de la contaminación con materia orgánica, implica la presencia de aminoácidos en la misma. Los aminoácidos son sustancias bifuncionales, ya que contienen un grupo amino básico y un grupo carboxílico ácido. Al contener un grupo ácido y un grupo básico, experimentan una reacción ácido base intermolecular y se encuentran principalmente en la forma de un ion dipolar. Los aminoácidos además son anfóteros, es decir, pueden reaccionar como ácidos o como bases, dependiendo de la circunstancia.

Los aminoácidos pueden dividirse en esenciales y no esenciales. Los aminoácidos esenciales son aquellos que es preciso y obligado recibir con los alimentos, puesto que el organismo humano no puede prescindir de ellos en su metabolismo normal, mientras los aminoácidos no esenciales son aquellos que si bien se obtienen a través de la dieta, su carencia no producirían trastornos en el organismo pues este podría sustituirlos (González, 2005; Martínez *et al.*, 2005).

Cada aminoácido tiene un átomo de carbono central unido a cuatro grupos: un grupo amino básico, un grupo carboxilo ácido, un átomo de hidrógeno y la cadena lateral que es característico de cada aminoácido y le confiere su identidad (Martínez *et al.*, 2005).

1.2.1.1.3 Material húmico o humus

El material húmico es el resultado de una serie de transformaciones que sufre la lignina, donde los microorganismos utilizan el carbono y el nitrógeno en este proceso.

El material húmico está compuesto por una mezcla de compuestos poliméricos, las sustancias húmicas, que pueden definirse como polímeros de condensación de compuestos alifáticos y aromáticos que, a través de procesos microbiológicos, se producen de la descomposición de los residuos vegetales y animales.

El humus se divide en 3 componentes principales: ácidos húmicos, ácidos fúlvicos y humina. Los cuales están compuestos en un 44 – 55% en peso de carbono, de un 30 – 45% de oxígeno, 3 – 6% de hidrógeno, 1 – 5% de nitrógeno y algunas décimas

porcentuales de azufre. Compuesto de una estructura polimérica donde existen quinonas y anillos fenólicos, unidos entre sí por puentes -O-, -NH-, -N=, -S-. A esta columna aromática se enlazan moléculas de ácido graso, azúcares y proteínas, fruto de las reacciones de condensación que sufre la materia orgánica durante el proceso de humificación.

La característica más importante de los ácidos húmicos y fúlvicos es la presencia de grupos funcionales, principalmente grupos carboxilos y fenólicos, que son los más abundantes. Dichos grupos no solo confieren cierta acidez a la molécula del polímero de la materia húmica, sino que les permite desarrollar una carga. Así los componentes húmicos, en una solución a pH neutro presenta una carga negativa correspondiente a la disociación completa de los grupos carboxilo existentes en las estructuras poliméricas (Domènech y Pérez, 2006).

Los grupos carboxilo y fenólico no son los únicos presentes en los componentes húmicos que poseen características ácido – base. Aunque en menor proporción hay otros grupos ácidos (enol: R-CH=CH-O) o básicos (Amina: R-CH₂NH₂ o amida: R-CO-NH-R) que también pueden contribuir a la carga eléctrica del húmus (Domènech y Pérez, 2006).

1.2.1.2 Contaminantes biológicos

Además de la contaminación fisicoquímica del agua, la contaminación microbiológica es un factor importante a cuidar debido a los daños a la salud que puede provocar, llegando inclusive a causar la muerte (Inoue *et al.*, 2002). Las bacterias han sido usadas como indicadores de la calidad sanitaria del agua desde la época de 1800, cuando Von Fristch reportó que *Klebsiella pneumoniae* y *K. rhinoscleromatis,* eran los microorganismos comúnmente encontrados en las heces y que eran, y son la mayor amenaza de microorganismos patógenos en las aguas naturales (Rivera-Garza *et al.,* 2000).

Debido a que la variedad de microorganismos de un agua es tan elevada, se hace prácticamente imposible el verificar mediante análisis rutinarios y rápidos la ausencia de toda esta potencial flora microbiana en un agua para consumo humano. Por ello, se recurre a la investigación de organismos normalmente presentes en las deyecciones humanas y de animales, que de esta forma actúan como organismos indicadores de contaminación fecal, lo que posibilita el asegurar la eficacia de la potabilización y depuración del agua. La presencia de estos microorganismos, que no tienen que ser patógenos por sí mismos, indica muy fiablemente la presencia de otros claramente patógenos (Galvín, 2003).

Los grupos coliformes fecales y totales se utilizan como indicadores de contaminación biológica debido a su rápida multiplicación y pequeño tamaño (Pierce, 2009). Los coliformes fecales, subgrupo de los coliformes totales, es un indicador más específico de contaminación fecal. Del total de los coliformes en las heces humanas el 96.4% es de este tipo. Siendo *Escherichia coli* el miembro predominante (Rivera-Garza *et al.*, 2000). Aunque *E. coli* constituye parte de la flora bacteriana del tubo digestivo del hombre y de los animales de sangre caliente se ha demostrado que algunas cepas poseen factores de virulencia y producen enteritis. El espectro de infecciones causadas por *E. coli* es muy amplio, desde aquellas en que puede considerarse patógeno primario hasta las puramente oportunistas (Ruiz y Guillén, 2006).

En México los coliformes fecales son usados como indicador de contaminación por patógenos del agua (NOM-001-SEMARNAT-1996, 1996), sin embargo en aguas como la marina la donde la *C. albicans* es comúnmente encontrada, se ha detectado que este microorganismo tiene una tasa de decrecimiento mucho menor comparativamente con la *E. coli* por lo que se ha sugerido introducir como microorganismo complementario indicador de la calidad del agua (<=30 NMP) y evitar el riesgo de contraer enfermedades infecciosas de origen no intestinal (Botello, 2005).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) recomienda que el agua para beber contenga cuentas de coliformes fecales y totales de 0 en 100 mL de cualquier muestra (WHO, 2011).

La gran mayoría de los problemas de salud relacionados con el agua son el resultado de la contaminación microbiológica (bacteriológica, viral o protozoaria), por lo que la desinfección del agua es de incuestionable importancia para abastecer de agua potable a la población. Agentes físicos y químicos, como el cloro, ozono y luz ultravioleta son usados para este propósito (De la Rosa-Gómez *et al.*, 2008a).

1.2.1.2.1 Bacterias

Las bacterias son microorganismos unicelulares que presentan un tamaño de pocos micrómetros (entre 0.5 y 5 µm, por lo general) y diversas formas incluyendo coco (esferas), bacilos (barras) y espirilos (hélices). Las bacterias son procariotas y, por lo tanto, a diferencia de las células eucariotas (de animales, plantas, hongos y protozoos), no tienen el núcleo definido ni presentan, en general, orgánulos membranosos internos. Generalmente poseen una pared celular compuesta de peptidoglucano. Muchas bacterias disponen de flagelos o de otros sistemas de desplazamiento y son móviles (Stanier y Villanueva, 1996).

Las bacterias pueden diferenciarse de acuerdo a su morfología, su tamaño, su forma de reproducción y su composición química entre la cual por la estructura de sus paredes celulares puede dividirse en Gram positivas y Gram negativas, debido principalmente al grosor de la pared celular que es mayor en las primeras y a los constituyentes moleculares (Stanier y Villanueva, 1996; Negroni, 2009).

Dentro de las bacterias, *E. coli* es sin duda el microorganismo procarionte estudiado con mayor profundidad. Es una bacteria de tamaño pequeño y de reproducción rápida ya que en condiciones óptimas se divide cada 20 minutos, tiene un tamaño promedio

de 1 a 2 µm de largo, se puede dividir tanto por reproducción asexual como por intercambio genético, reacciona negativamente a la tinción de Gram por lo que se clasifica como Gramnegativo. Puede sobrevivir y crecer a condiciones ácidas de hasta un pH de 2.5 y temperaturas de 7 °C, permaneciendo viable durante varios meses (Pierce, 2009; Rodríguez *et al.*, 2011).

Aunque algunas cepas de *E. coli* son tóxicas y causan enfermedades, en su mayor parte son benignas y residen de manera natural en el tracto gastrointestinal de los seres humanos y de otros animales de sangre caliente, por lo que es usado como un indicador de contaminación fecal. Las cepas patogénicas pueden producir una toxina conocida como verocitoxina, la cual es similar a la toxina producida por *Shigella*. La infección con este organismo está asociada con la colitis hemorrágica, aunque también produce gastroenteritis (Burrola-Aguilar, 2004; Pierce, 2009).

Su rápida reproducción ha permitido la caracterización y análisis de numerosas mutaciones de *E. coli* que alteran desde el aspecto de la colonia hasta la resistencia a los fármacos, haciéndola un microorganismo ideal para el estudio de compuestos microbicidas (Pierce, 2009).

Para el presente trabajo se utilizó una cepa de *E. coli* ATCC 25922 con las características mostradas en la tabla 1.2.

Nombre	Escherichia coli (Migula) Castellani y Chalmers		
Propiedades antigénicas	Al serotipo O6, Biotipo 1		
Descripción en agar nutritivo	Colonias pequeñas, de bordes enteros, circulares,		
	brillantes, de aspecto húmedo		
Descripción en agar MacConkey	Colonias lactosa positivas.		
Medio de siembra	Agar/Caldo de Soya Tripticaseina		
Condiciones de crecimiento	37 °C y en condiciones aeróbicas		
Gram	Bacilos Gramnegativos		
Familia	Enterobacteriaceae		
Patogenicidad	No provoca riesgos al ser humano		

Tabla 1.2 Descripción de la cepa de E. coli ATCC 25922

Fuente: ATCC, 2014

1.2.1.2.2 Levaduras

Las levaduras son hongos unicelulares, las cuales se reproducen por gemación. Las levaduras pueden encontrarse flotando en aguas de ríos y son comunes en el agua residual, principalmente en aquellas fuertemente orgánicas que no solo contienen levaduras sino también hongos levaduriformes, siendo los géneros más frecuentes *Saccharomyces, Candida* y *Rhodotorula*. Regularmente la concentración de bacterias es muy superior al de las levaduras, pero en los vertidos de la industria cervecera y láctica, la proporción de levaduras se incrementa y puede llegar a ser superior al de las bacterias (De la Lanza-Espino, 1999; Galvín, 2003; Botello, 2005).

Dentro de las especies de levaduras, la más frecuente y patógena desde el punto de vista médico-odontológico es *Candida albicans,* la cual se ubica dentro de los Acomicetos en la familia *Cryptococcaceae.* Forma parte de la microbiota oral complementaria y también puede encontrarse principalmente en las membranas mucosas del tracto gastrointestinal y de la vagina y en el tracto respiratorio. Es un patógeno oportunista de la flora microbiana de las personas, ya que aprovecha

cualquier alteración de las defensas para producir manifestaciones clínicas (Posadas y García-Novo, 1998; Cennelier, 1999; Negroni, 2009).

Esta levadura resiste un poco más que las bacterias en estado vegetativo la acción de algunos antisépticos, es sensible a compuestos yodados y a otros halógenos, como el cloro. Además de resistir bastante en el ambiente, los cultivos en agua destilada pueden alcanzar una supervivencia de 2 años (Negroni, 2009).

C. albicans, es causante de alergias cutáneas, oculares y de mucosas. Aunque también puede causar infecciones sistemáticas graves a pacientes inmunocomprometidos (Posadas y García-Novo, 1998; Negroni, 2009).

Para el presente trabajo se utilizó una cepa de *C. albicans* ATCC 10231 con las características mostradas en la tabla 1.3.

Nombre	Candida albicans (Robin) Berkhout		
Propiedades antigénicas	Serotipo A		
Descripción	Crece invasivamente en ratón. Causa broncomicosis		
	Morfología y microscopía de cepas sectorizadas		
	Composición lipídica		
	Microscopía ultravioleta		
Medio de siembra	Medio de agar malta extracto de levadura		
	Medio m-1		
Condiciones de crecimiento	25 °C y en condiciones aeróbicas		
Gram	Grampositivo		
Familia	Cryptococcaceae		
Patogenicidad	Puede producir infecciones superficiales que afectan a piel,		
	uñas y mucosas.		

Tabla 1.3 Descr	pción de la	cepa de C	. albicans ATCC	210231
-----------------	-------------	-----------	-----------------	--------

Fuente: ATCC, 2014b

1.2.1.2.3 Consorcio microbiano

En microbiología ambiental se suele hacer referencia a consorcio, para referirse a comunidades microbianas que en conjunto son capaces de colonizar determinados sistemas. Los sistemas colonizados por los microorganismos son tan variados, como la propia biodiversidad; pudiendo colonizar superficies externas y/o internas de organismos superiores, mientras otros llevan una vida libre en el ambiente (Cavallini, 2005).

Las asociaciones entre los microorganismos pueden ser neutrales, beneficiosas o perjudiciales para al menos uno de los organismos involucrados. Las asociaciones benéficas se clasifican en mutualismo o comensalismo, mientras las negativas incluyen la depredación, el parasitismo y la competitividad por el propio nicho de crecimiento. La neutralidad es poco frecuente, aunque se puede producir cuando la densidad de población es baja y se refiere a cuando dos poblaciones se encuentran simultáneamente en el ambiente, sin que exista interacción entre ellas (Cavallini, 2005).

Al encontrarse la *E. coli* y la *C. albicans* en conjunto, colonizando sistemas como el tracto gastrointestinal de organismos superiores, ríos y agua residual municipal, puede considerarse como un consorcio microbiano.

1.2.2 Sistemas de tratamiento del Agua Residual Municipal (ARM)

El tratamiento del ARM consiste en una serie de procesos físicos, químicos y biológicos que tienen como finalidad eliminar la mayor cantidad de contaminantes posibles. El objetivo del tratamiento es producir agua limpia y dependiendo de su calidad, puede llegar a ser potable o de uso agrícola. Un subproducto de dicho tratamiento son los lodos generados que dependiendo de su composición pueden ser reutilizados.
FUNDAMENTOS

Comúnmente, el tratamiento de aguas residuales comienza por la separación física de sólidos grandes (basura) de la corriente de aguas domésticas o industriales, empleando para ello un sistema de rejillas (mallas), aunque también pueden ser triturados esos materiales por un equipo especial; posteriormente se aplica un desarenado (separación de sólidos pequeños muy densos como la arena), seguido de una sedimentación primaria (o tratamiento similar), que separe los sólidos suspendidos existentes en el agua residual. A continuación, sigue la conversión progresiva de la materia biológica disuelta a una masa biológica sólida, utilizando las bacterias adecuadas generalmente presentes en estas aguas. Una vez que la masa biológica es separada o removida (proceso llamado sedimentación secundaria), el agua tratada puede experimentar otros procesos adicionales (tratamiento terciario) como desinfección, filtración, por mencionar algunos de ellos (Ramalho, 2012).

En resumen, un proceso de tratamiento de aguas residuales básicamente consta de las siguientes etapas (Ramalho, 2012):

- a) Tratamiento primario, que se refiere a la sedimentación de sólidos.
- b) Tratamiento secundario, para llevar a cabo un tratamiento biológico de la materia orgánica disuelta presente en el agua residual, transformándola en sólidos suspendidos que se eliminan fácilmente
- c) Tratamiento terciario, que es en donde se define la calidad de agua tratada, empleando lagunas de estabilización, micro filtración o desinfección.

1.3 Procesos de desinfección

La remoción o inactivación de los agentes microbianos patógenos es el último paso en el tratamiento de las aguas residuales. Para llevar esto a cabo se utilizan tanto agentes físicos como químicos, que incluyen el cloro y sus derivados, AgNO₃, luz UV y ozonización como los más frecuentes (Rivera-Garza *et al.*, 2000; Ramalho, 2012).

El tratamiento con cloro sigue siendo la forma más común de desinfección de las aguas residuales en México, debido a su bajo costo y a su eficacia. Una desventaja es que la desinfección con cloro puede generar compuestos organoclorados que pueden ser carcinógenos o dañinos al ambiente. Las cloraminas residuales, puede interaccionar en el ambiente acuático natural. La cloramina es tóxica para especies acuáticas, por lo que el efluente tratado debe ser químicamente desclorinado, agregándose complejidad y costo al tratamiento (García-Rojas *et al.*, 2012).

En el tratamiento con UV, la radiación UV se utiliza para dañar la estructura genética de las bacterias, virus, y otros patógenos, haciéndolos incapaces de reproducirse. Las desventajas de la desinfección UV son la necesidad del mantenimiento y del reemplazo frecuente de la lámpara y tener un efluente altamente tratado, para asegurarse de que los microorganismos no estén protegidos de la radiación UV (es decir, cualquier sólido presente en el efluente tratado puede proteger microorganismos contra la luz UV).

En la ozonización, el ozono (O₃) es generado, pasando el oxígeno a través de un potencial de alto voltaje, resultando un tercer átomo de oxígeno que al combinarse con el O₂ da origen al O₃. El ozono es muy inestable y reactivo, oxida la mayoría del material orgánico con que entra en contacto de tal manera que destruye muchos microorganismos causantes de enfermedades. Se considera que el ozono es más seguro que la cloramina, porque mientras que ésta tiene que ser almacenada en el sitio (altamente venenosa, en caso de una liberación accidental), el ozono es dosificado según se requiera. La ozonización también produce pocos subproductos de la desinfección con respecto al cloro. Una desventaja de la desinfección por ozono, es el alto costo del equipo para su generación y que la capacitación de los operadores, es elevada (García-Rojas *et al.*, 2012).

Sin embargo, a pesar de que los métodos como la cloración y la ozonización, son pasos esenciales en el tratamiento de aguas para el control de organismos patógenos,

diversos microorganismos han mostrado resistencia a agentes antibacteriales, como es *Staphylococus aureus* (Inoue *et al.*, 2002); o la contaminación con *Vibro cholerae* que es difícil de controlar químicamente (Krishnani *et al.*, 2012). Además, a pesar de su eficacia en la desinfección estos potentes oxidantes pueden reaccionar con la materia orgánica natural formando un amplio rango de subproductos de la desinfección, algunos de los cuales han sido identificados como carcinogénicos (Lin *et al.*, 2013).

Esto hace necesario el encontrar nuevos mecanismos para el control de la contaminación del agua con una buena relación costo – eficiencia, que además tengan una alta resistencia al calor, radiación y a la acción mecánica (Inoue *et al.*, 2002) y reduzcan al mínimo la generación de subproductos de la desinfección (Krishnani *et al.*, 2012; Lin *et al.*, 2013). Los compuestos inorgánicos pueden satisfacer estos requerimientos de los cuales se han identificado diversos compuestos como los metales que muestran propiedades microbicidas (Top y Ülkü, 2004; Hu y Xia, 2006; Hrenovic *et al.*, 2012b).

Es conocido que algunos elementos metálicos, como la plata, zinc, cobre, mercurio, estaño, plomo, bismuto, cadmio, cromo y talio, poseen propiedades antibacteriales (Top y Ülkü, 2004).

1.3.1 La plata

1.3.1.1 Propiedades de la plata

La plata es un metal blanco y dúctil que existe de manera natural, regularmente se encuentra depositado como un mineral o en asociación con otros elementos.

Algunos compuestos de la plata son extremadamente fotosensibles y son estables en el aire y agua, sin embargo, cuando están expuestos a compuestos de azufre pueden reaccionar con ellos.

La plata metálica es insoluble en el agua, pero muchas sales de plata, como el nitrato de plata (AgNO₃) son solubles. En el ambiente natural la plata aparece principalmente en forma de sulfuro (Ag₂S) o es inmediatamente asociada con otros sulfuros metálicos, especialmente los de plomo, cobre, hierro y oro que son esencialmente insolubles. Los iones de plata monovalente (Ag⁺) son escasos o insignificantes en el ambiente natural. La plata rápidamente forma compuestos con el antimonio, arsénico, selenio y telurio (Howe y Dobson, 2002).

1.3.1.2 La plata y su efecto microbicida

En los últimos años, se han llevado a cabo numerosos estudios sobre los efectos que tiene la plata como agente microbicida, sobre organismos indicadores de la calidad del agua y agentes patógenos para la salud humana (De la Rosa-Gómez *et al.*, 2008a; Zodrow *et al.*, 2009; De Gusseme *et al.*, 2011; Rossainz-Castro, 2013).

Los iones de plata pueden ser acondicionados con una amplia variedad de materiales los cuales han sido probados para la eliminación de microorganismos patógenos en el agua (De la Rosa-Gómez *et al.*, 2008b; Rai *et al.*, 2009; Zodrow *et al.*, 2009; De Gusseme *et al.*, 2011; Krishnani *et al.*, 2012; Lin *et al.*, 2013; Lalley *et al.*, 2014), y aunque los iones de plata han mostrado efectividad en la eliminación de los microorganismos el material en el que se soportan interfiere con la eficiencia del proceso. Estudios realizados utilizando membranas poliméricas conteniendo nano partículas de plata lo cual repercute en el rendimiento del proceso además de en algunos casos son requeridos tiempos de retención superiores a una hora (Zodrow *et al.*, 2009; De Gusseme *et al.*, 2011).

Algunos procesos que utilizan otros materiales de soporte como perlas fabricadas de alginato, resina o polímeros sintéticos, o material zeolítico conteniendo iones de plata, han mostrado una buena eficacia en el proceso de desinfección de agua en flujo continuo, además de permitir una liberación adecuada de los iones de plata, sin embargo los primeros han mostrado que parte de este efecto microbicida se puede atribuir a un proceso de adsorción – filtración de los microorganismos aunque en su mayoría depende de los iones de plata contenidos en estos (De la Rosa-Gómez *et al.*, 2008a; Mthombeni *et al.*, 2012; Lin *et al.*, 2013; Lalley *et al.*, 2014).

Además, se han realizado estudios utilizando como soporte de nanopartículas de plata a nanotubos de dióxido de titanio, los cuales muestran una buena eficiencia en la desinfección de *Mycobacterium smegmatis* en periodos de tiempo de 5 a 30 minutos, sin embargo muestran una rápida pérdida de las nanopartículas de plata impregnadas (Brugnera *et al.*, 2014).

Hoy en día, la plata se utiliza para controlar el crecimiento microbiano en una gran variedad de aplicaciones, como trabajos dentales y heridas por quemaduras. Agregando una alta concentración (milimolar) de iones de Ag⁺, se inhibe un gran número de reacciones enzimáticas, reaccionando con un grupo donador de electrones principalmente con grupos sulfhídricos. Aunque el mecanismo molecular de estos iones, a concentraciones menores (micro molar), es controversial.

Son tres los mecanismos más comúnmente propuestos para explicar la toxicidad de la Ag: absorción de los iones libres de plata seguido de la interrupción en la producción de ATP y la replicación del ADN, generación de especies reactivas de oxígeno (ERO), y daño directo a la membrana celular por iones y nanopartículas de plata (Figura 1.1) (Marambio-Jones y Hoek, 2010).



Fuente: Marambio-Jones y Hoek, 2010

Figura 1.1 Mecanismos propuestos sobre la interacción de la plata con las células bacterianas.

Diversos trabajos han comprobado a través del estudio por microscopía electrónica de transmisión filtrada en energías (EFTEM) el efecto microbicida de los iones de Ag, demostrando que los iones de plata se infiltran en el interior de la célula de *E. coli* interactuando con el ribosoma celular y con enzimas de la cadena respiratoria como la NADH deshidrogenasa, causando el desacoplamiento del proceso de respiración para la formación Adenosín Trifosfato (ATP). La interacción con proteínas encargadas de la respiración y del transporte dentro de la célula, se debe a la alta afinidad de la Ag⁺ con el grupo Tiol presente en los residuos de cisteína de estas proteínas (Yamanaka *et al.*, 2005; Park *et al.*, 2009; Marambio-Jones y Hoek, 2010; Xiu *et al.*, 2011, 2012).

Inoue *et al.* (2002) encontró que el oxígeno, es un componente indispensable para que se promueva el efecto microbicida de la ZAg y que a condiciones anaeróbicas este efecto se ve disminuido, debido a que el efecto microbicida de la ZAg se debe a la formación de aniones superóxidos y peróxido de hidrógeno que tienen un efecto microbicida sobre las células de *E. coli*. Sin embargo, la cantidad de aniones superóxidos y peróxidos por la adición de ZAg no son suficientes para disminuir significativamente el efecto de las células viables de *E. coli* (Inoue *et al.*, 2002). Aunque las ERO son un subproducto natural de la respiración de los

FUNDAMENTOS

organismos, a bajos niveles estas son controladas por las defensas antioxidantes de las células como la relación Glucatión y Glucatión disulfuro, ya que el exceso de ERO dentro de la célula puede causar estrés oxidativo. Iones metálicos como la Ag pueden actuar como catalizadores en la generación de ERO en presencia de oxígeno disuelto, en este contexto los iones de plata pueden catalizar reacciones con oxígeno llevando a una producción en exceso de radicales libres los cuales pueden atacar los lípidos en de la membrana celular llevando a una ruptura de la membrana y de la función mitocondrial o a un daño del ADN. Estudios llevados a cabo en células eucariotas sugieren que los iones de plata inhiben la acción antioxidante de la célula interactuando directamente con el Glucatión, lo que disminuye la relación Glucatión/Glucatión disulfuro incrementando subsecuentemente las ERO en la célula. La generación de ERO al interior de la célula contribuyen en por lo menos la mitad del efecto bactericida (Mendis *et al.*, 2005; Yamanaka *et al.*, 2005; Carlson *et al.*, 2008; Park *et al.*, 2009; Marambio-Jones y Hoek, 2010).

lones y nanopartículas de plata interactúan con la membrana celular y se encuentran libres de entrar en la célula. El mecanismo por el cual la plata interactúa con la membrana citoplasmática no está completamente determinado. Una posible hipótesis es la interacción electrostática entre la membrana celular cargada negativamente y los iones o nanoparticulas de plata cargados positivamente. Otro posible mecanismo por el que la plata causa daño a la membrana es el cambio de la permeabilidad de la membrana por la liberación progresiva de moléculas de lipopolisacáridos y proteínas de la membrana. Este mecanismo puede ser bastante general para los microorganismos Gramnegativos (Kusnetsov *et al.*, 2001; Raffi *et al.*, 2008; Marambio-Jones y Hoek, 2010).

1.3.1.3 Niveles máximos permitidos de plata

En México, la normatividad marca que la cantidad máxima contenida de plata en agua para consumo humano debe ser menor a 50 μ g/L (NOM-041-SSA1-1993, 1995).

Las mediciones más recientes de plata que se han hecho en ríos, lagos y estuarios usando técnicas limpias, han mostrado niveles de aproximadamente 0.01 μ g/L en áreas sin contaminación y de 0.01 a 0.1 μ g/L en áreas urbanas e industrializadas.

Los movimientos biogeoquímicos de la plata han sido determinados por las descargas a la atmósfera, agua y tierra por fuentes naturales o antropogénicas. El conocimiento de las especies de la plata y su biodisponibilidad es crucial para entender el riesgo potencial que éstas representan a la salud. La medición de los iones libres de plata es el único método directo que puede ser usado para evaluar acertadamente los efectos sobre los organismos (Howe y Dobson, 2002).

1.3.2 El cobre

1.3.2.1 Propiedades del cobre

El cobre es un metal de transición color rojizo y brillo metálico, que junto con la plata y el oro forma parte de la llamada familia del cobre. Es uno de los elementos más abundantes en la corteza terrestre y puede presentarse como metal, en sulfuros, óxidos, carbonatos, entre otros. Sus estados de oxidación van desde Cu (0) hasta Cu (IV) pasando por todos sus estados intermedios.

Los estados de oxidación 0 y IV son poco frecuentes, y el estado de oxidación Cu (III) también se considera poco común. Los estados de oxidación Cu (I) y Cu (II) son los más frecuentes. Siendo el más estable de ambos el Cu (II) en condiciones normales (Balboa-Benavente, 2007).

1.3.2.2 El cobre y su efecto microbicida

El cobre metálico presenta propiedades antibacterianas (Burrola-Aguilar, 2004; Top y Ülkü, 2004) y durante mucho tiempo la medicina popular lo ha empleado en forma de brazaletes y ungüentos para tratar el dolor de músculos (Balboa-Benavente, 2007).

Diversos estudios se han realizado en los últimos años utilizando el cobre en forma de nano partículas, como óxidos de metal o en su forma iónica para la eliminación de diversos microorganismos patógenos como *E. coli, Staphylococcus aureus, Paramecium caudatum, Euplotes affinis y Pseudomonas aeruginosa* (Burrola-Aguilar, 2004; Top y Ülkü, 2004; Drelich *et al.*, 2011; Hrenovic *et al.*, 2012a). Iones metálicos pueden actuar como catalizadores en la generación de ERO en presencia de oxígeno disuelto, de esta manera uno de los posibles mecanismos de acción del cobre sobre los microorganismos puede ser a través de la formación de ERO dentro de la célula causando estrés oxidativo dentro de la célula como se explicó anteriormente (Marambio-Jones y Hoek, 2010).

Y aunque el cobre ha mostrado eficiencia en la eliminación de los microorganismos patógenos no se han realizado estudios que comprendan la utilización de aguas conteniendo iones que puedan interferir con su efecto microbicida (Burrola-Aguilar, 2004; Top y Ülkü, 2004; Drelich *et al.*, 2011; Hrenovic *et al.*, 2012a).

1.3.2.3 Niveles máximos permitidos de cobre

En México, la normatividad marca que la cantidad máxima contenida de cobre en aguas debe ser menor a 2 mg/L (NOM-127-SSA1-1994, 2000).

A pesar de ser un elemento traza esencial, el cobre puede ser también significativamente tóxico, siendo en ocasiones los márgenes entre las concentraciones

necesarias para un correcto metabolismo y las que originan perturbaciones en el mismo muy reducidos (Balboa-Benavente, 2007).

1.3.3 Zeolitas

1.3.3.1 Propiedades de las Zeolitas

Las zeolitas pueden ser naturales o sintéticas y son aluminosilicatos cristalinos hidratados, con propiedades de adsorción e intercambio iónico (Concepción-Rosabal *et al.*, 2005; Bosch *et al.*, 2011).

Una de las propiedades más importantes de las zeolitas es la presencia de un sistema de poros y canales en su estructura. La localización y dimensiones de estos canales son importantes en los procesos de sorción y catálisis. Además, estos canales pueden presentarse de forma unidimensional, bidimensional y tridimensional. Si el sistema es tridimensional, un catión o molécula de tamaño apropiado se puede difundir a cualquier sitio dentro del cristal, si es bidimensional, la molécula solo puede moverse en el plano; y si se trata de un sistema unidimensional el movimiento es posible en una sola dirección.

La zeolita tiene una porosidad natural debido a su estructura cristalina con ventanas, cavidades y supercavidades. Las zeolitas naturales tienen ventanas de tamaño limitado (tamaño de poro) y son hidrofílicas (tienen afinidad por el agua), aunque algunas zeolitas sintéticas se parecen al carbón, ya que se pueden considerar hidrofóbicas (tienen afinidad por compuestos orgánicos, con poca o ninguna afinidad por el agua) y pueden adsorber vapores orgánicos con moléculas de tamaño más pequeño que el de sus poros. La zeolita tiene un tamaño de poro uniforme, lo cual hace que se le denomine como tamiz molecular, mientras que los carbones, tienen poros de tamaños variables (Bosch *et al.,* 2011; EPA, 2012).

1.3.3.2 Localización de yacimientos zeolíticos en México

Las manifestaciones de rocas zeolíticas más estudiadas y posiblemente de mayor importancia en México, son las de Oaxaca y Sonora, que contienen las siguientes cantidades de zeolitas:

Oaxaca, Municipio Laollaga: 15,120,000 toneladas (clinoptilolita, Modernita) Sonora, El Cajón: 10,000,000 toneladas (clinoptilolita) Sonora, Agua Prieta: 3,000,000 toneladas (erionita)

Existen otros depósitos en los estados de San Luis Potosí (El Chap Ben - 2,708,000 toneladas, Clinoptilolita), Guanajuato, Puebla, Michoacán y posiblemente también en Tlaxcala, Veracruz, Guerrero (Ostroumov *et al.*, 2003; Acton, 2012).

1.3.3.3 Clinoptilolita

La clinoptilolita es un aluminosilicato de sodio, potasio y calcio hidratado, que tiene la formula molecular (Na, K, Ca_{0.5}, Sr_{0.5}, Ba_{0.5}, Mg_{0.5})₆ [Al₆Si₃₀O₇₂]·20H₂O. Es una zeolita perteneciente a la familia de la heulandita, junto con la laumontita y la modernita, entre otras. La composición química de las series heulandita-clinoptilolita (heu-clino) se caracterizan por cambios marcados en la relación Si/Al, así como en la composición de cationes intercambiables. Los miembros de estas series se distinguen de acuerdo a su contenido de sílica (alta sílica y baja sílica). Las zeolitas de baja sílica son ricas en K⁺, Na⁺ y Mg²⁺. De los cationes de metales alcalinos, el potasio es el más común en la clinoptilolita, aunque algunas existen en la naturaleza con alto contenido de sodio (Bosch *et al.*, 2011).

En dos estudios realizados con base en la clinoptilolita mexicana de Sonora y Taxco, se encontró la composición elemental que se presentan en las Tablas 1.4 y 1.5.

Elemento	% peso
0	39.81 ± 2.58
Na	0.13 ± 0.03
Mg	1.04 ± 0.21
AI	7.82 ± 0.13
Si	36.47 ± 1.16
К	0.85 ± 0.11
Са	6.35 ± 0.74
Ті	0.68 ± 0.68
Fe	6.82 ± 2.82

Tabla 1.4 Caracterización de la clinoptilolita - heulandita de Sonora.

Fuente: De la Rosa-Gómez et al., 2008a

Tabla 1.5 Caracterización de la clinoptilolita-heulandita de Taxco.

Componente	% peso
SiO ₂	66.2
Al ₂ O ₃	9.7
Fe ₂ O ₃	1.5
MgO	4.5
CaO	2.9
Na ₂ O	0.5
K ₂ O	3.7
H ₂ O	11.0
MgO CaO Na ₂ O K ₂ O H ₂ O	4.5 2.9 0.5 3.7 11.0

Fuente: Rivera-Garza et al., 2000

1.3.3.4 Capacidad de intercambio iónico y selectividad de la zeolita

Las zeolitas naturales poseen estructuras microporosas bien definidas, que constan de un andamiaje formado por tetraedros de [SiO₄]⁴⁻ y [AlO₄]⁵⁻, unidos a través de los átomos de oxígeno en los vértices. El andamiaje contiene canales y cavidades con dimensiones moleculares de 3 a 10 Å, ocupadas por cationes metálicos alcalinos o alcalinotérreos y moléculas de agua. Los tetraedros de [SiO₄]⁴⁻ son eléctricamente

neutros cuando se conectan entre sí, en un retículo tridimensional como el cuarzo. Sin embargo, la sustitución de Si (IV) por Al (III) crea un desequilibrio de carga y ocasiona que cada tetraedro de [AlO₄]⁵⁻ tenga una carga negativa (sitio catiónico). La neutralidad total de la estructura de la zeolita se preserva equilibrando cada tetraedro de [AlO₄]⁵⁻ con una carga positiva que la proporcionan los cationes intercambiables (K⁺, Na⁺, Ca²⁺, Mg²⁺), unidos electrostáticamente a la estructura de la zeolita. Estos cationes tienen una gran libertad de movimiento y pueden ser intercambiados por otros cationes (Ramos, 2004; Bosch *et al.*, 2011).

El consumo de zeolitas naturales se ha incrementado debido principalmente, a la demanda de materiales baratos como intercambiadores iónicos y adsorbentes. Las zeolitas tienen importantes aplicaciones industriales, como desecantes o deshidratantes por su gran afinidad por el agua; como tamices moleculares por sus canales y cavidades que solo permiten el paso de moléculas de un determinado tamaño y como intercambiadores iónicos por sus sitios catiónicos (Ramos, 2004).

La capacidad de intercambio iónico de una zeolita es una magnitud que da una medida del monto de equivalentes de un catión que es capaz de retener, por intercambio iónico, una masa de zeolita. Esta capacidad está directamente relacionada con la cantidad de Al presente en la red zeolítica y depende directamente de su composición química. Una alta capacidad de intercambio iónico corresponde a zeolitas con baja relación SiO₂/Al₂O₃. El comportamiento del intercambio iónico en las zeolitas, depende de varios factores que determinan una mayor selectividad, hacia determinados cationes, siendo (Rodríguez-Fuentes e Iznaga, 2002):

- a) Naturaleza de los cationes: tamaño, carga, forma.
- b) Temperatura
- c) Concentración de los cationes en solución.
- d) Aniones asociados con los cationes en solución.
- e) Solvente: agua, solventes orgánicos
- f) Estructura de la zeolita: topología de la red, densidad de carga.

También la composición de la roca zeolítica, así como sus tratamientos químicos y físicos, juegan un papel importante dentro de su capacidad de intercambio iónico. Un significativo número de estudios ha sugerido, que un pretratamiento de las rocas zeolíticas puede aumentar su capacidad de intercambio iónico. Estos cationes tienen diferentes propiedades de intercambio para cada ambiente y es por esto que es recomendado un pre-tratamiento para alcanzar un estado final homoiónico, mejorando su capacidad de intercambio efectiva (Díaz-Nava *et al.*, 2005).

Top y Ülkü, (2004), realizaron un estudio sobre la selectividad de la zeolita de Gördes (al oeste de Anatolia), la cual fue caracterizada, mostrando los componentes de la Tabla 1.6.

Tras haber llevado a cabo un pre-tratamiento para el mismo tipo de zeolita con solución de NaCl y ponerla en contacto con soluciones de AgNO₃, Zn(NO₃)₂·5H₂O y Cu(NO₃)₂·2.5H₂O, se observó que la Na-clinoptilolita presenta una selectividad hacia los iones de Ag (Top y Ülkü, 2004).

Componente	% peso
SiO ₂	66.36
Al ₂ O ₃	11.36
Fe ₂ O ₃	1.227
MgO	0.42
CaO	2.344
Na ₂ O	0.998
K ₂ O	3.844
H ₂ O	14.22

Tabla 1.6 Caracterización de la Zeolita de Gördes.

Fuente: Top y Ülkü, 2004

1.3.3.5 Acondicionamiento de la clinoptilolita con iones plata y cobre

Un interesante avance en las técnicas de acondicionamiento de las zeolitas ha sido el descubrimiento de varios agentes microbiológicos que tienen como base zeolitas tanto naturales como sintéticas. Uno muy importante es la zeolita acondicionada con Ag, ya que el elemento metálico posee una alta actividad antibacterial, alta estabilidad y un amplio espectro bacteriano (Concepción-Rosabal *et al.*, 2005; De la Rosa-Gómez *et al.*, 2008a; Hrenovic *et al.*, 2012b).

Para la preparación de dichos materiales, la zeolita se usa como intercambiador iónico y lento dispersor de los iones de Ag⁺ y Cu²⁺ (Concepción-Rosabal *et al.*, 2005; Li *et al.*, 2012).

En solución de AgNO₃ y CuCl₂, los cationes de Ag⁺ y Cu²⁺ pueden ser intercambiados, debido a la capacidad de intercambio iónico que tienen las zeolitas naturales, las cuales cuentan con una serie de cationes intercambiables como K⁺, Na⁺, Ca⁺², Mg⁺² (Ramos, 2004). Se han llevado a cabo numerosos estudios que indican que un pretratamiento en la zeolita con NaCl, aumenta su capacidad de intercambio iónico (Rivera-Garza *et al.*, 2000; Inoue *et al.*, 2002; Top y Ülkü, 2004; Concepción-Rosabal *et al.*, 2005; Díaz-Nava *et al.*, 2005; De la Rosa-Gómez *et al.*, 2008a).

1.3.3.6 Uso de la zeolita en la desinfección del agua

En los últimos 20 años se han realizado importantes investigaciones referentes al uso de zeolitas, tanto naturales como sintéticas (A, X, Y, Z y clinoptilolita), acondicionadas con iones metálicos (Ag, Cu, Fe, Zn, Hg, Sn, Pb, Bi, Cd, Cr, Ti) los cuales presentan un efecto microbicida para la desinfección del agua (Rivera-Garza *et al.*, 2000; Burrola-Aguilar, 2004; Lee *et al.*, 2008; Hrenovic *et al.*, 2012b; Rossainz-Castro, 2013). Se ha reportado por ejemplo que la zeolita acondicionada con plata o cobre puede eliminar microorganismos patógenos como *E. coli, S. faecalis y Staphylococcus aureus* del

agua. Sin embargo, es bien sabido que las variaciones en la pureza y composición, así como la existencia de algunas impurezas dentro de estos materiales, son directamente reflejadas en su capacidad de intercambio iónico (Rivera-Garza *et al.*, 2000; De la Rosa-Gómez *et al.*, 2008a; Orha *et al.*, 2008; Hrenovic *et al.*, 2012a).

Los trabajos realizados hasta ahora se han enfocado principalmente en la desinfección del agua, utilizando sistemas por lotes, logrando comprobar el efecto microbicida de la zeolita acondicionada con plata (ZAg) frente a indicadores microbianos como *E. coli, S. faecalis y S. typhi* y de la zeolita acondicionada con cobre (ZCu) frente a indicadores microbianos como *E. coli, S. faecalis y S. aureus,* a diferentes periodos de tiempo (Rivera-Garza *et al.,* 2000; Concepción-Rosabal *et al.,* 2005; Magaña *et al.,* 2008; Orha *et al.,* 2008; Guerra *et al.,* 2012; Hrenovic *et al.,* 2012b; Li *et al.,* 2012).

Diversos trabajos se han enfocado a la desinfección del agua residual en un sistema en flujo continuo utilizando diversos iones metálicos (Ag⁺, Ni²⁺, Zn²⁺, Fe³⁺ y Cu²⁺) contenidos en diversos materiales de soporte (Milán *et al.*, 2001; De la Rosa-Gómez *et al.*, 2008a; Mthombeni *et al.*, 2012; Quang *et al.*, 2013; Akhigbe *et al.*, 2016). Sin embargo, pocos se enfocan al uso de materiales zeolíticos conteniendo iones Ag (De la Rosa-Gómez *et al.*, 2008a; Akhigbe *et al.*, 2016). De la Rosa-Gómez *et al.* (2008a), propuso el uso de un sistema en flujo continuo, empleando una columna empacada con ZAg, como método para la desinfección de aguas residuales no cloradas, provenientes de una planta tratadora de agua ubicada en el valle de Toluca. Este trabajo reporta que existe una disminución de la capacidad microbicida de la ZAg, debida a los componentes asociados a las ARM, ya que pueden estar interactuando los compuestos orgánicos e inorgánicos con los iones Ag⁺ (iones amonio o cloruro).

Algunos estudios se han realizado para verificar la inhibición de la toxicidad de las nanoparticulas de plata sobre los microorganismos, en presencia de algunos componentes de agua residual (SO₄²⁻, S²⁻, Cl⁻, PO₄³⁻, EDTA⁻, Mg²⁺, Ca²⁺, Na⁺), encontrando que todos estos iones inhiben en mayor o menor medida el efecto tóxico

de la plata sobre los microorganismos, sin embargo debido a su disponibilidad en las aguas residuales y su rápida reacción con los iones Ag⁺ para formar ligandos se considera al ion Cl⁻ como el más importante inhibidor (Choi *et al.*, 2009; Zhang *et al.*, 2012), debido a que remueve a la plata disponible en el agua por precipitación (Wang *et al.*, 2003).

Matsumura *et al.* (2003) realizaron una investigación sobre el efecto inhibidor que presentaban varias sustancias sobre la actividad microbicida de la ZAg encontrando que L-cisteína (1 mM y 5 mM), L-histidina (5 mM y 50 mM), albumina de suero bovino (0.01%), extracto de levadura (0.1%), NaCl (100 mM), MgSO₄ (1 mM), MnSO₄ (1 mM), EDTA (5 mMb) y FeSO₄ (1 mMb) disminuyen el efecto microbicida de la ZAg, mientras que el 2,2'-dipiridilo (1 mM), o-fenantrolina (1 mM) y FeSO₄ (1 mM) incrementan este efecto.

Un trabajo precedente a esta investigación analizó el efecto que diversos compuestos inorgánicos contenidos en las ARM, tienen sobre la acción bactericida de la ZAg, encontrando que el principal interferente en la acción bactericida de la ZAg son los iones Cl⁻ al precipitar los iones de Ag⁺ en forma de AgCl, que los aniones NO₃⁻, NO₂⁻ y SO₄⁻ no presentan efecto sobre la ZAg y que los cationes Na⁺ y K⁺ incrementan el efecto bactericida al aumentar la cantidad de iones Ag⁺ desorbidos (Rossainz-Castro, 2013).

Por lo anterior, se hace necesario conocer más sobre los compuestos orgánicos e inorgánicos que pueden inhibir el efecto microbicida de la ZAg, la forma de eliminarlos o disminuirlos para potenciar el efecto de la ZAg en el tratamiento de las ARM y el uso de la ZCu como una alternativa de tratamiento.

1.4 Procesos de adsorción

Es el proceso en el cual las moléculas se concentran en una capa interfacial. Si las moléculas penetran al interior de la fase sólida, el proceso es conocido como absorción. El término sorción generalmente es utilizado cuando los procesos de adsorción y absorción ocurren simultáneamente y no se pueden distinguir uno de otro, mientras que, si la adsorción de una o varias especies iónicas es acompañada por la desorción simultánea de una cantidad equivalente de especies iónicas, el proceso se denomina como intercambio iónico (Dąbrowski, 2001; Agouborde-Manosalva, 2008). Una representación esquemática de dichos procesos se observa en la Figura 1.2



Fuente: Agouborde-Manosalva, 2008 Figura 1.2 Procesos de adsorción, absorción e intercambio iónico

Mediante este proceso se retiran los componentes no deseados de una mezcla fluida, además de que las cantidades retiradas pueden ser muy altas con respecto a otros métodos (Ruthven, 2003).

La mayor parte de los adsorbentes son materiales altamente porosos y la adsorción tiene lugar fundamentalmente sobre las paredes de los poros en puntos específicos.

La separación se produce debido a que diferencias de peso molecular o de polaridad dan lugar a que algunas moléculas se adhieren más fuertemente a la superficie que otras. En muchos casos el componente que se adsorbe (adsorbato) se fija tan fuertemente que permite una separación completa de dicho componente desde un fluido sin apenas adsorber otros componentes. El adsorbente puede regenerarse con el fin de obtener el adsorbato en forma concentrada o prácticamente pura (McCabe *et al.*, 2005).

La adsorción puede ser resultado de interacciones de Van der Waals (adsorción física o fisisorción) o puede ser resultado de procesos de carácter químico (adsorción química o quimisorción). La diferencia fundamental entre ambas es que en el caso de la fisisorción la especie adsorbida (fisisorbida) conserva su naturaleza química, mientras que durante la quimisorción la especie adsorbida (quimisorbida) sufre una transformación, dando lugar a una especie distinta (Treybal y Rodríguez, 1995; Agouborde-Manosalva, 2008).

En el caso del proceso de fisisorción es proceso fácilmente reversible, ya que se considera una interacción débil, y es el resultado de las fuerzas de atracción electrostáticas entre las moléculas del sólido y la sustancia adsorbida. En dicho proceso la sustancia absorbida no penetra dentro de la red cristalina ni se disuelve en ella, sino que permanece totalmente superficie. Si las fuerzas de Van der Waals justifican la asociación del adsorbato sobre la superficie, este proceso es del tipo de adsorción física. En este caso el proceso es de tipo exotérmico en donde el calor liberado es semejante a la entalpía de condensación de la sustancia adsorbida. Se conoce que la cantidad de materia adsorbida, en el caso de la adsorción física, se incrementa con la disminución de la temperatura. El proceso se interpreta como la acumulación de múltiples capas de sorbato sobre el adsorbente (Treybal y Rodríguez, 1995; Volesky, 2003; Agouborde-Manosalva, 2008).

La adsorción química o quimisorción es el resultado de la interacción química entre el sólido y la sustancia adsorbida. La fuerza de la unión química puede variar considerablemente y puede suceder que no se formen compuestos químicos en el sentido usual; pero, la fuerza de adhesión es generalmente mucho mayor que la

FUNDAMENTOS

observada en la adsorción física. Las moléculas adsorbidas se adhieren a la superficie por fuerzas de valencia (enlace covalente) del mismo tipo de los que se producen entre los átomos de una molécula. En este caso el calor de adsorción es grande, parecido al calor de reacción química, y frecuentemente el proceso es irreversible, la sustancia original sufre un cambio químico y presenta la formación de una monocapa del adsorbato sobre la superficie del adsorbente (Volesky, 2003; Agouborde-Manosalva, 2008).

En el proceso de adsorción intervienen las propiedades de los compuestos que se requiere extraer, las características del adsorbente y las condiciones de contacto entre las fases fluida y sólida. Propiedades del adsorbato tales como peso molecular, concentración, grupos funcionales, solubilidad en el líquido, al igual que las propiedades del sólido adsorbente (tales como distribución de tamaño de poros y los grupos químicos de superficie, entre otras) son determinantes en la mayor o menor afinidad del adsorbato por el sólido adsorbente (Agouborde-Manosalva, 2008).

El intercambio iónico es un proceso por medio del cual un sólido insoluble remueve iones de cargas positivas o negativas de una solución electrolítica y transfiere otros iones de carga similar a la solución en una cantidad equivalente. Este proceso ocurre sin que existan cambios estructurales en el sólido. El intercambio iónico es uno de los métodos considerado como exitoso y conveniente para la remoción de metales pesados presentes en aguas residuales. Un intercambiador iónico es un sólido capaz de intercambiar tanto cationes como aniones presentes en su estructura por los presentes en una solución que los rodea. Usualmente son utilizados intercambiadores iónicos sintéticos o resinas de intercambio. Si los sólidos intercambian iones positivos (cationes) se denominan intercambiadores catiónicos e intercambiadores aniónicos si intercambian iones negativos (aniones). La desventaja de este método es que no puede ser aplicado a soluciones demasiado concentradas, ya que la matriz se satura y es muy sensible a las variaciones de pH (Margineda *et al.*, 2005). Recientemente las técnicas de adsorción son reconocidas por su eficacia en la remoción de contaminantes que difícilmente son removidos por métodos convencionales. Las mayores ventajas de las técnicas de adsorción en el tratamiento de aguas residuales son su bajo costo de inversión inicial, un diseño simple y de fácil operación, poco gasto de energía, poca o nula generación de sustancias toxicas y una excelente remoción de compuestos orgánicos en comparación con los métodos tradicionales (Jena, 2004; Noroozi y Sorial, 2013).

1.5 Modelos cinéticos

Diversos modelos se han desarrollado para intentar predecir la acción de desactivación biológica de los desinfectantes, así como la cinética de adsorción de los materiales. Estos modelos se estudian en este apartado considerando su aplicación y si son procesos en lote o en flujo continuo.

1.5.1 Modelos de desinfección para procesos en lote

El proceso de desinfección del agua no es instantáneo, sino que se realiza progresivamente, a través del tiempo y se considera terminado cuando un 100% de los microorganismos que se tratan de destruir han muerto. En la tabla 1.7 se resumen los principales modelos aplicados a procesos de desinfección tipo lote.

Modelo	Ecuación
Chick	$Ln\left(\frac{N_t}{N_0}\right) = -kt$
Chick-Watson	$Ln\left(\frac{N_t}{N_0}\right) = -kC^t t$
Hom	$Ln\left(\frac{N_t}{N_0}\right) = -kC^n t^m$
Hom (modificado)	$Ln\left(\frac{N_t}{N_0}\right) = -k't^m$
Severin	$\frac{N_t}{N_0} = e^{-kct} \sum_{i=0}^{j-1} \frac{(kCt)^i}{il} - k't^m$
Haas	$Ln\left(\frac{N_t}{N_0}\right) = \left(\frac{m}{nk*}\right)^m k(C_0)^n \left[1 - exp\left(-\frac{nk*t}{m}\right)\right]^m$

Fuente: Burrola-Aguilar, 2004

Donde:

No= concentración inicial de microorganismos

Nt= concentración de microorganismos al tiempo t

C= concentración del desinfectante

k= constante del intervalo de reacción

m= constante empírica:

n= constante de dilución

k*= intervalo de decadencia residual de primer orden

j= número de reacciones colaterales

1.5.1.1 Modelo de Chick

Trabajos anteriores han mostrado que para procesos tipo lote el modelo que mejor ajusta a los datos obtenidos es el derivado de la ley de Chick (Burrola-Aguilar, 2004; De la Rosa-Gómez *et al.*, 2008b; Rossainz-Castro, 2013), el cual se explica con mayor detalle a continuación.

La velocidad de destrucción de los microorganismos ha sido comúnmente expresada por una ecuación cinética de primer orden, conocida como ley de Chick (Weber, 2003).

$$-\frac{dN}{dt} = kN \tag{1}$$

N = número de microorganismos

k = constante de velocidad

t = tiempo

De la integración de la ecuación anterior:

$$Ln\left(\frac{N}{N_0}\right) = -kt$$
 (2)

Reajustando la ecuación anterior:

$$Ln(N) = -kt + Ln(N_o)$$
(3)

Por lo tanto un gráfico de N/N_o frente al tiempo debería dar una línea recta para que los datos de desinfección concordaran con la ley de Chick (Weber, 2003).

La ley de Chick establece que la velocidad de destrucción bacteriana es directamente proporcional al número de microorganismos que sobreviven en un tiempo determinado (Weber, 2003; De la Rosa-Gómez, 2007).

1.5.1.2 Modelo de Chick-Watson

El tiempo de contacto es una de las variables más importantes en el proceso de desinfección. Observándose que, para una concentración dada de desinfectante, la

mortalidad de los microorganismos aumenta cuanto mayor sea el tiempo de contacto. Esto se puede observar de forma diferencial en la ecuación de Chick – Watson:

$$\frac{dN}{dt} = -kCN \qquad (4)$$

N = número de microorganismos

k = constante cinética

t = tiempo

C = concentración del desinfectante

De la integración de la ecuación anterior:

$$Ln\left(\frac{N}{N_0}\right) = -kCt \qquad (5)$$

El modelo de Chick – Watson está basado en la hipótesis de que las especies de microorganismos presentes en una muestra son genéticamente semejantes entre ellos, presentando así una sensibilidad uniforme al desinfectante utilizado. De esa forma, la relación entre el tiempo de contacto por concentración del desinfectante (Ct) y la inactivación microbiana (Ln (N/N_o)) es de tipo lineal (Figueiredo *et al.*, 2001). Por lo que el "Ct" puede considerarse como un factor representativo de la eficiencia del desinfectante, donde una disminución en los valores de "Ct" para una inactivación microbiana definida provocan un aumento en la pendiente (k) viéndose traducido en una mejora en la capacidad de inactivación del desinfectante sobre el microorganismo.

1.5.2 Modelo cinético de desinfección en flujo semi-continuo

El crecimiento de los microorganismos una vez pasado el punto de ruptura en los procesos de desinfección tiende a llegar a un tope máximo de crecimiento después del

cual la concentración de éstos en la solución se estabiliza, describiendo una curva de tipo "S" o sigmoidal.

Para el ajuste de los datos de flujo continuo se utilizó un modelo sigmoidal de regresión no lineal del cual se extrajeron los parámetros comparativos para los diferentes procesos de desinfección. Donde el modelo logístico de crecimiento de poblaciones fue el utilizado para tal fin (Mthombeni *et al.*, 2012), el cual se basa en la ecuación:

$$N_t = \frac{N_0}{1 + e^{-k(t - t_{50})}} \tag{6}$$

Nt = número de microorganismos en el tiempo "t"

N₀= concentración inicial de microorganismos

k = constante cinética de velocidad de crecimiento microbiano

t = tiempo

t₅₀ = tiempo medio de la curva de ruptura

Al usar una columna con un lecho fijo, el objetivo es reducir al máximo la concentración del contaminante. Donde para un lecho de masa determinado la eficiencia estará directamente relacionada con el volumen de agua procesado antes de llegar al punto de ruptura (punto en el cual la *E. coli* es detectado en el efluente de la columna). El número de volúmenes de agua tratados (BV, por sus siglas en inglés) está dado por la siguiente ecuación (NSF, 2002; Mthombeni *et al.*, 2012):

$$BV = \frac{Volumen \, de \, agua \, tratado \, hasta \, el \, punto \, de \, ruptura \, (L)}{Volumen \, del \, lecho \, del \, material \, desinf \, ectante \, (L)}$$
(7)

La tasa a la cual el material se agota indica que tan seguido el material tiene que ser remplazado y está directamente relacionado con los costos de operación, además de permitir comparar el agotamiento de los materiales utilizados en la presente investigación con los de otros materiales con la finalidad de verificar su factibilidad de uso. La tasa de agotamiento del material (AER, por sus siglas en inglés) se define

como la masa agotada del material desinfectante por el volumen de agua tratado al punto de ruptura, y se expresa con la ecuación (Mthombeni *et al.*, 2012):

$$AER = \frac{Masa \, del \, material \, desinfectante \, (g)}{Volumen \, de \, agua \, tratado \, al \, punto \, de \, ruptura \, (L)} \tag{8}$$

1.5.3 Modelos cinéticos de adsorción

La cinética de adsorción se refiere a la velocidad a la que ocurre la adsorción, donde la velocidad se define como el cambio de una cantidad de adsorbato durante un periodo especifico de tiempo (House, 2007).

La capacidad de adsorción de los materiales se ha evaluado, por lo general en sistemas en lotes, a partir de la determinación de la concentración residual del adsorbato en función de la capacidad de adsorción (qt) y el porciento de remoción en los procesos de adsorción, los cuales están dados por (Alarcón-Barrón, 2014; Valdez-Zarco, 2015):

$$q_t = \frac{(C_o - C_t)}{m} V \tag{9}$$

Donde:

 q_t = Capacidad de adsorción (mg/g)

C_o = Concentración inicial del adsorbato (mg/L)

Ct = Concentración final del adsorbato (mg/L)

V = Volumen de la solución (L)

m = masa del adsorbente (g)

$$\% remoción = \frac{C_i - C_f}{C_i} * 100$$
 (10)

Donde:

C_i = concentración inicial del adsorbato (mg/L)

C_f = concentración final del adsorbato (mg/L)

Así entonces para probar los datos experimentales e identificar los mecanismos que controlan la velocidad del proceso de adsorción, pueden ser usados modelos matemáticos. Los modelos de pseudo-primer orden, de pseudo-segundo orden y de difusión intra- partícula son los mayormente utilizados para describir la adsorción (Chang y Juang, 2004; Sun *et al.*, 2008; Wan-Ngah *et al.*, 2008).

1.5.3.1 Modelo de pseudo-primer orden de Lagergren

La ecuación de velocidad de Lagergren es una ecuación de velocidad, para describir la adsorción de un adsorbato de la fase liquida y se basa en la suposición de que a cada ion se le asigna un sitio de sorción del material sorbente y está dada por su ecuación general:

$$\frac{dq_t}{d_t} = k_1(q_e - q_t) \tag{11}$$

Al integrar la ecuación anterior:

$$q_t = q_e (1 - e^{-k_1 t})$$
 (12)

Donde:

 $q_t = capacidad \ de \ adsorción \ en \ el \ tiempo \ t \ (mg/g)$ $q_e = capacidad \ de \ adsorción \ en \ el \ equilibrio \ (mg/g)$ $k_1 = constante \ de \ velocidad \ de \ pseudo-primer \ orden \ (min^{-1})$ $t = tiempo \ (min)$

1.5.3.2 Modelo de pseudo-segundo orden de Ho-McKay

Este modelo fue desarrollado por Ho-McKay; en él se supone que el sorbato se sorbe en dos sitios activos del sorbente. En este caso, la ecuación de velocidad de la cinética de adsorción se expresa de la siguiente forma:

$$\frac{dq_t}{d_t} = k_2 (q_e - q_t)^2$$
 (13)

Donde al integrar la ecuación anterior se obtiene:

$$q_t = \frac{k_2 q_e^2 t}{1 + k_2 q_e t} \qquad (14)$$

Donde:

qt = capacidad de adsorción en el tiempo t (mg/g)
qe = capacidad de adsorción en el equilibrio (mg/g)
k2 = constante de velocidad de pseudo-segundo orden orden (g/mg*min)
t = tiempo (min)

1.5.4 Modelo cinético de desorción

Para que el proceso de desinfección se lleve a cabo es indispensable la liberación de los iones metálicos de la matriz del material zeolítico hacia el medio acuoso en el que se encuentran los microorganismos (Inoue *et al.*, 2002; De la Rosa-Gómez *et al.*, 2008a; Rossainz-Castro, 2013), por lo que conocer la cinética por la que se da dicho proceso se vuelve indispensable para un mejor entendimiento de los procesos de muerte celular.

Con la finalidad de describir el comportamiento de la desorción de los iones Ag⁺ o Cu²⁺ del material zeolítico a la solución, se consideró al modelo de Higuchi que propone que

para la mayoría de los casos la fracción del producto liberado se encuentra en función de la raíz cuadrada del tiempo (n = $\frac{1}{2}$). Para comparación el modelo de Korsmeyer-Peppas fue considerado, la liberación del producto hacia el medio, como una función directa del tiempo (n = 1) (Higuchi, 1963; Aragón-Fernández *et al.*, 2010) con base en la ecuación:

$$\frac{M_t}{M_o} = kt^n \qquad (15)$$

En donde:

Mt /Mo= es la fracción de soluto liberado a un tiempo "t"
k= es la constante de velocidad de liberación
n= es el exponente de liberación al sistema.

2. MÉTODO

Cada uno de los experimentos se realizaron por triplicado, siguiendo los pasos del diagrama mostrado en las figuras 2.1

y 2.2.



Figura 2.1 Diagrama del desarrollo experimental.



Figura 2.2 Diagrama del desarrollo experimental (continuación).

Los experimentos de la presente investigación se llevaron a cabo en un cuarto en ausencia de luz natural, para evitar la reducción de la plata.

2.1 Molienda y tamizado de la zeolita natural

La clinoptilolita del estado de Chihuahua se trituró utilizando un martillo y lona para recubrir la muestra de zeolita, para después ser molida utilizando un mortero de Ágata y ser tamizada utilizando una malla 20, 30 y plato en ese orden, posteriormente el mineral obtenido en la malla 30 se lavó para eliminar polvos y posteriormente se secó a temperatura ambiente obteniendo 154.2 g de zeolita natural (ZN).

2.2 Acondicionamiento de la zeolita natural

2.2.1 Con sodio

La 115.65 g de ZN se puso en contacto con una solución de NaCl 1 M durante un periodo de 12 horas a 90 °C. Este procedimiento se repitió una vez más para después separar la mezcla por centrifugación. Los sólidos se lavaron con agua desionizada hasta que los iones de Cl⁻ no fueron detectados en el medio acuoso, usando una solución de AgNO₃ para ello. La zeolita húmeda se secó a 85 °C por 5 horas. De esta manera se obtuvieron 92.4 g de zeolita acondicionada con sodio (ZNa).

2.2.2 Con plata

Se trataron 23.1 g de la ZNa con una solución de AgNO₃0.1 M en reflujo durante 12 horas dentro de un cuarto obscuro. Este procedimiento se repitió una vez más, para después separar los sólidos por centrifugación, los cuales se lavaron y secaron a 85 °C durante 5 horas. De esta manera se obtuvieron 20.7 g de zeolita acondicionada con Ag (ZAg) (De la Rosa-Gómez *et al.*, 2008a).

2.2.3 Con cobre

Se trataron 23.1 g de la ZNa con una solución de CuCl₂ 0.1 M en reflujo durante 12 horas. Este procedimiento se repitió una vez más, para después separar los sólidos por centrifugación los cuales se lavaron y secaron a 85 °C durante 5 horas; siguiendo los pasos descritos por Burrola-Aguilar, (2004). De esta manera se obtuvo zeolita acondicionada con Cu (ZCu).

2.3 Caracterización de la zeolita antes y después del acondicionamiento

2.3.1 Difracción de rayos-X (DRX)

A través de la difracción de rayos-X se analizaron los cambios estructurales que presente la zeolita natural antes y después del acondicionamiento con plata y cobre, utilizando un equipo SIEMENS D5000, con un ánodo de Cu.

2.3.2 Microscopia electrónica de barrido (MEB) y Espectroscopia de energía dispersiva de rayos-X (EDS)

Para la caracterización de la zeolita se utilizó un microscopio electrónico de barrido JEOL JSM-6610LV a bajo vacío, a un voltaje de 20 kV con una presión de 35 Pa y una amplificación de 2000X, acoplado a un detector para R-X Oxfor instruments INCAx-act, en el cual se observaron las características morfológicas y la composición elemental de la zeolita.

2.3.3 Análisis por activación neutrónica (AAN)

Las cantidades de Na, Mg, Cl, K, Ca, Fe, Cu y Ag presentes en las diferentes muestras de material zeolítico se determinaron por un análisis por activación neutrónica usando la posición SINCA del reactor nuclear TRIGA MARK III del Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares. Con un flujo aproximado de 10¹² n/(cm²s) durante diferentes tiempos de irradiación. La radioactividad de las

muestras fue medida en un dispositivo de Ge/híper-puro y comparado con material estándar certificado.

2.4 Determinación de los componentes orgánicos del Agua Residual Municipal (ARM)

2.4.1 Toma de muestra en el ARM

Para la identificación y determinación de los componentes orgánicos y conocer su concentración, se realizó una toma de muestra simple de agua, en base a la NMX-AA-003-1980, 1980, en el efluente de la planta de tratamiento ECOSYS I (figura 2.3). El tipo de agua que se obtuvo en dicho punto es agua residual de origen municipal que ya llevó un tratamiento fisicoquímico y biológico bajo los límites máximos permisibles (LMP) de la NOM-001-SEMARNAT-1996, (1996), pero que aún no lleva un tratamiento de desinfección, es decir antes del proceso de cloración.



Fuente: De la Rosa-Gómez, 2007

Figura 2.3 Diagrama del proceso de tratamiento de agua de la planta ECOSYS I

La muestra simple se tomó en el horario de mayor descarga de agua para lo que se analizaron los flujos de los cinco meses anteriores y se garantizó el tener el flujo más representativo cuantitativamente a lo largo día.

2.4.2 Cuantificación

2.4.2.1 Proteínas

Se realizó la determinación de los compuestos orgánicos como proteínas, contenidos en el efluente del agua de la plata de tratamiento, a través del método de Lowry (Lowry *et al.*, 1951).

La determinación de la cantidad de proteína contenida en las pruebas de eliminación de interferentes se realizó a través del método de Bradford, para lo cual se tomaron 300 µL de la muestra y se añadieron 3 mL de reactivo de Bradford para posteriormente ser leído en un espectrofotómetro de UV/VIS marca PerkinElmer Lambda 35 a 595 nm (Bradford, 1976; Reyes y Cejudo, 2006).

2.4.2.2 Ácidos fúlvicos

Se realizó la determinación de los ácidos fúlvicos contenidos en el efluente de la planta de tratamiento por cromatografía de líquidos de alta presión (HPLC) en fase reversa, medida con un detector de diodos UV (Hasib *et al.*, 2002).

La determinación de la concentración de ácido fúlvico contenido en las muestras de adsorción de interferentes se realizará tomando una alícuota de 3 mL de los procesos de adsorción a los diferentes tiempos y analizándola en un espectrofotómetro de UV/VIS marca PerkinElmer Lambda 35 a 254 nm (Wang *et al.*, 2008a; Sun *et al.*, 2008).

2.4.2.3 Cloruros

La determinación de cloruros se realizó, bajo la norma técnica NMX-AA-073-SCFI-2001 (NMX-AA-073-SCFI-2001, 2001), titulando de forma directa una alícuota de 10 mL de cada una de las muestras.

2.5 Determinación de la actividad microbicida de la ZAg frente a *E. coli* y *C. albicans*, en presencia de compuestos orgánicos contenidos en el ARM

2.5.1 Preparación de la suspensión de E. coli y C. albicans

La preparación de las soluciones de agua residual sintética para las pruebas de desinfección se realizó utilizando un medio de cultivo líquido de Luria Bertani ó "tryptic soy broth" (TSB), donde se sembraron células de *E. coli* de la cepa ATCC 25922 ó *C. albicans* ATCC 10231, respectivamente, en cultivo de noche. Posteriormente se purificaron por centrifugación a 10,000 rpm durante 10 minutos a 4 °C en la centrifuga refrigerada automática Hettich Zentrifugen Universal 32 R, desechando el sobrenadante y re-suspendiendo el sedimento de células de *E. coli* con 9 mL de agua destilada estéril, repitiendo el proceso por duplicado. Una vez obtenida esta solución se hicieron diluciones de la misma en agua destilada estéril hasta llegar a una concentración conocida de 1 x 10^7 UFC /100 mL aproximadamente.

Para las pruebas de consorcio se añadió 1 mL de las células de *E. coli* y 1 mL de las células de *C. albicans* en agua desionizada estéril obteniendo el consorcio microbiano.

2.5.2 Determinación de la concentración de coliformes y levaduras

Con el fin de conocer la cuenta de coliformes totales y levaduras, se utilizó el método de filtración por membrana que consiste en diluir la alícuota tomada de la muestra
con 30 mL de solución buffer de fosfatos 0.01M para posteriormente ser filtrada con membranas Millipore con un tamaño de poro de 0.45 µm. Las membranas son colocadas sobre paths Millipore que contienen 2 mL de medio de cultivo de m-Endo Broth MF marca Difco para el crecimiento de coliformes o 2 mL de medio TSB para el crecimiento de levaduras, por separado. Después, ambas fueron puestas en incubación a 37±0.5 °C por 24 horas, para posteriormente ser contabilizadas (NOM-181-SSA1-1998, 2000).

2.5.3 Prueba control con zeolita acondicionada con sodio (ZNa) como referencia

Debido a que la ZNa no presenta efecto microbicida (De la Rosa-Gómez *et al.*, 2008a) se tomó como muestra control de crecimiento realizando los siguientes pasos:

a) En matraces Elermeyer de 125 mL con 100 mL de agua destilada estéril, se vertió 1 mL de la suspensión de *E. coli, C. albicans* o consorcio preparadas en el punto 2.5.1, llegando a una concentración conocida de 2 x 10^5 UFC/100 mL aproximadamente.

b) Se adicionó a cada uno de los matraces con ZNa.

c) Adicionada la ZNa a cada uno de los matraces, se inició el tiempo de contacto.
 Los matraces se mantuvieron en un equipo marca Heidolph Inkubator 1000 –
 Promax 1020 con agitación y recirculación de aire, a una agitación constante de 100 cpm y 37 °C.

d) A los tiempos de 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 80, 100, 120, 140, 240, 360, 480, 600, 720 y 1440 minutos se tomaron muestras alícuotas de 1 mL de las soluciones que se encuentran en contacto con el material zeolítico para posteriormente ser sembradas por el método de filtración por membrana (punto 2.5.2).

e) Este proceso se realizó por triplicado.

2.5.4 Determinación de la actividad microbicida de la zeolita acondicionada con plata (ZAg)

Para verificar el efecto microbicida de dos masas distintas de ZAg en las células de *E. coli, C. albicans* y consorcio se realizaron los pasos descritos en el punto 2.5.3, agregando 10 y 20 mg de ZAg y considerando los siguientes tiempos para las tomas de muestra:

a) ZAg 10 mg y 20 mg en presencia de *E. coli*: 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 80, 100 y 120 minutos.

b) ZAg 10 mg y 20 mg en presencia de *C. albicans*: 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 80, 100, 120, 140 y 160 minutos.

c) ZAg 10 mg y 20 mg en presencia de consorcio: 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 80, 100, 120, 140, 160 y 180 minutos.

Como muestra control de crecimiento se llevó a la par el punto 2.5.3.

Este proceso se realizó por triplicado

2.5.5 Efecto de los compuestos orgánicos sobre la actividad microbicida de la ZAg

Para verificar el efecto que cada uno de los compuestos orgánicos propuestos tienen sobre la capacidad microbicida de la ZAg en las células de *E. coli, C. albicans* y consorcio se realizaron los pasos descritos en el punto 2.5.3, agregando 10 y 20 mg de ZAg en lugar de ZNa y las concentraciones del compuesto orgánico marcadas en la tabla 2.1.

Tabla 2.1 Concentración a utilizar de los compuestos orgánicos, en el proceso de desinfección.

Compuesto	Concentración
Albumina de suero bovino	104.9 μg/mL
Ácido fúlvico	150 μg/mL
Albumina de suero bovino + Ácido fúlvico	104.9 μg _{ASB} /mL + 150 μg _{AF} /mL + 63.41 μg _{Cl} -/mL
+ Cloruros	

Como muestra control de crecimiento se llevó a la par el punto 2.5.3.

Como muestra control de desinfección se llevó a la par el punto 2.5.4.

Este proceso se realizó por triplicado.

2.5.6 Desorción de Ag

Para verificar el efecto que tienen los compuestos orgánicos propuestos sobre la desorción de Ag⁺ de la zeolita, en los puntos 2.5.4 y 2.5.5. Se tomó una muestra alícuota de 20 mL aproximadamente a los mismos tiempos del proceso de desinfección en un frasco de plástico recubierto de color negro, separándola del material zeolítico, para análisis por absorción atómica utilizando un equipo Perkin Elmer modelo 3110 a una longitud de onda de 328.1 nm.

2.6 Determinación de la actividad microbicida de la ZCu frente a *E. coli* o *C. albicans* y en consorcio microbiano (*E. coli* y *C. albicans*)

2.6.1 Preparación de la suspensión de E. coli y C. albicans

Se preparó la suspensión de microorganismos con base en el punto 2.5.1

2.6.2 Determinación de la actividad microbicida de la ZCu

Para verificar el efecto microbicida de la ZCu en las células de *E. coli, C. albicans y* consorcio se realizaron los pasos descritos en el punto 2.5.3, agregando 200 mg de ZCu en lugar de ZNa y considerando los siguientes tiempos de para la toma de muestra:

a) ZCu en presencia de *E. coli*: 0, 60, 120, 240, 360, 480, 600, 720 y 1440 minutos.
b) ZCu en presencia de *C. albicans*: 0, 60, 120, 240, 360, 480, 600, 720, 1440, 1800 y 1860 minutos.

Como muestra control de crecimiento se llevó a la par el punto 2.5.3. Este proceso se realizó por triplicado.

2.6.3 Desorción de Cu

Para verificar el efecto que tienen los compuestos orgánicos propuestos sobre la desorción de Cu²⁺ de la zeolita, en el punto 2.6.2. Se tomó una muestra alícuota de 20 mL aproximadamente a mismos tiempos de desinfección, separándola del material zeolítico, para análisis por absorción atómica utilizando un equipo Perkin Elmer modelo 3110 a una longitud de onda de 324.8 nm.

2.7 Efecto de los compuestos orgánicos sobre E. coli y C. albicans

Para verificar el efecto que cada uno de los compuestos orgánicos propuestos tienen sobre las suspensiones de *E. coli, C. albicans y* consocio microbiano, se llevaron a cabo los siguientes pasos:

a) En matraces Elermeyer de 125 mL con 100 mL de agua destilada estéril, se vertió
1 mL de la suspensión de *E. coli, C. albicans* o consorcio preparadas en el punto
2.5.1, llegando a una concentración conocida de 2 x 10⁵ UFC/100 mL.

b) En un matraz aforado se preparó una solución del compuesto orgánico propuesto con 100 veces la concentración que marca la tabla 2.1.

c) Se adicionó 1 mL de la solución del compuesto orgánico a cada uno de los matraces, a excepción del identificado como tiempo "0 minutos".

d) Adicionado el compuesto orgánico propuesto a cada uno de los matraces se inició el tiempo de contacto. Los matraces se mantuvieron en un equipo marca Heidolph Inkubator 1000 – Promax 1020 con agitación y recirculación de aire, a una agitación constante de 100 cpm y 37 °C.

e) A los tiempos de 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 80, 100, 120, 140, 160, 180, 240 minutos se tomaron muestras alícuotas de 1 mL de las soluciones que se encuentren en contacto con el material zeolítico para posteriormente ser sembradas por el método de filtración por membrana (punto 2.5.2).

2.8 Remoción de compuestos interferentes

Para esta prueba se consideraron diferentes materiales que permitieran la disminución de los interferentes (cloruros, proteína y ácido fúlvico) o en el mejor de los casos, su eliminación por completo de la solución mediante un proceso de adsorción. Los materiales probados fueron: carbón activado y la misma zeolita de Chihuahua acondicionada con plata, objeto de investigación del presente trabajo. Cabe mencionar, que un polímero orgánico con características adsorbentes como el quitosano, también se incluyó en esta parte de la investigación, sin embargo, por ser un compuesto sintético, faltaría realizar una investigación comparativa entre la eficiencia de remoción de éste y una zeolita modificada con surfactante, para que, bajo un estudio de factibilidad, se realice la propuesta de un tren de tratamiento combinado. Debido a lo anterior, la experimentación realizada con el quitosano se presenta en el anexo A.

Para determinar la capacidad de sorción de los interferentes, se prepararon soluciones de cada uno de ellos, a las concentraciones que se muestran en la tabla 2.1.

2.8.1 Selección de adsorbentes

Estudios preliminares de adsorción se llevaron a cabo utilizando 200 mg de carbón activado o 20 mg de ZAg los cuales se colocaron en frascos de plástico de 20 mL y se añadió 10 mL de la solución, previamente preparada, del interferente a analizar.

Los frascos se colocaron en un agitador marca Heidolph Inkubator 1000 – Promax 1020 a 200 rpm durante 180 minutos. Se tomaron muestras a los tiempos de 60, 120 y 180 minutos para posteriormente ser analizadas por el método correspondiente según el tipo de interferente (puntos 2.4.2.2, 2.4.2.3 y 2.4.2.4) (Yan y Bai, 2005; Wang *et al.*, 2008a; García-Rivas *et al.*, 2010).

2.8.2 Determinación de la capacidad de adsorción

Para la determinación de la capacidad de sorción de los interferentes se utilizaron 20 mg de ZAg. Esta cantidad se colocó en frascos de plástico de 20 mL y se añadieron 10 mL de la solución, previamente preparada, del interferente a analizar.

Los frascos se colocaron en un agitador marca Heidolph Inkubator 1000 – Promax 1020 a 200 rpm durante 180 minutos y se tomaron muestras cada 10 minutos para posteriormente ser analizadas por el método correspondiente según el tipo de interferente (puntos 2.4.2.2, 2.4.2.3 y 2.4.2.4) (Yan y Bai, 2005; Wang *et al.*, 2008a; García-Rivas *et al.*, 2010).

2.9 Determinación de la actividad microbicida de la ZAg sobre *E. coli* en presencia de concentraciones bajas de compuestos orgánicos e inorgánicos

Para verificar el efecto que la reducción de interferentes tiene sobre la capacidad microbicida de la ZAg se realizaron los pasos descritos en el punto 2.5.3, agregando 20 mg de ZAg en lugar de ZNa y la concentración del interferente obtenida en el punto 2.8.2. Considerando los siguientes tiempos de para la toma de muestra: 0,

10, 20, 30, 40, 50, 60, 80, 100, 120, 140, 160 y 180 minutos. Y *E. coli* como microorganismo de prueba.

Este proceso se realizó por triplicado.

2.10 Desinfección del agua en flujo semi-continuo

Para verificar que los procesos fisicoquímicos para la eliminación de interferentes ayudan a mejorar la capacidad microbicida de la ZAg se siguieron los siguientes pasos:

a) Se preparó una muestra de agua conteniendo la concentración del interferente obtenida en el punto 2.8.2 y otra con la concentración de la mezcla de interferentes mostrada en la tabla 2.1. A ambas se les agregó *E. coli* como microorganismo de prueba.

b) La solución se hizo pasar por una columna de vidrio con un lecho de 200 mg de ZAg a una velocidad de flujo de 2 mL/min tomando el tiempo transcurrido.

c) Se tomaron alícuotas del flujo transcurrido a diferentes tiempos.

d) Posteriormente fueron sembradas por el método de filtración por membrana (punto 2.5.2).

2.11 Modelos cinéticos

Dado que los modelos matemáticos pueden ayudar a analizar e validar los resultados experimentales estos se ajustaron a los modelos de Chick y Chick Watson para el caso de los procesos de desinfección en lote; para el caso de las cinéticas de adsorción se ajustaron a los modelos de pseudo-primer orden y pseudo-segundo orden; la desorción de iones al medio se ajustó al modelo de Higuchi y Korsmeyer-Peppas; y el proceso de desinfección en flujo continuo se ajustó al modelo logístico de crecimiento poblacional. El software Origin pro 8.1 fue utilizado como herramienta para tal fin.

2.12 Análisis estadístico

Con la finalidad de verificar el efecto que las variables del presente trabajo provocan sobre la velocidad de desinfección, velocidad de desorción de iones al medio y en la eficiencia de desinfección del material, se realizó un análisis de varianza de dos factores, con múltiples combinaciones de las variables. El software Microsoft Excel, fue utilizado como herramienta para tal fin. Los datos obtenidos de este análisis se presentan en el anexo C.

3. RESULTADOS

3.1 Caracterización de la zeolita antes y después del acondicionamiento

3.1.1 Difracción de Rayos-X

Para el análisis de los patrones de difracción de rayos-X (DRX) se compararon las tarjetas de referencia de clinoptilolita-Ca (JCPDS 01-083-1261), cuarzo (JCPDS 03-065-0466) AgNO₃ (JCPDS 01-074-0947) y CuCl₂ (JCPDS 00-034-0198), con las muestras de zeolita provenientes del Estado de Chihuahua, en su forma natural, sódica, plata y cobre; presentando concordancia entre ellos. Confirmando que el componente principal de dicho material es la clinoptilolita cálcica, y como impureza principal el cuarzo. No se presentaron desplazamientos de los picos de difracción de rayos-X entre las zeolitas natural, acondicionada con sodio y con plata, indicando que el acondicionamiento no modificó la estructura cristalina de la zeolita; como se muestra en las figuras 3.1 a - d.



Figura 3.1 Patrón de difracción de rayos-X de a) ZNat; b) ZNa; c) ZAg y d) ZCu

3.1.2 Microscopia electrónica de barrido (MEB) y Espectroscopia de energía dispersiva de rayos-X (EDS)

Del análisis por MEB en bajo vacío se obtuvieron las imágenes de las figuras 3.2 a – d, donde se muestra la morfología de la zeolita típica de la clinoptilolita por su forma de lápidas (Bosch *et al.*, 2011), las cuales fueron observadas también en las investigaciones realizadas por Burrola-Aguilar (2004), De la Rosa-Gómez *et al.* (2008a) y Rossainz-Castro (2013).



Figura 3.2 Imágenes MEB de a) ZNat; b) ZNa; c) ZAg y d) ZCu

Donde las principales diferencias entre estas son en la composición elemental, no observándose cambios en la morfología cuando la ZNat fue acondicionada con NaCl, AgNO₃ o CuCl₂.

El análisis elemental semicuantitativo realizado a las muestras de zeolitas por espectroscopia de energía dispersiva de rayos-X (EDS) muestra que los principales elementos que componen a la ZNat son oxígeno, sodio, magnesio, aluminio, silicio, potasio, calcio y hierro (Tabla 3.1; Fig. B.1a). Por lo que este material puede ser considerado de tipo potasio – cálcico de acuerdo a la cantidad de estos elementos presentes en la ZNat.

Elemento	% en peso			
	ZNat	ZNa	ZAg	ZCu
0	42.82±2.97	41.62±2.43	38.61±1.24	39.10±1.94
Na	0.62±0.15	2.58±0.71	0.77±0.09	0.79±0.11
Mg	0.76±0.12	0.43±0.10	0.28±0.06	0.32±0.10
AI	7.09±0.35	7.73±0.18	6.14±0.25	7.38±0.54
Si	39.97±1.46	42.21±2.02	38.35±1.73	41.55±1.57
CI	0.21±0.02	0.17±0.07	0	0
K	2.67±0.47	2.40±0.50	1.66±0.19	2.09±0.32
Ca	3.27±0.44	0.58±0.04	0.60±0.01	0.38±0.12
Fe	2.39±0.50	2.55±0.78	1.34±0.20	1.84±0.42
Cu	0.12±0.19	0.09±0.10	0.14±0.16	6.56±1.27
Ag	0.04±0.05	0	12.16±0.49	0

Tabla 3.1 Composición elemental del material zeolítico por EDS

La cantidad de Na se incrementa después de su acondicionamiento con la solución de NaCl para obtener la zeolita natural en su forma sódica (ZNa) y consecuentemente disminuyó la cantidad de Mg y Ca. Mientras la cantidad de K se mantiene, considerando el error experimental. Después de que la zeolita entra en contacto con las soluciones de AgNO₃ o CuCl₂ para obtener las zeolitas ZAg o ZCu, la cantidad de sodio disminuye notablemente (Tabla 3.1; Fig. B.1b - d). Esto mismo se ha observado en otras investigaciones (Burrola-Aguilar, 2004; Top y Ülkü, 2004; De la Rosa-Gómez *et al.*, 2008a; Rossainz-Castro, 2013). La cantidad de Ag en la ZAg corresponde a 1.1273 meqAg⁺/g y en el caso del Cu en la ZCu corresponde a 2.0646 meqCu²⁺/g. Si se considera que se parte de una zeolita en su forma sódica con 1.1222 meqNa⁺/g, indicaría que una parte de iones Na⁺ se intercambió por Ag⁺ o Cu²⁺ y otra parte de éstos últimos se encuentran depositados ya sea como óxidos o como AgNO₃ o CuCl₂, que fueron las sales con las que se acondicionó al material zeolítico. Sin embargo, por ser estos análisis semi-cuantitativos, también se

consideró el análisis de las muestras por activación neutrónica, que es un análisis de carácter cuantitativo y permite un mejor análisis de lo ocurrido durante el acondicionamiento.

3.1.3 Análisis por activación neutrónica (AAN)

Los resultados que se muestran en la Tabla 3.2, confirman que el acondicionamiento de la ZNat con la solución de NaCl incrementa notablemente la cantidad de Na y disminuye la cantidad de Ca presente en la zeolita, lo que favorece a su vez, el intercambio Na⁺/Ag⁺ o Na⁺/Cu²⁺ (ver Tabla 3.1).

Elemento (unidades)	ZNat	ZNa	ZAg	ZCu
Na (%)	1.07 ± 0.07	2.50 ± 0.20	1.30 ± 0.10	1.05 ± 0.06
Mg (%)	0.24 ± 0.03	0.24 ± 0.03	0.20 ± 0.03	0.20 ± 0.02
CI (mg/Kg)	945 ± 144	400 ± 110	415 ± 100	320 ± 100
K (%)	1.70 ± 0.40	2.00 ± 0.20	1.90 ± 0.50	1.70 ± 0.50
Ca (%)	1.70 ± 0.01	0.46 ± 0.01	0.30 ± 0.01	0.80 ± 0.01
Fe (%)	1.40 ± 0.12	1.24 ± 0.10	1.40 ± 0.10	1.40 ± 0.13
Cu (%)	< LD	< LD	< LD	0.70 ± 0.01
Ag (%)	< LD	< LD	5.40 ± 0.01	< LD

Tabla 3.2 Composición elemental del material zeolítico por AAN

< LD: menor al límite de detección.

La ZNa tiene 1.0869±0.0869 meqNa⁺/g, la ZAg tiene 0.5046±0.0009 meqAg⁺/g y la ZCu tiene 0.2204±0.0031 meqCu²⁺/g. Estos resultados muestran que los iones Ag⁺ se intercambian preferentemente con respecto a los iones Cu²⁺ por los iones Na⁺, que ocupan los sitios de intercambio iónico en la red cristalina de la clinoptilolita. Donde las diferencias obtenidas entre los análisis por EDS y los de activación neutrónica se deben a que el primero es de carácter semi-cuantitativo y se localiza en la superficie de un punto de la muestra y el segundo es de carácter cuantitativo y representa el contenido de los elementos en el volumen de la muestra.

3.2 Determinación de los componentes orgánicos del Agua Residual Municipal (ARM)

3.2.1 Toma de muestra en el ARM

La figura 3.3 muestra el promedio de los flujos registrados en el efluente de la planta de tratamiento durante el periodo del 01 de enero al 31 de mayo del 2014.



Donde se observa que el flujo máximo de tratamiento y descarga de la planta se encuentra en el horario que comprende de las 13 a las 16 horas por lo que se definió este periodo de tiempo como el más adecuado para la toma de muestra al ser el más representativo cuantitativamente del flujo tratado a lo largo del día, resultados similares se obtuvieron en un trabajo anterior Rossainz-Castro (2013). Los datos correspondientes a las variables del sitio de muestreo se reportan en la Tabla B.1.

3.2.2 Contenido de proteínas

Se determinó una concentración de 10.49 µg/mL de proteínas en la muestra del efluente de agua. Dato consistente con el LMP de DBO₅ para descarga de aguas a embalses naturales de uso agrícola que es de 75 mg/L (NOM-001-SEMARNAT-1996, 1996), además de con los datos reportados por De la Rosa-Gómez (2007) y De La Rosa-Gómez (2002). Debido a que el LMP en la NOM-001-SEMARNAT-1996 permite llegar a tener hasta un promedio mensual de DBO₅ de 150 mg/L se

determinó utilizar hasta 10 veces la concentración determinada de proteína (104.9 µg/mL).

3.2.3 Contenido de ácido fúlvico

La concentración determinada de ácido fúlvico en efluente fue de 147.55 mg/L, lo indicando que este contaminante se encuentra en mayor presencia que el material proteico, debido a que no es posible llevar a cabo su degradación por los microorganismos presentes en la planta de tratamiento (Domènech y Pérez, 2006). Una concentración de 150 mg/L se decidió utilizar para llevar a cabo los análisis de interferencia del ácido fúlvico sobre la ZAg.

3.3 Determinación de la actividad microbicida de la ZAg frente a *E. coli* y *C. albicans*, en presencia de compuestos orgánicos contenidos en el ARM en un proceso tipo Batch

3.3.1 Prueba control con zeolita ZNa como referencia

Los resultados obtenidos de la prueba control de desinfección utilizando ZNa muestran que esta no presenta efecto microbicida sobre la *E. coli* y *C. albicans* por sí misma (Figura 3.4), tal como se menciona en trabajos anteriores (De la Rosa-Gómez *et al.*, 2008a, 2008b; Contreras-Arzate, 2010; Rossainz-Castro, 2013). Además, el comportamiento de los microorganismos al estar en consorcio en la solución es similar a su comportamiento por separado, lo que indica que la presencia de un microorganismo no afecta al otro.



Figura 3.4 ZNa frente a E. coli y C. albicans a) individual y b) en consorcio

3.3.2 Determinación de la actividad microbicida de la ZAg

Las figuras 3.5 – 3.7 (Tablas B.2 – B.4) muestran el comportamiento de la desinfección comparativamente con la desorción de plata en la solución en presencia de *E. coli, C. albicans* y un consorcio microbiano.



Figura 3.5 Actividad microbicida de a) 10 mg de ZAg y b) 20 mg de ZAg frente a

E. coli



Figura 3.6 Actividad microbicida de a) 10 mg de ZAg y b) 20 mg de ZAg frente a

C. albicans



Figura 3.7 Actividad microbicida de a) 10 mg de ZAg y b) 20 mg de ZAg frente a un consorcio (*E. coli* y *C. albicans*)

Cuando se aumenta la masa de ZAg el tiempo de desinfección disminuye en todos los procesos de desinfección, debido a al aumento en la cantidad de Ag desorbida al medio. Por lo que es correcto afirmar que la desinfección es debida a la Ag desorbida al medio y no al material zeolítico que lo contiene (Rivera-Garza *et al.*, 2000; De la Rosa-Gómez, 2007; De la Rosa-Gómez *et al.*, 2008a). Sin embargo, la disminución en el tiempo de desinfección no es proporcional al aumento en la masa de ZAg en la solución, lo cual se debe a la cantidad de cationes presentes en el medio que influyen en la desorción de iones Ag hacia éste (Rossainz-Castro, 2013).

Al comparar la supervivencia de las células de *E. coli* y *C. albicans*, se observa que en los procesos con 10 y 20 mg de ZAg el tiempo de desinfección requerido para la lograr un 100% de muerte celular para la *E. coli* es menor que el requerido para la *C. albicans*, esto se explica por las diferencias morfofisiológicas de ambos microorganismos que van desde el tamaño hasta la composición química de la pared y membrana celular; el hecho de que la *C. albicans* sea un microorganismo más complejo en comparación a la *E. coli*, por ser un organismo eucarionte al poseer dentro de su estructura celular orgánulos especializados le confieren una mayor resistencia a los efectos provocados por los iones Ag⁺ dentro de la célula, aunado a que los procesos de difusión que controlan el paso de las substancias a través de la membrana celular son menos eficientes cuanto más grande es el microorganismo, son factores que repercuten que la *C. albicans* requiera de un mayor tiempo para su muerte celular (Kühn *et al.*, 2003; Berg, 2004; Campbell y Reece, 2007; Contreras-Arzate, 2010; Zhirnov y Cavin, 2010; Ferreira *et al.*, 2012; Cibas y Ducatman, 2013).

Además, de los 3 mecanismos propuestos para la acción microbicida de la plata, solo 2 se han observado que actúan en microorganismos eucariontes, y están directamente relacionados con la síntesis de ATP y la formación de especies reactivas de oxígeno, implicando una acción en las mitocondrias, lo cual puede llevar a un proceso de desinfección más lento, mientras en organismos procariontes como las bacterias actúan los 3 mecanismos propuestos provocando una acción microbicida más rápida (Marambio-Jones y Hoek, 2010).

El mismo comportamiento se observa cuando los microorganismos se encuentran en consorcio, sin embargo, la acción por parte de la Ag desorbida al medio se vuelve 3 y 2.2 veces más lenta para la desinfección de *E. coli* y *C. albicans* respectivamente, con respecto a sus procesos individuales. El análisis estadístico de los datos de velocidad de muerte celular (Anexo C.1, tabla C.1) validan los estos datos experimentales, donde en tabla C.6 se observa que el aumento en la masa del desinfectante, así como la variación en el tipo de microorganismo desinfectado

68

tienen un efecto significativo en la velocidad de muerte celular, donde el tipo de microorganismo desinfectado es la variable que más influye.

El aumento en el tiempo requerido para la desinfección total en consorcio, se debe al aumento de la concentración inicial de microorganismos en el medio mientras la masa del material desinfectante (ZAg) se mantiene constante, lo cual se traduce en una menor cantidad de Ag disponible para cada microorganismo, disminuyendo por ende la velocidad de difusión de los iones dentro de las células, al mismo tiempo que se provoca una competición entre los microorganismos por los iones Ag presentes en el medio donde la *E. coli* al ser un microorganismo de menor tamaño tiene un proceso de difusión más rápido (Campbell y Reece, 2007) provocando su muerte celular en primera instancia.

3.3.3 Efecto de la proteína sobre la actividad microbicida de la ZAg

Las figuras 3.8 a 3.10 (Tablas B.5 y B.6) muestran el comportamiento de la desinfección comparativamente con la desorción de plata en la solución.







Figura 3.9 Efecto de 104.9 µg/mL de proteína sobre la actividad microbicida de a) 10 mg de ZAg y b) 20 mg de ZAg frente a *C. albicans*; y desorción de la Ag



Figura 3.10 Efecto de 104.9 µg/mL de proteína sobre la actividad microbicida de a) 10 mg de ZAg y b) 20 mg de ZAg frente a un consorcio (*E. coli* y *C. albicans*); y desorción de la Ag

El tiempo requerido para llegar a una muerte celular total es mayor para el caso de la desinfección de *C. albicans*, concordando con lo obtenido en el punto anterior, además, de con lo reportado por otros autores que utilizan diversos desinfectantes, entre ellos algunos metales como TiO₂ o Ag, donde comparan el efecto que estos tienen sobre microorganismos Gram negativos (*E. coli*) y Gram positivos (*C. albicans* o *Staphylococus aureus*) encontraron mayor resistencia de estos últimos a la desinfección (Ayliffe *et al.*, 1988; Kühn *et al.*, 2003; Marambio-Jones y Hoek, 2010; Gonzaga-Galeana, 2013). Trabajos realizados utilizando material zeolítico acondicionado con diversos iones metálicos han mostrado también requerir un

menor tiempo para la desinfección de las células de *E. coli* comparativamente con las células de *C. albicans* (Burrola-Aguilar, 2004; De la Rosa-Gómez *et al.*, 2008a, 2008b; Contreras-Arzate, 2010; Marambio-Jones y Hoek, 2010).

La presencia de proteína en la solución disminuye la capacidad microbicida de la ZAg en todos los procesos de desinfección, presentando efecto sobre la velocidad de desinfección y la eficiencia del desinfectante (Tablas C.7 y C.14). Esto debido a que los iones Ag⁺ desorbidos al medio son atrapados por las cadenas laterales cargadas de los aminoácidos, que contienen grupos sulfhidrilos, como es el caso de la cisteína ó los grupos COO⁻ que conforman la proteína, formando entidades de coordinación (Nielsen y Brown, 1984; Canosa, 2014) y haciendo que parte de los iones Ag⁺ desorbidos a la solución no se encuentren libres en ésta y por ende no puedan ser aprovechados por los microorganismos, impidiendo así que la acción microbicida se lleve a cabo a la misma velocidad que los procesos sin presencia de proteína. Puntos por los cuales se puede considerar a la proteína como un interferente de la desinfección al utilizar ZAg.

3.3.4 Efecto del ácido fúlvico sobre la actividad microbicida de la ZAg

Las figuras 3.11 a 3.13 (Tablas B.7 y B.8) muestran el comportamiento de la desinfección comparativamente con la desorción de plata en la solución.



Figura 3.11 Efecto de 150 µg/mL de ácido fúlvico sobre la actividad microbicida de a) 10 mg de ZAg y b) 20 mg de ZAg frente a *E. coli*; y desorción de la Ag



Figura 3.12 Efecto de 150 µg/mL de ácido fúlvico sobre la actividad microbicida de a) 10 mg de ZAg y b) 20 mg de ZAg frente a *C. albicans*; y desorción de la Ag



Figura 3.13 Efecto de 150 µg/mL de ácido fúlvico sobre la actividad microbicida de a) 10 mg de ZAg y b) 20 mg de ZAg frente a un consorcio (*E. coli* y *C. albicans*); y desorción de la Ag

La presencia de ácido fúlvico en la solución de agua residual sintética provoca un aumento del 100% en el tiempo requerido para llegar a una muerte celular total de *E. coli* en presencia de 10 y 20 mg de ZAg y aunque pareciera no presentar un efecto en la capacidad microbicida de la ZAg sobre la *C. albicans*, lo cual concuerda con el análisis estadístico del efecto del ácido fúlvico sobre la velocidad de desinfección (Tabla C.6), donde el efecto sobre ésta es bajo. Un análisis de la concentración de iones Ag desorbidos al medio muestra que la capacidad de desinfección de la ZAg si se ve afectada, donde la presencia de ácido fúlvico provoca un efecto significativo sobre la velocidad de desorción de iones al medio

(Tabla C.21) lo que a su vez provoca también un efecto significativo en la eficiencia del desinfectante (Tabla C.14). Debido a que, aunque el tiempo requerido para la llegar a una muerte celular total de la *C. albicans* es similar al proceso sin presencia de interferentes, la cantidad de plata en el medio es mayor cuando hay presencia de ácido fúlvico, afectando la eficiencia del desinfectante.

Lo que indica que existe interacción entre los iones Ag⁺ desorbidos y el ácido fúlvico añadido, debido a la alta capacidad de interacción, quelación, coordinación y adsorción de los ácidos fúlvicos sobre iones metálicos debido a la amplia variedad de grupos funcionales que lo componen (carboxilos, oxhidrilos, fenoles, aminas, amidas y metilos), donde los grupos oxhidrilos presentan la mayor proporción de intercambio con metales (Salazar *et al.*, 2013). La formación de complejos de los iones Ag con los ácidos fúlvicos previenen la interacción entre estos y los microorganismos (Fabrega *et al.*, 2009; Aiken *et al.*, 2011; Tang *et al.*, 2014), lo que provoca que no se encuentren biodisponibles, lo que explica porqué el aumento en la concentración de iones Ag⁺ no favorece el tiempo de desinfección. Por lo cual se considera que el ácido fúlvico actúa como un interferente de la desinfección con ZAg.

Un punto a considerar es que no toda la Ag es captada por el ácido fúlvico presente en la solución, por lo que se da una competencia entre éste y el microorganismo por captar los iones Ag⁺ disueltos en el medio, aunado a esto se debe tomar en cuenta que la biodisponibilidad de la Ag, depende también del tipo de organismo (Aiken *et al.*, 2011).

3.3.5 Efecto de una mezcla de interferentes (MI) sobre la actividad microbicida de la ZAg

Las figuras 3.14 a 3.16 (Tablas B.9 y B.10) muestran el comportamiento de la desinfección comparativamente con la desorción de plata en la solución.



Figura 3.14 Efecto de una MI sobre la actividad microbicida de a) 10 mg de ZAg y



b) 20 mg de ZAg frente a *E. coli*; y desorción de la Ag

Figura 3.15 Efecto de una MI sobre la actividad microbicida de a) 10 mg de ZAg y



b) 20 mg de ZAg frente a C. albicans; y desorción de la Ag

Figura 3.16 Efecto de una MI sobre la actividad microbicida de a) 10 mg de ZAg y b) 20 mg de ZAg frente a un consorcio (*E. coli* y *C. albicans*); y desorción de la Ag

La presencia de una MI en la solución provoca que el tiempo requerido para llegar a un 100% de muerte celular se eleve hasta un 1250% para *E. coli* y 2600% para *C. albicans* con respecto a sus procesos homólogos sin presencia de interferentes, llegando a tiempos de desinfección de hasta 2640 minutos, provocando efecto sobre la velocidad de desinfección (Tabla C.7) y en la eficiencia del desinfectante (Tabla C.14). Lo cual se explica por la acción que cada uno de los interferentes en la mezcla están teniendo sobre los iones Ag⁺ desorbidos al medio, donde los iones Cl⁻ se une a los iones Ag⁺ para formar AgCl el cual se precipita en la solución (De la Rosa-Gómez *et al.*, 2008a; Rossainz-Castro, 2013), mientras los restantes iones Ag⁺ libres en la solución son captados en los grupos funcionales de la albumina y el ácido fúlvico (Matsumura *et al.*, 2003; Choi *et al.*, 2009; Aiken *et al.*, 2011; Tang *et al.*, 2014), disminuyendo los iones Ag⁺ biodisponibles para los microorganismos, requiriendo una mayor cantidad de iones Ag desorbidos al medio por la ZAg para que la desinfección total se lleve a cabo, aumentando en consecuencia el tiempo para una muerte celular total.

Ya que todos los procesos muestran que la concentración de iones Ag⁺ en el medio debe ser mayor para que la *C. albicans* llegue a su muerte celular total, comparativamente con la *E. coli*, es correcto afirmar que la *C. albicans* tiene mayor resistencia al efecto microbicida de la ZAg.

3.4 Determinación de la actividad microbicida de la ZCu frente a *E. coli* o *C. albicans* y en consorcio microbiano (*E. coli* y *C. albicans*) en un proceso tipo Batch

La ZCu puede ser utilizada como un agente microbicida alternativo al uso de la ZAg ya que los iones Cu^{2+} liberados al medio son menos reactivos que los iones Ag⁺. En las figuras 3.17 a – c (Tabla B.11), se puede verificar el efecto bactericida y la desorción de Cu^{2+} , que la ZCu tiene en presencia tanto de *E. coli*, *C. albicans* y consorcio microbiano.



Figura 3.17 Actividad microbicida de 200 mg de ZCu en presencia de a) *E. coli*, b) *C. albicans* y c) en consorcio (*E. coli* y *C. albicans*)

La *C. albicans* se mantiene como el microorganismo más resistente al proceso de desinfección aun al cambiar el desinfectante a ZCu, de la misma forma que ocurrió con los procesos utilizando ZAg. Demostrando que la resistencia de la *C. albicans* es independiente al agente microbicida.

El efecto microbicida de la ZCu se debe a la desorción de iones Cu²⁺ a la solución, donde en ambos microorganismos se observa un comportamiento en dos fases, la primera durante la cual los microorganismos mueren de forma constante hasta alcanzar una concentración cercana a los 0.4 mg/L o superior, a partir de la cual se da presenta una segunda fase de muerte rápida de los microorganismos. Por lo cual se puede considerar esta concentración de 0.4 mg/L como la concentración umbral a partir de la cual los microorganismos como *E. coli* y *C. albicans* morirán.

Al comparar los procesos de desinfección de ZAg y ZCu, se observa que la primera presenta mejor efecto bactericida en presencia tanto de E. coli como de C. albicans, al requerir menor tiempo para llegar una muerte celular total, aún cuando la primera se vea afectada por interferentes orgánicos. Dicho resultado se comprueba con análisis de las contantes cinéticas para ZAg y ZCu (Tablas 3.5 a 3.10) y estadístico (Tablas C.6, C.13 y C.20) donde se observa que la presencia de ZCu como factor de respuesta provoca que el material desinfectante se convierta en el factor con mayor efecto en la velocidad de desinfección, la eficiencia del desinfectante y la desorción de iones al medio. Aunado a esto la capacidad de guelar metales como el Cu²⁺ por parte de compuestos orgánicos como las proteínas y los ácidos fúlvicos (Hutchens et al., 1988; Ueda et al., 2003; Melo-López, 2006) pueden provocar un aumento aún mayor en el tiempo requerido para la muerte celular total de E. coli y C. albicans usando ZCu, lo cual hace poco viable su uso en procesos industriales debido a los altos tiempos requeridos, motivo por lo cual se decidió no continuar con su análisis y enfocar el trabajo al análisis de los efectos de los compuestos orgánicos sobre la ZAg.

3.5 Efecto de los compuestos orgánicos sobre E. coli y C. albicans

Con la finalidad de verificar el efecto que los compuestos orgánicos propuestos tienen por si mismos sobre el crecimiento de los microorganismos, se colocaron éstos en contacto con los microorganismos sin presencia de material zeolítico, obteniéndose las figuras 3.18 a 3.20 (Tablas B.12 – B.14).



Figura 3.18 Efecto de 104.9 µg/mL de proteína sobre *E. coli* y *C. albicans* a) individual y b) en consorcio



Figura 3.19 Efecto de 150 µg/mL de ácido fúlvico sobre E. coli y C. albicans a)

individual y b) en consorcio



individual y b) en consorcio

Las figuras 3.18 a 3.20 muestran que la presencia de los compuestos propuestos no afectan el desarrollo de los microorganismos ni de manera individual ni en consorcio, lo que permite afirmar que el efecto microbicida y de interferencia mostrado en los puntos 3.3.3 a 3.3.5 se debe exclusivamente a la interacción microorganismos – Ag⁺, e interferentes – Ag⁺. Además, la presencia ambos microorganismos en el mismo medio no tiene efecto en el crecimiento de uno sobre el otro por lo que interacciones entre estos quedan descartadas.

3.6 Remoción de compuestos interferentes

3.6.1 Selección de adsorbentes

Con la finalidad de evaluar aquellos procesos que serán de utilidad para la eliminación de los interferentes de interés para el presente trabajo, con base en la composición del ARM, se eligió a la adsorción para la eliminación de cloruros. En la tabla 3.3, se muestran los resultados obtenidos.

Proceso	Tiempo (min)			
	0	60	120	180
Carbón activado (mg/L)	68.68	68.44±0.35	67.96±0.33	67.96±0.33
ZAg (mg/L)	62.20	26.30±3.39	19.15±6.72	16.75±3.32

Tabla 3.3 Remoción de Cl⁻ por carbón activado y ZAg

Los resultados preliminares mostraron que el carbón activado no adsorbe a los iones Cl⁻ contenidos en la solución, mientras que 20 mg de ZAg presenta una eliminación de Cl⁻ considerable, hasta del 73 %.

Para la eliminación o reducción de proteína en el medio acuoso, se consideró una masa de 20 mg de ZAg, con la finalidad de determinar su afinidad por el material zeolítico. La tabla 3.4 muestra los resultados obtenidos.

Tabla 3.4 Remoción de proteína				
Proceso	Tiempo (min)			
	0	60	120	180
ZAg (mg/L)	104.86±0.11	101.45±6.46	105.29±0.72	107.55±1.60

Los resultados muestran que la ZAg, no adsorbe a la proteína y que es necesario partir de un material zeolítico modificado con surfactante para cambiar sus propiedades de hidrofílicas a organofílicas o en todo caso, investigar las propiedades de otro tipo de materiales poliméricos como el quitosano (Chang y Juang, 2004; Guo *et al.*, 2005; Wibowo *et al.*, 2005; Wang *et al.*, 2008a; Sun *et al.*, 2008; Viswanathan y Meenakshi, 2008; Wan-Ngah *et al.*, 2008; Y. Wang *et al.*, 2008b; Viswanathan *et al.*, 2009; Bhatnagar *et al.*, 2011), que presentan afinidad por el material proteico. En el Anexo A, se aprecian los valores correspondientes para este polímero sintético.

3.6.2 Determinación de la capacidad de adsorción

3.6.2.1 Cloruros

La capacidad de adsorción de la ZAg por los iones Cl⁻ se muestra en la figura 3.21.



Figura 3.21 Capacidad de la ZAg para la adsorción de Cl-

La presencia de 20 mg de ZAg en el medio ayuda a disminuir la cantidad de Cldisponibles en la solución hasta en un 76.92% después de 150 minutos de contacto, presentando una capacidad máxima de adsorción de 23.93 mg/g, la cual es mucho mayor a la capacidad de máxima de adsorción de las perlas húmedas de hidrogel de quitosano (0.20 mg/g), evaluadas en el anexo A.2.3.1. Sin embargo, parte de esta capacidad de eliminación de Cl⁻ puede deberse a fenómenos de precipitación de los éstos como AgCl en el medio, aunado a que la ZAg no mostró capacidad de remoción de los compuestos orgánicos, se decidió utilizar a las perlas de hidrogel de quitosano en el proceso de eliminación de interferentes.

3.7 Determinación de la actividad microbicida de la ZAg sobre *E. coli* en presencia de concentraciones bajas de compuestos orgánicos e inorgánicos en un proceso tipo Batch

El análisis estadístico de las cinéticas de velocidad de desinfección (Tablas C.1 y C.6) muestra que el cambio en la masa del material desinfectante (ZAg) tiene un efecto significativo en la velocidad de desinfección, mientras los datos experimentales de las pruebas realizadas en los puntos 3.3 a 3.5 y 3.9 muestran que el proceso que presenta mejores resultados en la desinfección, es en el que se usan 20 mg de ZAg como agente desinfectante, por lo cual se decidió tomar dicho proceso para las pruebas de desinfección con reducción de interferentes. Además, se decidió continuar con el uso de *E. coli* como microorganismo de prueba, al ser éste el más utilizado como indicador de contaminación microbiológica en agua.

3.7.1 Cloruros

Un trabajo anterior identificó como el principal interferente inorgánico del efecto microbicida de la ZAg a los iones Cl⁻ contenidos en el agua, a una concentración de 63.41 mg/L (Rossainz-Castro, 2013), debido que encontrarse en contacto con los iones Ag⁺ desorbidos al medio, forman un precipitado de AgCl, el cual no puede ser

aprovechado por las bacterias, impidiendo así su efecto microbicida (Matsumura *et al.*, 2003; Choi *et al.*, 2009).

Un porcentaje máximo de eliminación de Cl⁻ del 60% fue considerado (de acuerdo al anexo A.2.3.1), por lo que una concentración de 25.36 mg/L de Cl⁻ fue utilizada en el proceso de desinfección de *E. coli* con 20 mg de ZAg. Como testigo del proceso de desinfección sin la reducción de interferentes se utilizó la concentración total de Cl⁻ encontrada en el efluente (63.41 mg/L) (Rossainz-Castro, 2013) en presencia de 20 mg de ZAg (Figura 3.22; Tabla B.15).



La reducción de Cl⁻ en la solución mejora el tiempo de desinfección con respecto al proceso con la carga total de Cl⁻, llevándolo dentro del tiempo crítico de desinfección de dos horas (De la Rosa-Gómez, 2007). Sin embargo, dicha mejora en el tiempo para llegar a una muerte celular total aún se encuentra distante del tiempo requerido cuando no hay presencia de Cl⁻ (40 minutos). Esto es debido a la interacción de los iones de Ag⁺, desorbidos al medio por la ZAg, con lo iones Cl⁻ presentes en éste, que terminan formando AgCl (Matsumura *et al.*, 2003; Wang *et al.*, 2003; De la Rosa-Gómez, 2007; Choi *et al.*, 2009; Rossainz-Castro, 2013), el cual tiende a precipitar, impidiendo su ingreso a la membrana celular de los microorganismos. Esto se comprueba con las lecturas de concentración de Ag en el medio, que se

muestran en la figura 3.22, donde se observa menor cantidad de Ag desorbida para el caso donde hay una mayor concentración de Cl⁻ a pesar de usarse la misma masa de ZAg, lo cual se debe a la precipitación de la plata en forma de AgCl, la cual difícilmente es leída por el equipo de absorción atómica, por lo que la Ag señalada en las lecturas se debe a aquella que no ha reaccionado con los Cl⁻ presentes en la solución, y puede ser aprovechada por los microorganismos como nutriente.

3.7.2 Proteína

De acuerdo con los resultados obtenidos sobre la adsorción de la proteína por el quitosano (Anexo A.2.3.2), un porcentaje máximo de eliminación de proteína del 95% fue considerado, por lo que una concentración de 5.245 mg/L de proteína fue utilizada en el proceso de desinfección de *E. coli* con 20 mg de ZAg. La figura 3.23 (Tabla B.15) muestra el efecto que tuvo la disminución de la concentración del interferente en la capacidad microbicida la ZAg.



Figura 3.23 Actividad microbicida de la ZAg frente a *E. coli* en presencia de baja concentración de proteína

Una mejora en el tiempo requerido para llegar a una muerte celular total se observa en la figura 3.23 al reducir la concentración de proteína en la solución (104.9 a 5.245 mg/L), pasando de 140 a 100 minutos (ver Figura 3.8b), colocando el proceso dentro del tiempo crítico de desinfección (De la Rosa-Gómez, 2007). Sin embargo, la disminución en el tiempo requerido de desinfección (28.57%) no es proporcional con la cantidad eliminada de interferente (95%). Lo que puede deberse a que la concentración del interferente presente en la solución (5.245 mg/L) sigue siendo suficiente para neutralizar parte de la Ag desorbida al medio (0.2147 mg/L), al formar entidades de coordinación entre los radicales RCOO⁻, las cadenas laterales de los aminoácidos que componen la proteína y los iones Ag presentes en la solución.

A pesar de la disminuir la concentración de los interferentes en el medio, estos continúan inhibiendo la acción desinfectante de la ZAg, sin embargo, es importante considerar que en todos los casos al disminuir la concentración del interferente utilizando PHQ (Anexo A) el tiempo de desinfección se vuelve menor a 2 horas, además, de que la reducción de la concentración de los interferentes causa efecto tanto en la velocidad de desinfección como en la eficiencia del desinfectante (Tablas C.6 y C.13).

Se debe considerar también que la concentración real de proteína encontrada en el ARM es de 10.49 mg/L y para fines del presente trabajo se decidió utilizar una concentración 10 veces superior por lo que un mejor rendimiento podría observarse al utilizar la concentración real del contaminante.

3.7.3 Ácido fúlvico

De acuerdo con los resultados obtenidos de la adsorción de ácido fúlvico usando quitosano (Anexo A.2.3.3), un porcentaje máximo de eliminación de ácido fúlvico del 65% fue considerado, por lo que una concentración de 52.5 mg/L de ácido fúlvico fue utilizada en el proceso de desinfección de *E. coli* con presencia de 20 mg de ZAg. La figura 3.24 (Tabla B.15) muestra el efecto que tuvo la disminución en la concentración del interferente sobre la capacidad microbicida la ZAg.



Figura 3.24 Actividad microbicida de la ZAg frente a *E. coli* baja concentración de ácido fúlvico

Si bien el tiempo de desinfección se mantiene al disminuir la concentración ácido fúlvico en la solución, la concentración de la plata desorbida al medio por la ZAg (1.148 mg/L Ag) disminuyó a menos de la mitad de la concentración que se presentó cuando estuvo en contacto con la concentración total de ácido fúlvico (2.614 mg/L Ag, ver figura 3.11b), lo cual se ve reflejado en una mejora en la eficiencia del desinfectante (Tabla 3.9) y concuerda con el efecto que se presenta sobre éste por la disminución en la concentración de los interferentes (Tabla C.12 y C.13).

Sin embargo, la concentración de ácido fúlvico en el medio continua siendo mayor a los iones desorbidos, lo que aunado a su alta capacidad para complejar o quelar cationes (Salazar *et al.*, 2013), lleva a que no se observe una mejora en el tiempo de desinfección, debido a la formación de complejos entre el ácido fúlvico y los iones Ag, lo que disminuye su biodisponibilidad e impide la interacción entre los iones y los microorganismos (Fabrega *et al.*, 2009; Aiken *et al.*, 2011; Tang *et al.*, 2014).

3.8 Determinación de la actividad microbicida de la ZAg sobre *E. coli* en presencia de compuestos orgánicos e inorgánicos en un proceso en flujo semi-continuo

Las figuras 3.25 a 3.30 (Tabla B.16) muestran el efecto que los interferentes anteriormente descritos tienen en un proceso en flujo semi-continuo.



Figura 3.25 Actividad microbicida de la ZAg frente a *E. coli* en un sistema en flujo semi-continuo



Figura 3.26 Actividad microbicida de la ZAg frente a *E. coli* en presencia de proteína en un sistema en flujo semi-continuo



Figura 3.27 Actividad microbicida de la ZAg frente a E. coli en presencia de ácido



fúlvico en un sistema en flujo semi-continuo

Figura 3.28 Actividad microbicida de la ZAg frente a E. coli en presencia de Cl- en

un sistema en flujo semi-continuo



Figura 3.29 Actividad microbicida de la ZAg frente a *E. coli* en presencia de la MI un sistema en flujo semi-continuo


Figura 3.30 Actividad microbicida de la ZAg frente a *E. coli* en presencia de una baja concentración de la MI en un sistema en flujo semi-continuo

Sin interferentes la ZAg puede desinfectar hasta 720 mL de agua antes de comenzar a observarse crecimiento microbiano, el cual se presenta cuando la concentración de Ag en el efluente es menor a 0.4 mg/L. Esta disminución en la concentración de iones Ag en la solución se traduce en una disminución del gradiente electroquímico y del gradiente de concentración de iones entre la célula y el medio, provocando que el proceso de difusión de iones Ag hacia dentro de la célula de *E. coli* disminuya, lo que a su vez aumenta la supervivencia de éstas.

La presencia de materia orgánica como proteína (P) o ácidos fúlvicos (AF) reducen la cantidad de agua desinfectada hasta en un 50%, a pesar de que la concentración de plata en el agua debería de ser suficiente para acabar con los microorganismos, lo cual indica una interacción entre la materia orgánica y los iones Ag⁺ desorbidos al medio por la ZAg, de la misma forma que en los procesos en lote. Donde concentraciones mayores a 0.7 y 0.9 mg/L de Ag en el medio en presencia de proteína y ácido fúlvico, respectivamente, permiten la existencia de suficientes iones Ag libres que puedan ser aprovechados por las células de *E. coli* y conlleven a su muerte celular.

En presencia de cloruros el efecto microbicida de la ZAg se ve reducido a 120 mL, debido a que éstos precipitan los iones Ag desorbidos al medio, lo cual no permite

la interacción de los iones Ag⁺ con los microorganismos, dicho efecto se ve replicado en los procesos con mezcla de interferentes (MI) tanto totales como reducidos donde se presentan cuatro tipos de interacciones: $Ag^+ - CI^-$, $Ag^+ - AF^-$, $Ag^+ - P^-$, Ag^+ – *E. coli*, siendo esta última afectada por las otras tres y reduciendo el volumen de agua desinfectado (De la Rosa-Gómez *et al.*, 2008a; Choi *et al.*, 2009).

Si bien la disminución de interferentes en la solución, al utilizar un método fisicoquímico, triplica el volumen de agua desinfectado al pasar de 30 a 90 mL, aún queda lejos el volumen de agua logrado sin la presencia de estos, por lo que variables como el tiempo de residencia tanto en la columna como posterior al proceso en columna deben ser investigadas.

Conforme el material zeolítico pierde iones Ag de su estructura, la *E. coli* muestra una recuperación en la concentración de salida del efluente, por lo que se dice que la ZAg comienza un proceso de inactivación. Dicha inactivación se da en tres etapas: 1) una etapa de inactivación rápida donde la cantidad de iones desorbidos del material zeolítico ya no pueden mantener la desinfección total del microorganismo y este aumenta su concentración en el efluente; 2) una etapa de inactivación lenta donde la Ag desorbida al medio sigue matando a los microorganismos presentes pero su concentración va disminuyendo, perdiendo su efecto microbicida gradualmente; 3) una etapa de estabilización donde la zeolita pierde por completo su efecto microbicida y la concentración de microorganismos en el efluente es cercana a la inicial.

3.9 Modelos cinéticos

3.9.1 Desinfección en lote

Los datos experimentales de los procesos de desinfección en lote analizados en los puntos 3.3 y 3.4 se ajustaron utilizando el modelo de Chick y Chik-Watson permitiendo obtener la cinética de velocidad de muerte celular (k) y la eficiencia del

desinfectante (Figuras B.2 - 9). En las tablas 3.5 a 3.10 se presentan los parámetros obtenidos del ajuste aplicado a los datos experimentales, donde el valor de "Ct" mostrado en las tablas es el teóricamente necesario para disminuir dos unidades Log la concentración inicial de bacterias, entre menor sea el valor de "Ct" mayor es la eficiencia del desinfectante al requerir una menor concentración por tiempo del mismo para lograr la disminución de los microorganismos.

Tabla 3.5 Parámetros cinéticos obtenidos del modelo de Chick partiendo de una

Microorganismo	Interferente	Parámetros	r ²
<i>E. coli</i> - individual	Sin interferentes	k = -0.2878 min ⁻¹	0.9903
	Proteína - 104.9 mg/L	k = -0.0902 min ⁻¹	0.9273
	Ácido fúlvico - 150 mg/L	k = -0.1070 min ⁻¹	0.9332
	Mezcla de interferentes	k = -0.0163 min ⁻¹	0.8537
C. albicans - individual	Sin interferentes	k = -0.1172 min ⁻¹	0.9655
	Proteína - 104.9 mg/L	k = -0.0455 min ⁻¹	0.8631
	Ácido fúlvico - 150 mg/L	k = -0.1172 min ⁻¹	0.9840
	Mezcla de interferentes	k = -0.0029 min ⁻¹	0.8340
<i>E. coli</i> – Consorcio	Sin interferentes	k = -0.0755 min ⁻¹	0.8121
	Proteína - 104.9 mg/L	k = -0.0785min ⁻¹	0.9929
	Ácido fúlvico - 150 mg/L	k = -0.0635 min ⁻¹	0.9402
	Mezcla de interferentes	k = -0.006 min ⁻¹	0.9408
<i>C. albicans</i> – Consorcio	Sin interferentes	k = -0.0524 min ⁻¹	0.9559
	Proteína - 104.9 mg/L	k = -0.0357 min ⁻¹	0.9776
	Ácido fúlvico - 150 mg/L	k = -0.0899 min ⁻¹	0.9428
	Mezcla de interferentes	k = -0.0019 min ⁻¹	0.9551

masa de 10 mg de ZAg

Tabla 3.6 Parámetros cinéticos obtenidos del modelo de Chick partiendo de una

Microorganismo	Interferente	Parámetros	r ²
<i>E. coli</i> – individual	Sin interferentes	$k = -0.4717 \text{ min}^{-1}$	0.9063
	Proteína - 104.9 mg/L	$k = -0.1216 \text{ min}^{-1}$	0.9778
	Ácido fúlvico - 150 mg/L	k = -0.1949 min ⁻¹	0.9396
	Cloruros – 63.41 mg/L	k = -0.0770 min ⁻¹	0.9001
	Mezcla de interferentes	k = -0.0204 min ⁻¹	0.8603
	Proteína – 5.245 mg/L	k = -0.1786 min⁻¹	0.9206
	Ácido fúlvico – 52.5 mg/L	k = -0.2051 min ⁻¹	0.9041
	Cloruros – 25.36 mg/L	k = -0.1201 min ⁻¹	0.8916
<i>C. albicans</i> – individual	Sin interferentes	k = -0.2240 min ⁻¹	0.9894
	Proteína - 104.9 mg/L	k = -0.0704 min ⁻¹	0.95
	Ácido fúlvico - 150 mg/L	k = -0.2070 min ⁻¹	0.9163
	Mezcla de interferentes	k = -0.0037 min ⁻¹	0.6282
<i>E. coli</i> – Consorcio	Sin interferentes	k = -0.1645 min ⁻¹	0.9168
	Proteína - 104.9 mg/L	k = -0.1020 min ⁻¹	0.9925
	Ácido fúlvico - 150 mg/L	k = -0.1569 min ⁻¹	0.9337
	Mezcla de interferentes	$k = -0.0118 \text{ min}^{-1}$	0.9309
<i>C. albicans</i> – Consorcio	Sin interferentes	k = -0.0976 min ⁻¹	0.9282
	Proteína - 104.9 mg/L	$k = -0.0679 \text{ min}^{-1}$	0.9245
	Ácido fúlvico - 150 mg/L	k = -0.1600 min ⁻¹	0.9772
	Mezcla de interferentes	k = -0.0031 min ⁻¹	0.9744

masa de 20 mg de ZAg

Tabla 3.7 Parámetros cinéticos obtenidos del modelo de Chick partiendo de una

masa de 200 mg de ZCu

Microorganismo	Parámetros	r ²
<i>E. coli</i> - individual	k = -0.0161 min ⁻¹	0.7664
C. albicans - individual	k = -0.0062 min ⁻¹	0.8221
<i>E. coli</i> – Consorcio	k = -0.0032 min ⁻¹	0.8831
C. albicans – Consorcio	k = -0.0032 min ⁻¹	0.8893

Tabla 3.8 Parámetros cinéticos obtenidos del modelo de Chick-Watson partiendo

de una masa de 10 mg de Zi	٩g
----------------------------	----

Microorganismo	Interferente	Parámetros	r ²
<i>E. coli</i> - individual	Sin interferentes	k = -3.2284 L*mg _{Ag} -1*min ⁻¹	0.9202
		Ct = 0.620 mg _{Ag} * L ⁻¹ *min	
	Proteína - 104.9 mg/L	k = -0.5405 L*mg _{Ag} -1*min ⁻¹	0.8741
	-	Ct = 3.700 mg _{Ag} * L ⁻¹ *min	
	Ácido fúlvico - 150 mg/L	k = -0.1726 L*mg _{Ag} -1*min ⁻¹	0.8654
		Ct = 11.587 mg _{Ag} * L ⁻¹ *min	
	Mezcla de interferentes	k = -0.3389 L*mg _{Ag} -1*min ⁻¹	0.9180
		Ct = 5.901 mg _{Ag} * L ⁻¹ *min	
<i>C. albicans</i> - individual	Sin interferentes	k = -1.0788 L*mg _{Ag} ⁻ 1*min ⁻¹	0.8962
		$Ct = 1.854 \text{ mg}_{Ag} * L^{-1} * min$	
	Proteína - 104.9 mg/L	$k = -0.0761 L^{*}mg_{Ag}^{-}1^{*}min^{-1}$	0.9337
		$Ct = 26.281 * L^{-1} * min$	
	Acido fúlvico - 150 mg/L	$k = -0.2254 L^{m}_{Ag} 1^{m}_{II}$	0.767
		$Ct = 8.8/3 \text{ mg}_{Ag} * L^{-1} * \text{min}$	
	Mezcla de interferentes	$k = -0.0204 L^{m}_{Ag} 1^{m}_{II}$	0.8962
E coli Concercio	Cipintorforontop	$\frac{\text{Ct} = 98.03 \text{ mg}_{\text{Ag}}^{\circ} \text{ L}^{\circ} \text{ min}}{1200 \text{ mg}_{\text{Ag}}^{\circ} \text{ L}^{\circ} \text{ min}^{\circ}}$	0.0004
E. COII – Consorcio	Sin interierentes	$K = -2.2441 L^{-1} Mg_{Ag} L^{-1} Min^{-1}$	0.9934
	Brotoino 104.0 mg/l	$Cl = 0.091 \text{ mg}_{Ag} \text{ L} \text{ mm}$	0.0670
	Proteina - 104.9 mg/L	$K = -0.1237 L III g_{Ag} I IIIIICt = 16.168 mg_{Ag} * 1-1 *min$	0.9079
	Ácido fúlvico - 150 mg/l	$k = -0.0816 \text{ J} \text{ *mg}_{\text{Ag}}^{-1} \text{*min}^{-1}$	0 8001
		$C_{t} = 24510 \text{ mg}_{Ag} + 1^{-1} \text{ min}$	0.0001
	Mezcla de interferentes	$k = -0.0463 \text{ J} \text{*mg}_{\text{Ag}}^{-1} \text{*min}^{-1}$	0 7751
		$Ct = 43.19 \text{ mg}_{Ag} * L^{-1} * min$	
C. albicans – Consorcio	Sin interferentes	$k = -0.9197 \text{ L}^*\text{mg}_{Ag}^-1^*\text{min}^{-1}$	0.9017
		$Ct = 2.175 mg_{Ag} \cdot L^{-1} \cdot min$	
	Proteína - 104.9 mg/L	k = -0.0309L*mg _{Ag} -1*min ⁻¹	0.9112
		Ct = 64.725 mg _{Ag} * L ⁻¹ *min	
	Ácido fúlvico - 150 mg/L	k = -0.1073L*mg _{Ag} ⁻ 1*min ⁻¹	0.8836
		Ct = 18.639 mg _{Ag} * L ⁻¹ *min	
	Mezcla de interferentes	k = -0.0106L*mg _{Ag} ⁻ 1*min ⁻¹	0.7674
		Ct = 188.67 mg _{Ag} * L ⁻¹ *min	

Tabla 3.9 Parámetros cinéticos obtenidos del modelo de Chick-Watson partiendo

de una masa de 20 mg de ZAg

Microorganismo	Interferente	Parámetros	r ²
<i>E. coli</i> – individual	Sin interferentes	$k = -2.3544 L^{*}mg_{Ag}^{-1}min^{-1}$ Ct = 0.849 mg_{Ag}^{-1} L^{-1}min	0.9091
	Proteína - 104.9 mg/L	k = -0.4934 L*mg _{Ag} -1*min ⁻¹ Ct = 4.054 mg _{Ag} * L ⁻¹ *min	0.9526
	Ácido fúlvico - 150 mg/L	$k = -0.130 L^{*}mg_{Ag}^{-1}min^{-1}$ Ct = 15.385 mg_{Ag}^{*} L^{-1} *min	0.8861
	Cloruros – 63.41 mg/L	k = -0.7629 L*mg _{Ag} ⁻ 1*min ⁻¹ Ct = 2.6215 mg _{Ag} * L ⁻¹ *min	0.9599
	Mezcla de interferentes	k = -0.5834 L*mg _{Ag} -1*min ⁻¹ Ct = 3.428 mg _{Ag} * L ⁻¹ *min	0.3994
	Proteína – 5.245 mg/L	k = -1.8596 L*mg _{Ag} ⁻ 1*min ⁻¹ Ct = 1.0755 mg _{Ag} * L ⁻¹ *min	0.9148
	Ácido fúlvico – 52.5 mg/L	k = -0.3551 L*mg _{Ag} -1*min ⁻¹ Ct = 5.6322 mg _{Ag} * L ⁻¹ *min	0.9298
	Cloruros – 25.36 mg/L	k = -1.2436 L*mg _{Ag} -1*min ⁻¹ Ct = 1.608 mg _{Ag} * L ⁻¹ *min	0.9767
<i>C. albicans</i> – individual	Sin interferentes	k = -1.9666 L*mg _{Ag} -1*min ⁻¹ Ct = 1.017 mg _{Ag} * L ⁻¹ *min	0.8940
	Proteína - 104.9 mg/L	k = -0.1273 L*mg _{Ag} ⁻ 1*min ⁻¹ Ct = 15.711 mg _{Ag} * L ⁻¹ *min	0.9151
	Ácido fúlvico - 150 mg/L	k = -0.1565 L*mg _{Ag} ⁻ 1*min ⁻¹ Ct = 12.780 mg _{Ag} * L ⁻¹ *min	0.7149
	Mezcla de interferentes	k = -0.025 L*mg _{Ag} -1*min ⁻¹ Ct = 80 mg _{Ag} * L ⁻¹ *min	0.7761
<i>E. coli</i> – Consorcio	Sin interferentes	k = -1.6859 L*mg _{Ag} ⁻ 1*min ⁻¹ Ct = 1.186 mg _{Ag} * L ⁻¹ *min	0.9456
	Proteína - 104.9 mg/L	$k = -0.1535 L^*mg_{Ag}^{-1}*min^{-1}$ Ct = 13.029 mg_{Ag}* L^{-1}*min	0.9596
	Ácido fúlvico - 150 mg/L	$k = -0.143 L^{*}mg_{Ag}^{-1}min^{-1}$ Ct = 13.986 mg_{Ag}^{*} L^{-1} min^{-1}	0.7976
	Mezcla de interferentes	$k = -0.124 L^{*}mg_{Ag}^{-1}min^{-1}$ Ct = 16.129 mg_{Ag}^{*} L^{-1} *min	0.8151
C. albicans – Consorcio	Sin interferentes	k = -0.9203 L*mg _{Ag} -1*min ⁻¹ Ct = 2.173 mg _{Ag} * L ⁻¹ *min	0.8819
	Proteína - 104.9 mg/L	k = -0.0567L*mg _{Ag} ⁻ 1*min ⁻¹ Ct = 35.273 mg _{Ag} * L ⁻¹ *min	0.9734
	Ácido fúlvico - 150 mg/L	$k = -0.1428 L^{*}mg_{Ag}^{-}1^{*}min^{-1}$ Ct = 14.006 mg _{Ag} * L ⁻¹ *min	0.8362
	Mezcla de interferentes	$k = -0.0118 L^{*}mg_{Ag}^{-}1^{*}min^{-1}$ Ct = 169.49 mg_{Ag} * L^{-1} *min	0.5383

Microorganismo	Parámetros	r ²
<i>E. coli</i> - individual	k = -0.0545 L*mg _{Ag} -1*min ⁻¹ Ct = 36.7 mg _{Ag} * L ⁻¹ *min	0.9028
C. albicans - individual	$k = -0.0166 L^*mg_{Ag}^{-1}*min^{-1}$ Ct = 120.48 mg_{Ag}* L^{-1}*min	0.8732
<i>E. coli</i> – Consorcio	$k = -0.0047 L^{*}mg_{Ag}^{-}1^{*}min^{-1}$ Ct = 425.53 mg_{Ag}^{*} L^{-1}^{*}min	0.9599
<i>C. albicans –</i> Consorcio	k = -0.0042 L*mg _{Ag} ⁻ 1*min ⁻¹ Ct = 476.19 mg _{Ag} * L ⁻¹ *min	0.9725

Tabla 3.10 Parámetros cinéticos obtenidos del modelo de Chick-Watson partiendo de una masa de 200 mg de ZCu

El análisis de las constantes cinéticas permite dar una explicación más detallada de lo que sucede en el proceso de desinfección, mostrando que la muerte celular de *E. coli* se lleva a cabo a mayor velocidad que la de *C. albicans* exceptuando los procesos donde hay presencia de ácido fúlvico en los cuales la velocidad de muerte celular se ve igualada en ambos procesos. Esto se ve replicado en el análisis de eficiencia del desinfectante, siendo más eficiente para la desinfección de *E. coli* que de *C. albicans*, a excepción nuevamente de los procesos con presencia de ácido fúlvico que vuelven más eficiente el proceso de desinfección de *C. albicans* con respecto a su homólogo de *E. coli*. Lo que indica que la solución de ácido fúlvico afecta en mayor medida a la desinfección de *E. coli* que a la de *C. albicans*.

La presencia de los microorganismos en consorcio disminuye la velocidad y la eficiencia del desinfectante sobre ambos, esto probablemente es debido al aumento en la concentración de microorganismos a ser desinfectados, así como a la competencia por los iones biodisponibles en la solución por parte de éstos.

Los datos experimentales muestran que un aumento en la masa de ZAg se ve reflejado en una mayor velocidad de desinfección, aunque no así en la eficiencia de ésta. Donde una masa menor de ZAg presenta mejor eficiencia en la desinfección de *E. coli*, excepto cuando hay presencia de una mezcla de interferentes. Mientras para la desinfección de *C. albicans* una masa mayor de ZAg mejora la eficiencia, excepto cuando hay presencia de ácido fúlvico. Estos datos indican que, al aumentar la cantidad de iones en el medio, debido al aumento en la masa del desinfectante, se da una mejora en la tasa de intercambio químico en las células de

C. albicans, esto probablemente debido a que la membrana celular del microorganismo presenta una superficie mayor. Lo que permitiría que al haber una mayor cantidad de iones Ag^+ en el medio la membrana celular de la *C. albicans* no se vea saturada, como si lo podría suceder con la membrana celular de la *E. coli* (Campbell y Reece, 2007). mejorando el aprovechamiento de los iones y por ende la eficiencia de desinfección. Lo que explicaría porque la presencia de ácido fúlvico afecta en mayor medida a la desinfección de *E. coli*, al promover la desorción de iones al medio.

La velocidad de desinfección se ve afectada en mayor medida por la presencia de una mezcla de interferentes, en donde los iones Cl⁻ hacen que precipitan los iones Ag⁺ en forma de AgCl, seguidos por la presencia de material proteico y el ácido fúlvico que también interactúan con los iones Ag⁺ impidiendo su aprovechamiento por los microorganismos. La presencia de los compuestos orgánicos afecta la eficiencia de la desinfección dependiendo del microorganismo; para *E. coli* la eficiencia se ve más afectada por la presencia de ácido fúlvico; para la *C. albicans* la eficiencia se afecta en mayor medida por material proteico. Esto puede deberse a dos factores: 1) la interacción de ambos compuestos con los iones Ag⁺ desorbidos al medio disminuyendo su biodisponibilidad, 2) la mejora las tasas de intercambio químico en la *C. albicans* al aumentar la cantidad de iones Ag⁺ en el medio.

En general los interferentes disminuyen la velocidad de desinfección con respecto a sus procesos homólogos sin presencia de interferentes, a excepción de los procesos en donde se encuentra la *C. albicans* en presencia de ácido fúlvico, en los se ve igualada a su proceso sin presencia de interferentes. Si bien esto arrojaría indicios de que el ácido fúlvico no interfiere en el proceso de desinfección de *C. albicans*, el análisis estadístico (Tablas C.7, C.14 y C.21) muestra que el ácido fúlvico no presenta efecto sobre la velocidad de desinfección, pero si tiene un efecto significativo en la desorción de iones al medio y en la eficiencia del desinfectante. Esta disminución en la eficiencia de los procesos es debida a la interacción de los iones Ag⁺ con los compuestos interferentes añadidos a la solución que impiden una correcta difusión de los primeros dentro de la membrana celular impidiendo que lleven a cabo su efecto microbicida. Así, a pesar de existir iones Ag⁺ en la solución estos no pueden ser aprovechados de manera correcta por lo microorganismos al estar formando complejos con los interferentes.

El efecto del ácido fúlvico en el proceso de desinfección de *C. albicans* se explica entonces por la alta cantidad de iones plata desorbidos al medio debido a la presencia de ácido fúlvico en la solución, lo que aumenta el gradiente electroquímico entre la membrana y el medio impulsando la difusión de iones a través de la membrana, que al ser de mayor tamaño comparativamente con la *E. coli* (Campbell y Reece, 2007), permite el paso con mayor facilidad de esta alta concentración de iones, sin embargo, al mismo tiempo el ácido fúlvico forma complejos con los iones desorbidos de la ZAg, lo que impide que todos los iones sean aprovechados de manera óptima, viéndose reflejado en un aumento de velocidad de desinfección, pero en una disminución de la eficiencia.

La disminución de la concentración de interferentes por la aplicación de un método fisicoquímico aumenta la velocidad de desinfección al mismo tiempo que mejora la eficiencia lo que se debe al aumento de iones Ag⁺ disponibles en la solución. El análisis estadístico muestra que la disminución de los interferentes provoca un mayor efecto en la velocidad de desinfección y posteriormente en la eficiencia del desinfectante (Tablas C.6 y C.13). Lo que indica que, si bien el proceso utilizado para la reducción de interferentes aún puede ser mejorado, éste tiene un efecto positivo en el posterior proceso de desinfección con ZAg.

Al utilizar ZCu como agente desinfectante se observa un comportamiento similar al encontrado al utilizar ZAg, donde la velocidad de desinfección y la eficiencia del desinfectante son mayores para *E. coli* que para *C. albicans*. Al utilizar un consorcio microbiano la velocidad de desinfección y la eficiencia se ven disminuidas (Tablas 3.7 y 3.10). Aunado a esto, los valores de velocidad de desinfección y eficiencia del desinfectante son menores al utilizar ZCu como agente desinfectante que al utilizar

ZAg, aun cuando ésta se vea afectada por la presencia de interferentes (Tablas 3.5 a 3.10), lo que indica que la ZCu presenta un efecto microbicida menor sobre los microorganismos. Debido a los bajos valores experimentales y cinéticos presentados por la ZCu comparativamente con la ZAg, además, de que el análisis estadístico muestra que al añadir la ZCu como factor de respuesta en el material desinfectante (Tablas C.6, C.13 y C.20) este provoca un efecto significativo en la velocidad de desinfección, la eficiencia del desinfectante y la desorción de iones al medio, se decidió descartar la ZCu en las pruebas con presencia de interferentes.

3.9.2 Adsorción de interferentes

Los datos experimentales de las cinéticas de adsorción de Cl⁻ fueron ajustados a los modelos de pseudo-primer orden y pseudo-segundo orden (Figuras B.10). En la tabla 3.11 se presentan los parámetros obtenidos.

Modelo	Interferente / adsorbente	Parámetros	r ²
Lagergren	Cloruros - ZAg	k₁ = 0.0189min ⁻¹ q _e = 24.4186 mg/g	0.9790
Ho-McKay	Cloruros - ZAg	$k_2 = 5.862 \text{ E-04 g/mg*min}$ $q_e = 31.4081 \text{ mg/g}$	0.9884

Tabla 3.11 Parámetros obtenidos de modelos cinéticos de adsorción

Los datos experimentales muestra un buen ajuste a ambos modelos de adsorción, aunque ligeramente mejor al modelo de Ho-McKay, lo que indica un proceso de quimisorción el cual puede ser resultado de las fuerzas de atracción electrostáticas entre los componentes cargados positivamente del adsorbente (Ag⁺) y los iones Cl⁻ cargados negativamente del sorbato (Qiu *et al.*, 2009), lo que conllevaría a la formación de AgCl en la superficie del material zeolítico, limitando el proceso de adsorción a la formación de una monocapa. Sin embargo, no se pueden descartar reacciones de precipitación química en el medio, debido a la interacción de los iones Cl del sorbato y los iones Ag desorbidos a éste, las cuales estarían limitadas por la capacidad de desorción de iones del material. Se realizó también el ajuste a los modelos cinéticos de adsorción al usar un polímero orgánico como material adsorbente, tal como se muestra en el anexo A.2.4.

3.9.3 Desorción de iones al medio

Los datos experimentales de desorción de Ag y Cu al medio de los procesos de desinfección, realizados en los puntos 3.3 y 3.4 fueron ajustados al modelo de Korsmeyer-Peppas y Higuchi (Figuras B.11 a B.17) con la finalidad de conocer la cinética de liberación de iones al medio y observar su comportamiento al variar el tipo de desinfectante y su concentración, además, de analizar el efecto que tiene la presencia de interferentes en su carga máxima y su posterior reducción al aplicar un proceso de adsorción. Las tablas 3.12 a 3.16 muestran los parámetros cinéticos obtenidos del ajuste aplicado a los datos experimentales.

Microorganismo	Interferente	Parámetros	r ²
E. coli	Sin interferentes	k = 2.5118E-4 min ⁻¹	0.97446
	Proteína - 104.9 mg/L	k = 2.0169E-4 min ⁻¹	0.95073
	Ácido fúlvico - 150 mg/L	k = 1.1800E-3 min ⁻¹	0.94154
	Mezcla de interferentes	k = 1.0572E-5 min ⁻¹	0.96826
C. albicans	Sin interferentes	k = 2.2157E-4 min ⁻¹	0.87108
	Proteína - 104.9 mg/L	k = 3.6202E-4 min ⁻¹	0.91326
	Ácido fúlvico - 150 mg/L	k = 9.9368E-4 min ⁻¹	0.92718
	Mezcla de interferentes	k = 1.1028E-5 min ⁻¹	0.84102
Consorcio	Sin interferentes	k = 4.5471E-5 min ⁻¹	0.88613
	Proteína - 104.9 mg/L	k = 4.3827E-4 min ⁻¹	0.97048
	<u>Ácido fúlvico - 150 mg/L</u>	k = 7.8579E-4 min ⁻¹	0.52732
	Mezcla de interferentes	k = 1.0708E-5 min ⁻¹	0.87050

Tabla 3.12 Parámetros cinéticos obtenidos del modelo de Korsmeyer-Peppas partiendo de 10 mg de ZAg Tabla 3.13 Parámetros cinéticos obtenidos del modelo de Korsmeyer-Peppas

Microorganismo	Interferente	Parámetros	r ²
E. coli	Sin interferentes	k = 2.2793E-4 min ⁻¹	0.42088
	Proteína - 104.9 mg/L	k = 1.6603E-4 min ⁻¹	0.87105
	Ácido fúlvico - 150 mg/L	k = 1.5200E-3 min ⁻¹	0.93961
	Cloruros – 63.41 mg/L	k = 5.7141E-5 min ⁻¹	0.95304
	Mezcla de interferentes	k = 9.5501E-6 min ⁻¹	0.79340
	Proteína – 5.245 mg/L	k = 1.0057E-4 min ⁻¹	0.95801
	Ácido fúlvico – 52.5 mg/L	k = 5.1745E-4 min ⁻¹	0.93140
	Cloruros – 25.36 mg/L	k = 9.1698E-5 min ⁻¹	0.94967
C. albicans	Sin interferentes	k = 1.2917E-4 min ⁻¹	0.95010
	Proteína - 104.9 mg/L	k = 2.5614E-4 min ⁻¹	0.88506
	Ácido fúlvico - 150 mg/L	k = 1.4300E-3 min ⁻¹	0.97632
	Mezcla de interferentes	k = 3.1689E-4 min ⁻¹	0.50126
Consorcio	Sin interferentes	k = 8.6391E-5 min ⁻¹	0.86736
	Proteína - 104.9 mg/L	k = 2.6430E-4 min ⁻¹	0.94105
	Ácido fúlvico - 150 mg/L	k = 7.5976E-4 min ⁻¹	0.95131
	Mezcla de interferentes	k = 7.6143E-6 min ⁻¹	0.73622

partiendo de 20 mg de ZAg

Tabla 3.14 Parámetros cinéticos obtenidos del modelo de Higuchi partiendo de

10 mg de ZAg

Microorganismo	Interferente	Parámetros	r ²
E. coli	Sin interferentes	k = 0.00218 min ^{-1/2}	0.88548
	Proteína - 104.9 mg/L	k = 0.00209 min ^{-1/2}	0.73326
	Ácido fúlvico - 150 mg/L	k = 0.01032 min ^{-1/2}	0.87932
	Mezcla de interferentes	k = 2.4583E-4 min ^{-1/2}	0.76819
C. albicans	Sin interferentes	$k = 0.00217 \text{ min}^{-1/2}$	0.69556
	Proteína - 104.9 mg/L	k = 0.00434 min ^{-1/2}	0.62397
	Ácido fúlvico - 150 mg/L	$k = 0.00874 \text{ min}^{-1/2}$	0.88845
	Mezcla de interferentes	k = 4.3117E-4 min ^{-1/2}	0.67844
Consorcio	Sin interferentes	k = 6.7735E-4 min ^{-1/2}	0.91951
	Proteína - 104.9 mg/L	k = 0.00790 min ^{-1/2}	0.83137
	Ácido fúlvico - 150 mg/L	$k = 0.01169 \text{ min}^{-1/2}$	0.96151
	Mezcla de interferentes	k = 4.5539E-4 min ^{-1/2}	0.67583

Tabla 3.15 Parámetros cinéticos obtenidos del modelo de Higuchi partiendo de

Microorganismo	Interferente	Parámetros	r ²
E. coli	Sin interferentes	$k = 0.00211 \text{ min}^{-1/2}$	0.9562
	Proteína - 104.9 mg/L	k = 0.00159 min ^{-1/2}	0.89668
	Ácido fúlvico - 150 mg/L	$k = 0.01375 \text{ min}^{-1/2}$	0.69793
	Cloruros – 63.41 mg/L	k = 6.1892E-4 min ^{-1/2}	0.91365
	MI - totales	k = 1.9049E-4 min ^{-1/2}	0.54631
	Proteína – 5.245 mg/L	k = 0.00106 min ^{-1/2}	0.80169
	Ácido fúlvico – 52.5 mg/L	k = 0.00554 min ^{-1/2}	0.82207
	Cloruros – 25.36 mg/L	k = 9.73516E-4 min ^{-1/2}	0.80897
C. albicans	Sin interferentes	k = 0.00111 min ^{-1/2}	0.77851
	Proteína - 104.9 mg/L	k = 0.00278 min ^{-1/2}	0.85008
	Ácido fúlvico - 150 mg/L	k = 0.01616 min ^{-1/2}	0.81077
	MI - totales	k = 8.34442E-6 min ^{-1/2}	0.70470
Consorcio	Sin interferentes	k = 9.35323E-4 min ^{-1/2}	0.82546
	Proteína - 104.9 mg/L	$k = 0.00484 \text{ min}^{-1/2}$	0.89614
	Ácido fúlvico - 150 mg/L	$k = 0.01067 \text{ min}^{-1/2}$	0.87021
	MI - totales	k = 3.17873E-4 min ^{-1/2}	0.52871

20 mg de ZAg

Tabla 3.16 Parámetros cinéticos de desorción partiendo de 200 mg de ZCu

Microorganismo	Modelo	Parámetros	r ²
E. coli	Korsmeyer-Peppas	k = 3.1436E-5 min ⁻¹	0.30643
	Higuchi	k = 9.78582E-4 min ^{-1/2}	0.92556
C. albicans	Korsmeyer-Peppas	k = 2.59292E-5 min ⁻¹	0.31598
	Higuchi	$k = 0.001 \text{ min}^{-1/2}$	0.92881
Consorcio	Korsmeyer-Peppas	k = 1.32897E-5 min ⁻¹	0.84761
	Higuchi	k = 7.96675E-4 min ^{-1/2}	0.83892

Los parámetros obtenidos del ajuste a los modelos de desorción muestran que los datos ajustan de mejor manera al modelo de Korsmeyer-Peppas, lo que indica que el proceso sigue una cinética de orden n = 1.

Al observar las diferencias entre las F calculadas y la F crítica (Tabla C.20), el efecto del tipo de microorganismo presente en el medio sobre la velocidad de desorción de iones a éste, es menor al provocado por la variación del tipo de material desinfectante utilizado y al provocado por la presencia de interferentes, lo que aunado a que el aumento en la masa de la ZAg no genere un efecto en la velocidad de desorción de iones, indica que es un proceso de intercambio iónico que depende exclusivamente de los iones Ag⁺ presentes en el material zeolítico y los iones contenidos en la solución.

Las constantes cinéticas de velocidad de liberación (k) así como el análisis estadístico (Tabla C.21) muestran que la presencia de proteína no genera una variación significativa en la liberación de Ag al medio, mientras que la presencia de ácido fúlvico si mejora significativamente su liberación. Mientras la presencia de cloruros disminuye significativamente la presencia Ag en el medio.

Los datos experimentales observan un aumento en la velocidad de liberación de Ag al medio cuando disminuye la concentración de Cl⁻ en la solución. Mientras, para el caso de la proteína, la variación de la concentración no genera una variación significativa en la velocidad de desorción de iones Ag al medio. La disminución en la concentración de ácido fúlvico disminuye la velocidad de liberación de Ag al medio. El análisis estadístico muestra que la disminución en general de los interferentes si tiene un efecto en la velocidad de desorción de iones al medio. Lo que aunado a que la disminución de los interferentes se ve reflejado, como ya se mostró en el punto 3.9.1, en una mejora en la velocidad de desinfección, termina por provocar una mejora en la eficiencia del proceso.

Estos datos indican claramente una interacción entre los iones Ag⁺ liberados al medio por la ZAg y los Cl⁻, ácidos fúlvicos y proteínas presentes en la solución, donde la disminución de los interferentes en el medio minimiza estas interacciones, permitiendo a los iones Ag⁺ estar biodisponibles para los microorganismos y llevar a cabo su efecto microbicida

Los resultados obtenidos de los procesos con eliminación de interferentes muestran que el uso de nuevos métodos para la eliminación de contaminantes del agua, actúan favorablemente en el posterior uso de la ZAg en la desinfección. Sin embargo, el estudio de factores como el tiempo de residencia anterior y posterior a la columna, mejoras en el proceso de eliminación de interferentes y estudios de recuperación de iones Ag en el medio, son necesarios para obtener procesos de menor costo, más eficientes y sin la generación de contaminantes secundarios.

3.9.4 Desinfección en flujo semi-continuo

Los datos experimentales de los procesos de desinfección en flujo semi-continuo analizados en el punto 3.8 se ajustaron al modelo de crecimiento logístico poblacional, con lo que se obtuvieron la constante de velocidad de crecimiento (k) que es una medida de la pendiente de la curva y el tiempo medio de la curva de ruptura (t₅₀) que nos permite tener una idea del desplazamiento con respecto al tiempo debido a la presencia de interferentes en el medio (Figuras B.17 a B.22). En la tabla 3.17 se presentan los parámetros obtenidos del ajuste aplicado a los datos experimentales.

Proceso	k (min⁻¹)	t ₅₀ (min)	r ²
ZAg	0.0587	393.5	0.9829
ZAg – Proteína – 5.245 mg/L	0.0641	288.94	0.9780
ZAg – Ácido fúlvico – 52.5 mg/L	0.03606	257.19	0.9971
ZAg – Cloruros – 25.36 mg/L	0.08294	107.84	0.9687
ZAg – MI Totales	0.0793	36.63	0.9126
ZAg – MI Reducidos	0.0654	68.85	0.8992

Tabla 3.17 Parámetros cinéticos de desinfección en flujo semi-continuo

El análisis de los resultados obtenidos de la tabla 3.17 muestra que los datos experimentales ajustan correctamente al modelo de crecimiento logístico. La disminución del tiempo medio de la curva de ruptura en los casos en los que hay presencia de interferentes en comparación con el proceso sin presencia de éstos indica que éstos provocan una disminución en el tiempo total de agotamiento de la columna. Donde la presencia de Cl⁻ ya sea solos o en presencia de otros compuestos (MI), son los principales causantes de este efecto, seguido del ácido fúlvico y en última instancia de la proteína.

Además, la presencia de interferentes provoca un aumento en la constante cinética de velocidad de crecimiento microbiano, a excepción de cuando hay presencia de ácido fúlvico, lo cual es indicativo de un aumento en la velocidad de inactivación de la columna. La presencia de ácido fúlvico disminuye la constante cinética (k) y por ende también la velocidad de inactivación de la columna, lo cual se explica debido

al efecto del ácido fúlvico sobre la ZAg el cual tiende a forzar a ésta a desorber los iones Ag contenidos en su matriz manteniendo un efecto residual de la desinfección durante un mayor tiempo. Sin embargo, al mismo tiempo el ácido fúlvico interactúa con los iones Ag desorbidos al medio impidiendo que lleven a cabo su efecto microbicida, lo cual hace que el tiempo medio de agotamiento se vea disminuido.

Con la finalidad de conocer la eficiencia del desinfectante se calculó el número de volúmenes de agua tratados (BV) y la tasa de agotamiento del material (AER) los resultados obtenidos se muestran en la tabla 3.18

	ZAg	ZAg - proteína	ZAg - a. fúlvico	ZAg - cloruros	ZAg – MI totales	ZAg - MI reducidos
t _{ruptura} (min)	360	240	180	60	15	45
Volumen de agua tratado (L)	0.72	0.48	0.36	0.12	0.03	0.09
Volumen del desinfectante (L)	0.00157	0.00157	0.00157	0.00157	0.00157	0.00157
BV	458.60	305.73	229.30	76.43	19.11	57.32
Masa del desinfectante (g)	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
AER (g/L)	0.28	0.42	0.56	1.67	6.67	2.22

Tabla 3.18 Parámetros de eficiencia de la columna

La presencia de interferentes disminuye el BV y aumenta la AER indicando una disminución en la eficiencia de la columna. Donde de igual manera que en el análisis de las constantes cinéticas los procesos en los cuales hay presencia de Cl⁻ son aquellos que se ven mayormente afectados esto debido a la interacción entre los iones Ag⁺ y los Cl⁻ formando precipitado de AgCl e impidiendo los procesos de difusión en la membrana celular. Es importante notar que el uso de un proceso para la reducción de los interferentes mejora la eficiencia de la columna en un 300%.

Los datos de AER muestran resultados alentadores en el uso de la ZAg como material desinfectante. Al compararlo con otro trabajo de investigación donde se usó como material desinfectante de *E. coli* perlas de resinas recubiertas con nanopartículas de Ag (PRAg) (Mthombeni *et al.*, 2012), se observó que la AER es menor en todos los caos en los que se utiliza ZAg en comparación con la obtenida

con el uso de las PRAg (2.1 g/L) a las mismas condiciones de operación, indicando una mejor eficiencia de la columna de ZAg, a excepción de cuando hay una mezcla de interferentes con la concentración total encontrada en un ARM. Sin embargo, la disminución de esta concentración por un proceso fisicoquímico antes de la desinfección (MI – reducidos) coloca nuevamente a la ZAg como una columna con mayor eficiencia. Indicando que el uso de la ZAg en conjunto con nuevos métodos que permitan la eliminación o reducción de compuestos tanto orgánicos como inorgánicos es una opción viable para procesos de desinfección en flujo continuo.

CONCLUSIONES

Los componentes orgánicos asociados al agua residual de origen municipal influyen sobre la actividad microbicida de la clinoptilolita acondicionada con plata (ZAg), partiendo de suspensiones acuosas de *Escherichia coli, Candida albicans y un* consorcio microbiano de *Escherichia coli-Candida albicans.*

El acondicionamiento de la ZNat de Chihuahua con NaCl incrementa la presencia de iones de Na⁺ en la ZNat. La ZNa es más selectiva para los iones Ag⁺ que para los iones Cu²⁺. El acondicionamiento de la ZNat con la solución de NaCl y posteriormente con AgNO₃ y CuSO₄ no modifica la estructura cristalina del material zeolítico.

La ZNa no muestra efecto microbicida sobre *E. coli* o *C. albicans,* mientras la ZAg y ZCu si lo presentan y al aumentar la masa de la ZAg, el tiempo de desinfección se ve disminuido. La presencia de compuestos orgánicos, como la proteína y el ácido fúlvico, e inorgánicos como los Cl⁻ influyen sobre el tiempo de desinfección requerido para llegar a una muerte celular total de *E. coli* o *C. albicans.* Las células de *C. albicans* son más resistentes a los procesos de desinfección que las células de *E. coli.* Los compuestos orgánicos, como las proteínas y ácido fúlvico, e inorgánicos como los Cl⁻ no tienen efecto sobre la supervivencia de *E. coli* o *C. albicans.*

Los datos experimentales de los procesos de desinfección en lote se justan al modelo Chick y Chick -Watson. I aumento de la masa de ZAg genera un efecto significativamente positivo sobre la velocidad de desinfección. La cantidad del agente zeolítico microbicida, no tiene un efecto general sobre a eficiencia del desinfectante.

Al variar el tipo de desinfectante o el tipo de microorganismo se provoca un efecto significativo tanto en la velocidad de desinfección como en la eficiencia del desinfectante, siendo mayor el efecto provocado por el primero y donde la velocidad de desinfección de acuerdo al desinfectante se da en el orden ZAg 20 mg > ZAg 10 mg >> ZCu 200 mg. La presencia de albúmina, ácido fúlvico y cloruros en el agua, provoca un efecto negativo sobre la velocidad de desinfección y sobre la eficiencia del desinfectante, no importando si se usan 10 o 20 mg de ZAg.

La presencia de albúmina, ácido fúlvico y cloruros en el agua, genera un mayor efecto sobre la velocidad de desinfección al utilizar ZAg 20 mg, siendo el orden MI > proteína > ácido fúlvico. El efecto provocado sobre la eficiencia del desinfectante se da en el orden ácido fúlvico >> proteína ≅ mezcla de interferentes. La disminución de la concentración de los interferentes genera un efecto positivo sobre la velocidad de desinfección y sobre la eficiencia del agente microbicida.

Los datos experimentales del proceso de desorción de iones Ag⁺ de los materiales zeolíticos modificados, se ajustan al modelo cinético de Korsmeyer-Peppas. La variación en el tipo de desinfectante y la presencia de interferentes, generan un efecto significativo sobre la velocidad de desorción de Ag⁺. El aumento de la masa de ZAg no provoca ningún efecto, ZAg 10mg \approx ZAg 20mg > ZCu 200mg. El efecto provocado por los interferentes sobre la velocidad de desorción se da en el orden ácido fúlvico > MI > proteína. La reducción de la concentración de interferentes provoca un efecto sobre la velocidad de desorción de Ag⁺.

Los datos experimentales del proceso de adsorción de interferentes ajustan al modelo de Ho-McKay, siendo un proceso de quimisorción.

Los datos experimentales de la desinfección en flujo continuo ajustan un modelo logístico de crecimiento de poblaciones. La presencia de interferentes en el medio provoca el agotamiento de la columna en un menor tiempo, disminuyendo el volumen de agua tratado, el número de volúmenes de agua tratados y aumenta la tasa de agotamiento del material. La concentración umbral de Ag⁺ requerida en el medio, para que se lleve a cabo la desinfección en un proceso en flujo semicontinuo, aumenta de acuerdo al interferente presente, en el orden de Cl⁻ > ácido fúlvico > proteína. La disminución de la concentración de interferentes en el medio aumenta al doble el volumen de agua desinfectado, disminuye la velocidad de inactivación del desinfectante y mejora tiempo de agotamiento de la columna y la tasa de agotamiento del material.

El uso de la ZAg en conjunto con nuevos métodos de tratamiento de ARM, que disminuyan la concentración de los compuestos que pueden actuar como interferentes, mejora el rendimiento de la desinfección del agua, situándola como una alternativa para el tratamiento de ARM.

RECOMENDACIONES

Tomando en consideración que la variable que mayor efecto tuvo sobre los procesos de desinfección fue la presencia de los compuestos interferentes, es importante de reducción de los mismos, antes del tratamiento con ZAg, por lo que el análisis de variables como el pH, tamaño del material adsorbente o el uso de otros materiales que puedan adsorber este tipo de componentes, como las zeolitas modificadas con surfactantes, son aspectos importantes a investigar.

Variables que se consideran en la desinfección del agua en un sistema en continuo, tales como el flujo y el tiempo de residencia, pueden afectar la muerte celular, por lo que resultan de interés, considerarlas para futuras investigaciones.

REFERENCIAS

- Acosta, R.S., 2008. Saneamiento ambiental e higiene de los alimentos/ Environmental sanitation and food hygiene. Editorial Brujas, Argentina, pp. 63–64.
- Acton, Q.A., 2012. Aluminum Silicates—Advances in Research and Application: 2012 Edition. Scholarly Editions, USA, p. 188.
- Agouborde-Manosalva, L.I., 2008. Remoción de metales pesados por medio de adsorbentes no convencionales. Tesis de Doctorado, Universidad de la Frontera, Chile, pp. 10–30.
- Aguirre, G.P., 2007. Quimica 2. Un Enfoque Constructivista. Pearson Educación, México, pp. 72–73.
- Aiken, G.R., Hsu-Kim, H., Ryan, J.N., 2011. Influence of dissolved organic matter on the environmental fate of metals, nanoparticles, and colloids. Environmental science & technology. 45(8), 3196–3201.
- Akhigbe, L., Ouki, S., Saroj, D., 2016. Disinfection and removal performance for *Escherichia coli* and heavy metals by silver-modified zeolite in a fixed bed column. Chemical Engineering Journal. 295, 92–98.
- Alarcón-Barrón, M., 2014. Estudio preliminar de la remoción del ión fluoruro sobre el hidrogel Q-EGDE-PVA. Tesis de Licenciatura, Instituto Tecnológico de Toluca, México, pp. 10–51.
- Amashta, I.A.K., Katime, I., Trabanca, O.K., Trabanca, D.K., 2004. Los materiales inteligentes de este milenio: los hidrogeles macromoleculares: síntesis, propiedades y aplicaciones. Universidad del País Vasco, Servicio Editorial Euskal Herriko Unibertsitateko, Argitalpen Zerbitzua, España, pp. 21–281.
- Aragón-Fernández, J., González Santos, R., Fuentes Esteves, G., 2010. Study *in vitro* of delivery drug from a compound biomaterial (Estudio *in vitro* de liberación de fármacos desde un biomaterial compuesto). Revista CENIC. Ciencias Químicas. 41, 1–8.
- ATCC, 2014a. *Escherichia coli* (Migula) Castellani and Chalmers (ATCC® 25922[™]) [http://www.atcc.org/products/all/25922.aspx].

- ATCC, 2014b. *Candida albicans* (Robin) Berkhout (ATCC® 10231[™]) [http://www.atcc.org/products/all/10231.aspx].
- Attari, S.Z., 2014. Perceptions of water use. Proceedings of the National Academy of Sciences. 111(14), 5129–5134.
- Ayliffe, G.A.J., Babb, J.R., Davies, J.G., Lilly, H.A., 1988. Hand disinfection: a comparison of various agents in laboratory and ward studies. Journal of Hospital Infection. 11(3), 226–243.
- Balboa-Benavente, S., 2007. Química de coordinación de iones metálicos en estado de oxidación II, derivados de [Alfa]-hidroxicarboxilatos. Tesis de Doctorado, Santiago de Compostela: Universidade, España, pp. 35–38.
- Berg, H.C., 2004. E. coli in Motion. Springer, USA, pp. 1–30.
- Bhatnagar, A., Kumar, E., Sillanpää, M., 2011. Fluoride removal from water by adsorption—A review. Chemical Engineering Journal. 171(3), 811–840.
- Bosch, P., Olguín, M.T., Bulbulian, S., 2011. Zeolitas Naturales, Características, propiedades y usos. Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico.
- Botello, A. V, 2005. Golfo de México: contaminación e impacto ambiental : diagnóstico y tendencias. Universidad Autónoma de Campeche, Centro de Ecología, Pesquerías y Oceanografía del Golfo de México, México, pp. 475–505.
- Bradford, M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry. 72(1–2), 248–254.
- Brugnera, M.F., Miyata, M., Fujimura Leite, C.Q., Zanoni, M.V.B., 2014. Silver ion release from electrodes of nanotubes of TiO2 impregnated with Ag nanoparticles applied in photoelectrocatalytic disinfection. Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry. 278(0), 1–8.
- Burrola-Aguilar, C., 2004. Cinética del proceso de desinfección del agua al utilizar clinoptilolita natural intercambiada con iones metálicos, como microbicida. México.
- Campbell, N.A., Reece, J.B., 2007. Biología. Editorial Medica Panamericana S.A., USA.
- Canosa, E.F., 2014. Bioquímica: Conceptos esenciales. Editorial Médica

Panamericana S.A., España, pp. 64–69.

- Carlson, C., Hussain, S.M., Schrand, A.M., K. Braydich-Stolle, L., Hess, K.L., Jones, R.L., Schlager, J.J., 2008. Unique Cellular Interaction of Silver Nanoparticles: Size-Dependent Generation of Reactive Oxygen Species. The Journal of Physical Chemistry B. 112(43), 13608–13619.
- Cavallini, E.R., 2005. Bacteriología General: Principios Y Prácticas de Laboratorio. Editorial de la Universidad de Costa Rica, Costa Rica.
- Cennelier, M., 1999. The allergy and homeopathy. Paidotribo, Spain, p. 53.
- Chang, M.-Y., Juang, R.-S., 2004. Adsorption of tannic acid, humic acid, and dyes from water using the composite of chitosan and activated clay. Journal of colloid and interface science. 278(1), 18–25.
- Chavasit, V., Kienzle-Sterzer, C., Antonio Torres, J., 1988. Formation and characterization of an insoluble polyelectrolyte complex: Chitosan-polyacrylic acid. Polymer Bulletin. 19(3), 223–230.
- Choi, O., Clevenger, T.E., Deng, B., Surampalli, R.Y., Ross Jr, L., Hu, Z., 2009. Role of sulfide and ligand strength in controlling nanosilver toxicity. Water Research. 43(7), 1879–1886.
- Cibas, E.S., Ducatman, B.S., 2013. Cytology: Diagnostic Principles and Clinical Correlates. Elsevier Health Sciences, USA, pp. 71–75.
- Concepción-Rosabal, B., Rodríguez-Fuentes, G., Bogdanchikova, N., Bosch, P., Avalos, M., Lara, V.H., 2005. Comparative study of natural and synthetic clinoptilolites containing silver in different states. Microporous and Mesoporous Materials. 86(1–3), 249–255.
- Contreras-Arzate, D., 2010. Zeolitas Naturales Cúpricas como microbicida de bacterias y levaduras contaminantes del agua. México.
- Cruz, P.L., Jiménez, A.A.D., 2013. Extracción de ácidos fúlvicos a partir de carbón lignito, purificación y empleo de los mismos en mejora de absorción de vitamina B12. Tesis de Licenciatura, Universidad de ciencias aplicadas y ambientales U.D.C.A., Colombia, p. 21.

Dąbrowski, A., 2001. Adsorption — from theory to practice. Advances in Colloid and

Interface Science. 93(1-3), 135-224.

- De Gusseme, B., Hennebel, T., Christiaens, E., Saveyn, H., Verbeken, K., Fitts, J.P., Boon, N., Verstraete, W., 2011. Virus disinfection in water by biogenic silver immobilized in polyvinylidene fluoride membranes. Water Research. 45(4), 1856– 1864.
- De la Lanza-Espino, G., 1999. Diccionario de hidrología y ciencias afines. Plaza y Valdés Editores, México, pp. 150–152.
- De la Rosa-Gómez, I., 2007. Comportamiento de rocas zeolíticas acondicionadas con plata, en el proceso de desinfección de agua residual de origen municipal. Tesis de Doctorado, Instituto Tecnológico de Toluca, México.
- De la Rosa-Gómez, I., 2002. Evaluación del efecto bactericida de mineral zeolítico de plata sobre la carga microbiana de aguas residuales de origen municipal. Tesis de Maestría, Universidad Autónoma del Estado de México, México, pp. 48–71.
- De la Rosa-Gómez, I., Olguín, M.T., Alcántara, D., 2008a. Antibacterial behavior of silver-modified clinoptilolite-heulandite rich tuff on coliform microorganisms from wastewater in a column system. Journal of Environmental Management. 88(4), 853–863.
- De la Rosa-Gómez, I., Olguín, M.T., Alcántara, D., 2008b. Bactericides of coliform microorganisms from wastewater using silver-clinoptilolite rich tuffs. Applied Clay Science. 40(1–4), 45–53.
- Díaz-Nava, M.C., Olguín, M.T., Solache-ríos, M., Alarcón-Herrera, M.T., Aguilar-Elguezabal, A., 2005. Characterization and Improvement of Ion Exchange Capacities of Mexican Clinoptilolite-rich Tuffs. Journal of inclusion phenomena and macrocyclic chemistry. 51(3–4), 231–240.
- Domènech, X., Pérez, J.P., 2006. Química ambiental de sistemas terrestres. Reverté, España, pp. 19–73.
- Drelich, J., Li, B., Bowen, P., Hwang, J.-Y., Mills, O., Hoffman, D., 2011. Vermiculite decorated with copper nanoparticles: Novel antibacterial hybrid material. Applied Surface Science. 257(22), 9435–9443.

Environmental Protection Agency, U.S., 2012. Boletin Tecnico Zeolita Un Adsorbente

Versatil de Contaminantes Del Aire. BiblioBazaar, USA, pp. 1–22.

- Fabrega, J., Fawcett, S.R., Renshaw, J.C., Lead, J.R., 2009. Silver Nanoparticle Impact on Bacterial Growth: Effect of pH, Concentration, and Organic Matter. Environmental science & technology. 43(19), 7285–7290.
- FEA, CEMDA, Presencia Ciudadana Mexicana, 2006. El Agua en México: lo que Todas y Todos Debemos de Saber. Fondo para la Comunicación y la Educación Ambiental, México, pp. 39–41.
- Ferreira, L., Fonseca, A.M., Botelho, G., Aguiar, C.A., Neves, I.C., 2012. Antimicrobial activity of faujasite zeolites doped with silver. Microporous and Mesoporous Materials. 160(0), 126–132.
- Figueiredo, I.C., Fonseca, I.R., Teixeira, E.C., 2001. Avaliação da aplicabilidade de modelos cinéticos na previsão da desinfecção de água com cloro, en: Saneamento ambiental: desafio para o século 21. 21º Congreso Brasileño de Ingenieria Sanitaria y Ambiental, ABES, pp. 1–7.
- Galvín, R.M., 2003. Fisicoquímica y microbiología de los medios acuáticos. Tratamiento y control de calidad de aguas. Díaz de Santos, España, pp. 73–122.
- García-Rivas, L., Gaitán, B.G., Cruz, R.C.A., Arce, R.E.Z., Granados-García, M., Dadó-Lujano, I.I., Reyes-Gómez, J., Bárcenas, J.G.L., 2010. Síntesis y caracterización de esferas de quitosano-EGDE-PVA para adsorción de Cu (II). Revista Iberoamericana de Polímeros. 11(7), 541–549.
- García-Rojas, N., Villanueva-Díaz, P., Campos-Medina, E., Velázquez-Rodríguez, A., 2012. Análisis de la adsorción como método de pulimiento en el tratamiento de aguas residuales. Quivera. 14(1), 109–129.
- Gonzaga-Galeana, V.E., 2013. Interacción del ión amonio con zeolita natural acondicionada con plata y su efecto sobre la desinfección de agua contaminada frente a un consorcio de microorganismos Gram (+) y Gram (-). Tesis de Maestría. Instituto Tecnológico de Toluca, México, pp. 22–26.
- González, C.F., 2005. Cuidadores Comunidad Foral de Navarra. Test Del Temario Especifico. Editorial Mad, España, pp. 234–235.

Guerra, R., Lima, E., Viniegra, M., Guzmán, A., Lara, V., 2012. Growth of Escherichia

coli and *Salmonella typhi* inhibited by fractal silver nanoparticles supported on zeolites. Microporous and Mesoporous Materials. 147(1), 267–273.

- Guibal, E., Vincent, T., Navarro, R., 2014. Metal ion biosorption on chitosan for the synthesis of advanced materials. Journal of Materials Science. 49(16), 5505–5518.
- Guo, T.-Y., Xia, Y.-Q., Wang, J., Song, M.-D., Zhang, B.-H., 2005. Chitosan beads as molecularly imprinted polymer matrix for selective separation of proteins. Biomaterials. 26(28), 5737–45.
- Hasib, A., Jaouad, A., Mahrouz, M., Khouili, M., 2002. HPLC determination of organic acids in moroccan apricot. Ciencia y Tecnologia Alimentaria. 3(4), 207–211.
- Henry, J.G., Heinke, G.W., García, H.J.E., 1999. Ingeniería ambiental, en: [2 ed.]. Pearson Educación, USA, pp. 421–430.
- Higuchi, T., 1963. Mechanism of sustained-action medication. Theoretical analysis of rate of release of solid drugs dispersed in solid matrices. Journal of Pharmaceutical Sciences. 52(12), 1145–1149.
- House, J.E., 2007. Principles of Chemical Kinetics. Elsevier Science, USA, pp. 2–23.
- Howe, P.D., Dobson, S., 2002. Silver and silver compounds : environmental aspects,
 en: Concise international chemical assessment document. World Health
 Organization (WHO), Switzerland, p. 36.
- Hrenovic, J., Milenkovic, J., Daneu, N., Kepcija, R.M., Rajic, N., 2012a. Antimicrobial activity of metal oxide nanoparticles supported onto natural clinoptilolite. Chemosphere. 88(9), 1103–1107.
- Hrenovic, J., Milenkovic, J., Ivankovic, T., Rajic, N., 2012b. Antibacterial activity of heavy metal-loaded natural zeolite. Journal of Hazardous Materials. 201–202(0), 260–264.
- Hu, C.-H., Xia, M.-S., 2006. Adsorption and antibacterial effect of copper-exchanged montmorillonite on *Escherichia coli* K88. Applied Clay Science. 31(3–4), 180–184.
- Hutchens, T.W., Yip, T.-T., Porath, J., 1988. Protein interaction with immobilized ligands: Quantitative analyses of equilibrium partition data and comparison with analytical chromatographic approaches using immobilized metal affinity

adsorbents. Analytical Biochemistry. 170(1), 168–182.

- Inoue, Y., Hoshino, M., Takahashi, H., Noguchi, T., Murata, T., Kanzaki, Y., Hamashima, H., Sasatsu, M., 2002. Bactericidal activity of Ag–zeolite mediated by reactive oxygen species under aerated conditions. Journal of Inorganic Biochemistry. 92(1), 37–42.
- Jena, P., 2004. A generalized shrinking core model for multicomponent batch adsorption processes. Chemical Engineering Journal. 102(3), 267–275.
- Jin, L., 2002. Mechanisms of Lead Adsorption on Chitosan/PVA Hydrogel Beads. Langmuir. 18(25), 9765–9770.
- Krishnani, K.K., Zhang, Y., Xiong, L., Yan, Y., Boopathy, R., Mulchandani, A., 2012.
 Bactericidal and ammonia removal activity of silver ion-exchanged zeolite.
 Bioresource Technology. 117(0), 86–91.
- Kühn, K.P., Chaberny, I.F., Massholder, K., Stickler, M., Benz, V.W., Sonntag, H.-G., Erdinger, L., 2003. Disinfection of surfaces by photocatalytic oxidation with titanium dioxide and UVA light. Chemosphere. 53(1), 71–77.
- Kusnetsov, J., Iivanainen, E., Elomaa, N., Zacheus, O., Martikainen, P.J., 2001. Copper and silver ions more effective against Legionellae than against mycobacteria in a hospital warm water system. Water Research. 35(17), 4217–4225.
- Lalley, J., Dionysiou, D.D., Varma, R.S., Shankara, S., Yang, D.J., Nadagouda, M.N., 2014. Silver-based antibacterial surfaces for drinking water disinfection — an overview. Current Opinion in Chemical Engineering. 3(0), 25–29.
- Larkin, P., 2011. Infrared and Raman Spectroscopy; Principles and Spectral Interpretation. Elsevier Science, USA, pp. 100–150.
- Lee, C., Kim, J.Y., Lee, W. II, Nelson, K.L., Yoon, J., Sedlak, D.L., 2008. Bactericidal Effect of Zero-Valent Iron Nanoparticles on *Escherichia coli*. Environmental science & technology. 42(13), 4927–4933.
- Leenheer, J.A., Wershaw, R.L., Reddy, M.M., 1995. Strong-Acid, Carboxyl-Group Structures in Fulvic Acid from the Suwannee River, Georgia. 1. Minor Structures. Environ. Sci. Technol. 29(2), 393–398.
- Li, N., Bai, R., 2005. A Novel Amine-Shielded Surface Cross-Linking of Chitosan

Hydrogel Beads for Enhanced Metal Adsorption Performance. Industrial & Engineering Chemistry Research. 44(17), 6692–6700.

- Li, Y.L., McCarthy, D.T., Deletic, A., 2012. Removal and inactivation of "*E. Coli*" from water using copper modified natural zeolite, en: WSUD 2012: Water sensitve urban design; Building the water sensitve community; 7th international conference on water sensitive urban design, 21-23 February 2012, Melbourne Cricket Ground. Engineers Australia, p. 517.
- Lin, S., Huang, R., Cheng, Y., Liu, J., Lau, B.L.T., Wiesner, M.R., 2013. Silver nanoparticle-alginate composite beads for point-of-use drinking water disinfection. Water Research. 47(12), 3959–3965.
- López, A.C., Meneses, M.M., 2012. Ciencia y tecnología del medioambiente. UNED, España, pp. 206–210.
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., Randall, R.J., 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. Journal of Biological Chemistry. 193(1), 265–275.
- Magaña, S.M., Quintana, P., Aguilar, D.H., Toledo, J.A., Ángeles-Chávez, C., Cortés, M.A., León, L., Freile-Pelegrín, Y., López, T., Sánchez, R.M.T., 2008. Antibacterial activity of montmorillonites modified with silver. Journal of Molecular Catalysis A: Chemical. 281(1–2), 192–199.
- Manahan, S.E., Leyva, I.M., 2006. Introducción a la química ambiental, en: Introducción a la química ambiental. Reverté, México, pp. 145–148.
- Marambio-Jones, C., Hoek, E. V, 2010. A review of the antibacterial effects of silver nanomaterials and potential implications for human health and the environment. Journal of Nanoparticle Research. 12(5), 1531–1551.
- Margineda, de G.J., Valiente Malmagro, M., Ruaix, G., 2005. Estudio de procesos de adsorción/desorción de iones en resinas encapsuladas. Tesis de Doctorado, Universitat Autónoma de Barcelona, España, pp. 8–25.
- Martínez, C. V, De Cos Blanco, A.I., Nomdedeu, C.L., 2005. Alimentación y nutrición: manual teórico-práctico. Díaz de Santos, España, pp. 25–35.
- Matsumura, Y., Yoshikata, K., Kunisaki, S., Tsuchido, T., 2003. Mode of Bactericidal Action of Silver Zeolite and Its Comparison with That of Silver Nitrate. Applied and

Environmental Microbiology. 69(7), 4278–4281.

- Mayo, D.W., Miller, F.A., Hannah, R.W., 2004. Course notes on the interpretation of infrared and Raman spectra. Wiley Online Library, pp. 150–180.
- McCabe, W.L., Smith, J., Harriott, P., 2005. Unit Operations of Chemical Engineering, en: McGraw-Hill chemical engineering series. McGraw-Hill Education, pp. 875– 922.
- Melo-López, L., 2006. Análisis y caracterización de ácidos fúlvicos y su interacción con algunos metales pesados. México, pp. 17-22-80.
- Mendis, E., Rajapakse, N., Byun, H.-G., Kim, S.-K., 2005. Investigation of jumbo squid (Dosidicus gigas) skin gelatin peptides for their *in vitro* antioxidant effects. Life Sciences. 77(17), 2166–2178.
- Milán, Z., de Las Pozas, C., Cruz, M., Borja, R., Sánchez, E., Ilangovan, K., Espinosa,
 Y., Luna, B., 2001. The removal of bacteria by modified natural zeolites. Journal of Environmental Science and Health, Part A. 36(6), 1073–1087.
- Mthombeni, N.H., Mpenyana-Monyatsi, L., Onyango, M.S., Momba, M.N.B., 2012. Breakthrough analysis for water disinfection using silver nanoparticles coated resin beads in fixed-bed column. Journal of Hazardous Materials. 217–218(0), 133–140.
- Negroni, M., 2009. Microbiología estomatológica, fundamentos y guía práctica. Ed. Médica Panamericana, Argentina, pp. 228–320.
- Nielsen, B.L., Brown, L.R., 1984. The basis for colored silver-protein complex formation in stained polyacrylamide gels. Analytical biochemistry. 141(2), 311–315.
- NMX-AA-003-1980, 1980. Aguas residuales.-Muestreo. Diario Oficial de la Federación., México.
- NMX-AA-073-SCFI-2001, 2001. Análisis de agua Determinación de cloruros totales en aguas naturales, residuales y residuales tratadas - Método de prueba. Diario Oficial de la Federación., México.
- NOM-001-SEMARNAT-1996, N.O.M., 1996. Que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales. Diario Oficial de la Federación., México.

NOM-041-SSA1-1993, N.O.M., 1995. Bienes y servicios. Agua purificada envasada.

Especificaciones sanitarias. Diario Oficial de la Federación., México.

- NOM-127-SSA1-1994, N.O.M., 2000. Salud ambiental. Agua para uso y consumo humano. Límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización. Diario Oficial de la Federación., México.
- NOM-181-SSA1-1998, N.O.M., 2000. Salud ambiental. Agua para uso y consumo humano. Requisitos sanitarios que deben cumplir las sustancias germicidas para tratamiento de agua, de tipo doméstico. Diario Oficial de la Federación., México.
- Noroozi, B., Sorial, G.A., 2013. Applicable models for multi-component adsorption of dyes: A review. Journal of Environmental Sciences. 25(3), 419–429.
- NSF, 2002. Protocol for Equipment Verification Testing for Physical Chemical & Biological Removal of Nitrate. DIANE Publishing, USA.
- Oladipo, A.A., Gazi, M., Yilmaz, E., 2015. Single and binary adsorption of azo and anthraquinone dyes by chitosan-based hydrogel: Selectivity factor and Box-Behnken process design. Chemical Engineering Research and Design. 104, 264– 279.
- Orha, C., Manea, F., Pop, A., Burtica, G., Todea, I.F., 2008. Obtaining and characterization of zeolitic materials with antibacterial properties. Revista de Chimie-Bucharest-original edition-. 59(2), 173.
- Ostroumov, F.M., Ortiz, L.E., Corona, C.P., 2003. Zeolitas de México: Diversidad mineralógica y aplicaciones. Sociedad Mexicana de Mineralogía. 1–9.
- Park, H.-J., Kim, J.Y., Kim, J., Lee, J.-H., Hahn, J.-S., Gu, M.B., Yoon, J., 2009. Silverion-mediated reactive oxygen species generation affecting bactericidal activity. Water Research. 43(4), 1027–1032.
- Pierce, B.A., 2009. Genética-un enfoque conceptual. Panamericana Editorial de S.A., Spain, pp. 200–237.
- Posadas, A.S., García-Novo, M.D., 1998. Fibrosis quística. Díaz de Santos, Spain, pp. 67–72.
- Qiu, H., Lv, L., Pan, B., Zhang, Q., Zhang, W., Zhang, Q., 2009. Critical review in adsorption kinetic models. Journal of Zhejiang University SCIENCE A. 10(5), 716– 724.

- Quang, D.V., Sarawade, P.B., Jeon, S.J., Kim, S.H., Kim, J.-K., Chai, Y.G., Kim, H.T.,
 2013. Effective water disinfection using silver nanoparticle containing silica beads.
 Applied Surface Science. 266, 280–287.
- Raffi, M., Hussain, F., Bhatti, T.M., Akhter, J.I., Hameed, A., Hasan, M.M., 2008.
 Antibacterial characterization of silver nanoparticles against *E. coli* ATCC-15224.
 Journal of Materials Science and Technology. 24(2), 192–196.
- Rai, M., Yadav, A., Gade, A., 2009. Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials. Biotechnology Advances. 27(1), 76–83.
- Ramalho, R., 2012. Introduction to Wastewater Treatment Processes. Elsevier Science, USA, pp. 24–26.
- Ramos, R.L., 2004. Eliminación de contaminantes en aguas. pp. 112–120.
- Rastogi, S.C., 2006. Cell And Molecular Biology. New Age International (P) Limited, India, pp. 181–183.
- Reyes, E.F., Cejudo, A.G., 2006. Métodos para la cuantificación de proteínas. Manual de prácticas, Campus Universitario de Rabanales, Argentina.
- Rivera-Garza, M., Olguín, M.T., García-Sosa, I., Alcántara, D., Rodríguez-Fuentes, G.,
 2000. Silver supported on natural Mexican zeolite as an antibacterial material.
 Microporous and Mesoporous Materials. 39(3), 431–444.
- Rodríguez-Fuentes, G., Iznaga, I.R., 2002. Eliminacion de metales toxicos mediante zeolitas naturales. Laboratorio de Ingeniería de Zeolitas, IMRE Universidad de La Habana. 231–236.
- Rodríguez, J.A.S., Jiménez, S.S., Navarro, R.M., Villarejo, M.L.J., 2011. Patógenos emergentes en la línea de sacrificio de porcino: Fundamentos de seguridad alimentaria. Editorial Díaz de Santos, S.A., España, pp. 81–89.
- Rosegrant, M.W., Cai, X., Cline, S.A., I.F.P.R., I W M, 2002. Panorama global del agua hasta el año 2025: cómo impedir una crisis inminente, en: Food policy report. IFPRI, USA, pp. 10–26.
- Rossainz-Castro, L.G., 2013. Influencia de componentes indicadores de contaminación del agua residual proveniente de una planta tratadora del valle de Toluca sobre la actividad microbicida de la clinoptilolita acondicionada con plata

frente a E. coli. Tesis de Maestría, Instituto Tecnológico de Toluca, México.

- Ruiz, V.A., Guillén, S.M., 2006. Tratado SEIMC de enfermedades infecciosas y microbiología clínica. Editorial Médica Panamericana, España, pp. 337–341.
- Ruthven, D.M., 2003. Encyclopedia of Physical Science and Technology, en: Encyclopedia of Physical Science and Technology. Elsevier, pp. 251–271.
- Salazar, R.L., Cervantes, G.G., Alvarado, R.E.V., Talavera, M.D.C.P., Barrios, J.L.G., 2013. La espectrofotometría infrarroja, para caracterizar sustancias húmicas. AGROFAZ. 13(2), 31–35.
- SEMARNAT, CONAGUA, 2015. Estadísticas del Agua en México, Edición 2015. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, México, pp. 77–96.
- Shi, Q.-H., Tian, Y., Dong, X.-Y., Bai, S., Sun, Y., 2003. Chitosan-coated silica beads as immobilized metal affinity support for protein adsorption. Biochemical Engineering Journal. 16(3), 317–322.
- Stanier, R.Y., Villanueva, J.R., 1996. Microbiología. Reverté, España, pp. 155–194.
- Sun, X.-F., Wang, S.-G., Liu, X.-W., Gong, W.-X., Bao, N., Ma, Y., 2008. The effects of pH and ionic strength on fulvic acid uptake by chitosan hydrogel beads. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects. 324(1–3), 28–34.
- Swain, S.K., Dey, R.K., Islam, M., Patel, R.K., Jha, U., Patnaik, T., Airoldi, C., 2009. Removal of Fluoride from Aqueous Solution Using Aluminum-Impregnated Chitosan Biopolymer. Separation Science and Technology. 44(9), 2096–2116.
- Tang, W.-W., Zeng, G.-M., Gong, J.-L., Liang, J., Xu, P., Zhang, C., Huang, B.-B., 2014. Impact of humic/fulvic acid on the removal of heavy metals from aqueous solutions using nanomaterials: a review. Science of the Total Environment. 468, 1014–1027.
- Tangpasuthadol, V., Pongchaisirikul, N., Hoven, V.P., 2003. Surface modification of chitosan films. Carbohydrate Research. 338(9), 937–942.
- Top, A., Ülkü, S., 2004. Silver, zinc, and copper exchange in a Na-clinoptilolite and resulting effect on antibacterial activity. Applied Clay Science. 27(1–2), 13–19.
- Treybal, R.E., Rodríguez, A.G., 1995. Operaciones de transferencia de masa. Mc Graw Hill Interamericana Editores S.A de C.V, pp. 625–646.

Ueda, E.K.M., Gout, P.W., Morganti, L., 2003. Current and prospective applications of

metal ion-protein binding. Journal of Chromatography A. 988(1), 1-23.

- Valdez-Zarco, A., 2015. Estudio de adsorción del colorante rojo No. 2 en solución acuosa con un hidrogel de quitosano-poli (vinil alcohol) en condiciones estáticas y dinámicas de flujo. Tesis de Maestría, Instituto Tecnológico de Toluca, pp. 50– 71.
- Viswanathan, N., Meenakshi, S., 2008. Enhanced fluoride sorption using La(III) incorporated carboxylated chitosan beads. Journal of colloid and interface science. 322(2), 375–83.
- Viswanathan, N., Sundaram, C.S., Meenakshi, S., 2009. Removal of fluoride from aqueous solution using protonated chitosan beads. Journal of hazardous materials. 161(1), 423–30.
- Volesky, B., 2003. Sorption and biosorption. BV Sorbex, Quebec, Canada, pp. 39–40.
- Wan-Ngah, W.S., Hanafiah, M.A.K.M., Yong, S.S., 2008. Adsorption of humic acid from aqueous solutions on crosslinked chitosan-epichlorohydrin beads: kinetics and isotherm studies. Colloids and surfaces. B, Biointerfaces. 65(1), 18–24.
- Wang, J., Huang, C.P., Pirestani, D., 2003. Interactions of silver with wastewater constituents. Water Research. 37(18), 4444–4452.
- Wang, S., Sun, X.-F., Liu, X.-W., Gong, W.-X., Gao, B.-Y., Bao, N., 2008a. Chitosan hydrogel beads for fulvic acid adsorption: Behaviors and mechanisms. Chemical Engineering Journal. 142(3), 239–247.
- Wang, Y., Wang, X., Luo, G., Dai, Y., 2008b. Adsorption of bovin serum albumin (BSA) onto the magnetic chitosan nanoparticles prepared by a microemulsion system. Bioresource technology. 99(9), 3881–4.
- Weber, W.J., 2003. Control de la calidad del agua: procesos fisicoquímicos. Reverté, España, pp. 431–435.
- Wibowo, S., Velazquez, G., Savant, V., Torres, J.A., 2005. Surimi wash water treatment for protein recovery: effect of chitosan-alginate complex concentration and treatment time on protein adsorption. Bioresource technology. 96(6), 665–71.
- World Health Organization (WHO), 2011. Guidelines for Drinking-water Quality. World Health Organization (WHO), Ginebra, p. 149.

- Xiu, Z.-M., Ma, J., Alvarez, P.J.J., 2011. Differential Effect of Common Ligands and Molecular Oxygen on Antimicrobial Activity of Silver Nanoparticles versus Silver Ions. Environmental science & technology. 45(20), 9003–9008.
- Xiu, Z., Zhang, Q., Puppala, H.L., Colvin, V.L., Alvarez, P.J.J., 2012. Negligible Particle-Specific Antibacterial Activity of Silver Nanoparticles. Nano Letters. 12(8), 4271– 4275.
- Yamanaka, M., Hara, K., Kudo, J., 2005. Bactericidal actions of a silver ion solution on *Escherichia coli*, studied by energy-filtering transmission electron microscopy and proteomic analysis. Applied and environmental microbiology. 71(11), 7589–93.
- Yan, W.L., Bai, R., 2005. Adsorption of lead and humic acid on chitosan hydrogel beads. Water research. 39(4), 688–98.
- Zhang, H., Smith, J.A., Oyanedel-Craver, V., 2012. The effect of natural water conditions on the anti-bacterial performance and stability of silver nanoparticles capped with different polymers. Water Research. 46(3), 691–699.
- Zheng, H., Du, Y., Yu, J., Huang, R., Zhang, L., 2001. Preparation and characterization of chitosan/poly (vinyl alcohol) blend fibers. Journal of Applied Polymer Science. 80(13), 2558–2565.
- Zhirnov, V. V, Cavin, R.K., 2010. Microsystems for Bioelectronics: the Nanomorphic Cell. Elsevier Science, USA, pp. 6–9.
- Zodrow, K., Brunet, L., Mahendra, S., Li, D., Zhang, A., Li, Q., Alvarez, P.J.J., 2009.
 Polysulfone ultrafiltration membranes impregnated with silver nanoparticles show improved biofouling resistance and virus removal. Water Research. 43(3), 715–723.

ANEXO A. ADSORCIÓN DE INTERFERENTES (CI⁻ Y PROTEÍNA) POR QUITOSANO

A.1 Metodología

La metodología seguida para la síntesis del hidrogel de quitosano y su posterior caracterización se muestra a continuación.

A.1.1 Síntesis de las perlas de hidrogel de quitosano (PHQ)

Para la síntesis del hidrogel de quitosano se utilizaron los reactivos que se enlistan a continuación:

- i. Ácido acético glacial con 99.8% de pureza; marca Fermont CAS 64-19-7
- ii. Quitosano grado industrial de alta densidad (>90%); marca América Alimentos, lote K1202029
- iii. Hidróxido de sodio ACS en perlas, marca Meyer
- iv. Agua desionizada (DI)

Siguiendo la presente metodología:

- i. Se prepara una solución de ácido acético 0.4 M y una de NaOH 1 M
- ii. Se disuelve el quitosano en la solución de ácido acético obteniendo una solución al 3.8%. Manteniéndola en agitación constante durante 6 horas a 70°C.
- iii. La solución de quitosano se gotea utilizando una jeringa, con diámetro interno de 0.7 mm, en la solución de NaOH a temperatura ambiente.
- iv. Una vez formadas las perlas se dejaron en agitación constante en la solución de NaOH a las mismas condiciones.
- v. Concluido el tiempo de agitación se lavaron las perlas de hidrogel (PHQ) formadas con agua DI hasta que el pH del agua de lavado sea igual al del agua DI (Li y Bai, 2005; Yan y Bai, 2005; Wan-Ngah *et al.*, 2008; García-Rivas *et al.*, 2010)
A.1.2 Caracterización

La caracterización de las PHQ se llevó a cabo utilizando las siguientes técnicas:

- Microscopia óptica: Utilizando un microscopio óptico marca Krüss Optronic modelo MBL2000-T se observaron las PHQ completas y cortadas a la mitad, para lo cual se usó un bisturí. La observación se realizó utilizando los objetivos de 4X, 10X y utilizando contrastes de luz, con un ocular de 10X.
- ii. Porcentaje de humedad: En cajas Pettri se colocaron las perlas de quitosano previamente filtradas para eliminar el exceso de agua, para posteriormente ser introducidas en un desecador hasta obtener un peso constante, el % de humedad se determinó a través de la siguiente ecuación (Valdez-Zarco, 2015).

$$\%H = \frac{m_i - m_f}{m_i} * 100$$
 (16)

Donde m_i = masa inicial y m_f = masa final

iii. Espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR): Con la finalidad de identificar los grupos funcionales de las muestras de quitosano y PHQ, este último tanto antes como después de los procesos de sorción, se realizó el análisis de espectroscopia de IR utilizando un equipo marca Aligent, modelo Variant 640-IR, con configuración en el IR mediano. Para lo cual las muestras se secaron en un desecador hasta peso constante y posteriormente se trituraron, para posteriormente ser analizadas a condiciones de 16 barridos con resolución de 4 cm⁻¹, en un intervalo de frecuencia de 4000 a 550 cm⁻¹ (García-Rivas *et al.*, 2010).

A.2 Resultados

A.2.1 Síntesis de las PHQ

El goteo de la solución de quitosano y ácido acético en la solución de NaOH, neutraliza el ácido acético del gel de quitosano y de este modo el quitosano biopolimeriza en esferas. El material obtenido es semiesférico formado de hidrogel de quitosano (PHQ), de consistencia semidura y color blanco a simple vista, resistentes al impacto en agitación de 200 rpm, como se muestran en la figura A.1



Figura A.1 Perlas de hidrogel de quitosano (PHQ)

La resistencia de las PHQ al impacto a una velocidad de agitación de 200 rpm permite llevar a cabo los experimentos de adsorción a esta velocidad sin rompimiento del material.

A.2.2 Caracterización

A.2.2.1 Microscopia óptica

Las PHQ se observaron al microscopio una vez filtradas para eliminar el exceso de agua en la superficie, en la figura A.2a se observa la forma semiesférica del hidrogel, además de permitir visualizar su textura superficial e interna del material (figura A.2b) a una ampliación de 40X. La figura A.3 permite observar la estructura interna del

material a través del corte de la perla a una ampliación de 100X con un contraste de luz baja, donde se distingue la porosidad del material que no es observable a una ampliación de 40X.



Figura A.2 Imágenes de las PHQ a una ampliación de 40X a) esférica y b) corte transversal



Figura A.3 Imagen de las PHQ (corte transversal) a una ampliación de 100X

A.2.2.2 Porcentaje de humedad

Las PHQ llegaron a un peso constante después de 48 h de encontrarse en el desecador y el contenido de humedad se determinó mediante la ecuación marcada en el punto A.1.2 inciso (ii) obteniéndose los resultados mostrados en la tabla A.1.

Muestra	m _i (g)	m _f (g)	% de humedad
1	1.0038	0.0544	94.58
2	1.0023	0.0510	94.91
3	1.0009	0.0513	94.87

Tabla A.1 Porcentaje de humedad de perlas de hidrogel de quitosano (PHQ)

El % de humedad promedio de las tres mediciones fue de 94.79%, por lo que se puede clasificar a las PHQ como un hidrogel de hinchamiento alto, debido a que su capacidad de adsorción de agua se encuentra en el rango de 90 a 99.5%, lo cual indica una alta permeabilidad del material (Amashta *et al.*, 2004; García-Rivas *et al.*, 2010). Dichos resultados concuerdan con lo obtenido en trabajos anteriores utilizando este material (García-Rivas *et al.*, 2010; Alarcón-Barrón, 2014; Valdez-Zarco, 2015).

A.2.2.3 Espectroscopia de IR por transformada de Fourier

El espectro FTIR de los grupos funcionales de una muestra del quitosano usado para la fabricación de las perlas se muestran en la figura A.4, donde se observan los picos característicos de este material que pueden ser asignados de la siguiente manera: una banda ancha de 3200 a 3600 formada debido al solapamiento de las bandas de O-H y N-H, donde, la fuerte banda ancha en el rango de 3300 a 3500 cm⁻¹ es característico de la vibración de tensión del N-H (Jin, 2002; Sun *et al.*, 2008), la banda formada en el rango de 2990 a 2700 cm⁻¹ se debe al estiramiento de -CH, CH₂ y CH₃ (Jin, 2002; García-Rivas *et al.*, 2010; Alarcón-Barrón, 2014; Valdez-Zarco, 2015), el pico característico del grupo amino se observa cercano a los 1591 cm⁻¹ (Zheng *et al.*, 2001; Jin, 2002; Alarcón-Barrón, 2014). Así también se encontraron las bandas características de la estiramiento C-N, estiramiento C-O y flexión O-H (Jin, 2002; Oladipo *et al.*, 2015; Valdez-Zarco, 2015).



Figura A.4 Espectro FTIR del quitosano

En el espectro FTIR de las PHQ se observa que se mantienen las bandas características del quitosano en los 3356 y 1591 cm⁻¹ pertenecientes a la vibración de tención del N-H y del grupo amino respectivamente. Además de las bandas correspondientes a la vibración de estiramiento C-N, estiramiento C-O y flexión O-H en 1375, 1061 y 1025 cm⁻¹ respectivamente (Figura A.5) (Jin, 2002; Sun *et al.*, 2008).



Figura A.5 FTIR del quitosano y de las PHQ

La figura A.6 muestra los espectros de las PHQ sintetizado, antes y después de los procesos de adsorción con iones Cl⁻. El cambio de intensidad y el ensanchamiento de la banda de 3356 cm⁻¹, correspondiente a los grupos -OH y NH₂ así como el desplazamiento de la banda secundaria de la amina primaria de 1591 a 1527 cm⁻¹ se

pueden considerar como indicativos de un enlace del hidrógeno de la amina protonada (NH₃⁺) y el cloruro, resultados similares se han observado en la adsorción de flúor con hidrogeles de quitosano (Mayo *et al.*, 2004; Sun *et al.*, 2008; Swain *et al.*, 2009; Larkin, 2011).



Figura A.6 FTIR de las PHQ antes y después de la adsorción de Cl⁻

En la figura A.7a y A.7b se observan los espectros de las PHQ antes y después del proceso de adsorción de proteína y ácido fúlvico respectivamente. La proteína y el ácido fúlvico hacen reaccionar las bandas comunes de vibración de tensión de N-H en 3300 a 3500 cm⁻¹, donde se observa un desplazamiento en el pico de 3356 a 3363 cm⁻¹, para el caso de la proteína, así como un cambio en la intensidad tanto en la absorción de proteína como ácido fúlvico, lo cual sumado a un cambio en la intensidad y desplazamiento del pico de la amina primaria de 1591 a 1593 cm⁻¹, para ambos casos, puede ser un indicativo de una interacción electrostática de la amina protonada y el grupo COOH de la proteína y el ácido fúlvico (NH3+RCOO-) (Chavasit et al., 1988; Wibowo et al., 2005; Yan y Bai, 2005). Además, el aumento de la intensidad del pico a 1735, 1654 y 1373 cm⁻¹ pueden ser asignados a una vibración de estiramiento por enlaces C=O y C-N, comprobarían la adsorción de la proteína y el ácido fúlvico por parte de las PHQ (Wibowo et al., 2005; Yan y Bai, 2005; Wang et al., 2008a; Sun et al., 2008; Larkin, 2011). Mientras los picos a 1654, 1591 1373 y 897 cm⁻¹ están estrechamente relacionados con las bandas de estiramiento de -NH, estiramiento -CH y balanceo -NH, por lo que el aumento en dichos picos indica que los

átomos de nitrógeno son los principales sitios de adsorción en las PHQ (Wang *et al.*, 2008a).



Figura A.7 Espectro FTIR de las PHQ antes y después de la adsorción de a) proteína y b) ácido fúlvico

A.2.3 Capacidad de adsorción

A.2.3.1 Cloruros

La tabla A.2 muestra los datos de eliminación de cloruros con el uso de PHQ, donde el proceso con PHQ se considera por completo un proceso de adsorción, ya que como se mostró en el punto A.2.2.3 existe una interacción entre la amina protonada (NH₃⁺) de las PHQ con el Cl⁻ contenido en la solución, dicha interacción se debe a que a un pH menor de 6.5 (pK_a quitosano de 6.3 a 6.8) las PHQ tienen una carga positiva (Yan y Bai, 2005; Viswanathan *et al.*, 2009; Guibal *et al.*, 2014), lo que permite interactuar con los iones Cl⁻ que presentan una carga negativa (Sun *et al.*, 2008; Viswanathan *et al.*, 2009). Si bien el pH de la solución no fue controlado durante el proceso de eliminación de interferentes, se midió el pH del agua antes y después del contacto con los materiales, variando de 5.6±0.2 al inicio del proceso y de 6.2±0.4 al finalizar.

Tiempo		PHQ
(min)	[] Cl ⁻ (mg/L)	% Remoción
0	62.21	0
10	35.89 ±3.38	42.31 ±5.44
20	26.32	57.69
30	26.32	57.69
40	26.32	57.69
50	25.13 ±1.69	59.62 ±2.72
60	25.13 ±1.69	59.62 ±2.72
70	23.93	61.54
80	23.93	61.54
90	23.93	61.54
100	23.93	61.54
110	25.13	59.62 ±2.72
120	23.93 ±1.69	61.54
130	23.93	61.54
140	23.93	61.54
150	23.93	61.54
160	23.93	61.54
170	25.13	61.54
180	25.13	61.54

Tabla A.2 Remoción de Cl⁻ por PHQ

La figura A.8 muestra la capacidad de adsorción a lo largo del proceso de 180 minutos.



Figura A.8 Capacidad de adsorción de las PHQ para Cl-

La presencia de 2 g de PHQ en el medio ayuda a disminuir la cantidad de Cl⁻ disponibles en la solución, encontrando que a los 70 minutos de contacto el proceso

alcanzó la saturación obteniendo una remoción de hasta un 61.54%. Con una capacidad de adsorción de 0.19 mg/g, aunque dicha capacidad de adsorción es como material húmedo.

A.2.3.2 Proteína

La tabla A.3 muestra los datos de eliminación de proteína con el uso de PHQ, donde se observa una remoción mayor al 95% del material proteico de la solución. Dicha capacidad de adsorción de la proteína representada en este estudio por la albumina de suero bovino (ASB) se debe, como ya se mencionó en el punto A.2.2.3, a la interacción electrostática de la amina protonada y el grupo COOH de la proteína (NH₃+RCOO⁻); esto debido a la carga positiva de las PHQ a un pH menor a 6.5, y a la carga negativa de la proteína a pH mayor a 4.9 (Shi *et al.*, 2003; Tangpasuthadol *et al.*, 2003). El pH de la solución no se controló durante el proceso de adsorción y varió de un pH inicial de 5.4±0.2 a 6.4±0.3 al finalizar el proceso.

La figura A.9 muestra una capacidad máxima de adsorción de las PHQ de 0.58 mg/g a los 130 minutos, lo que representa una eficiencia de 98.85% de remoción, considerando que las PHQ contienen un 94.79% de agua. Se puede considerar como un proceso viable para la eliminación de proteína en el agua.

Tiempo			PHQ		
(min)	m	g/L	%Re	mod	ción
0	117.18	±3.08		0	
10	62.91	±0.18	45.	30	±0.15
20	26.57	±8.64	76.	89	±7.51
30	21.23	±0.88	81.	54	±0.77
40	16.23	±5.33	85.	89	±4.63
50	10.98	±5.93	90.	45	±5.16
60	11.75	±5.20	89.	78	±4.52
70	10.41	±0.53	90.	95	±0.46
80	8.61	±1.01	92.	52	±0.88
90	6.86	±1.46	94.	04	±1.27
100	8.05	±0.33	93.	00	±0.29
110	7.64	±0.76	93.	35	±0.66
120	7.39	±2.53	93.	57	±2.20
130	1.32	±1.36	98.	85	±1.19
140	1.61	±1.21	98.	60	±1.05
150	1.89	±1.16	98.	35	±1.01
160	4.27	±1.19	96.	29	±1.03
170	5.	93	9	4.84	Ļ
180	2.20	±0.13	98.	09	±0.11

Tabla A.3 Remoción de proteína por PHQ



Figura A.9 Capacidad de adsorción de las PHQ para proteína

A.2.3.3 Ácido fúlvico

La tabla A.4 muestra los datos de eliminación de ácido fúlvico con el uso de PHQ donde se observa una remoción cercana al 70% del ácido fúlvico de la solución. Dicha capacidad de adsorción del ácido fúlvico se debe como ya se mencionó en el punto

A.2.2.3 principalmente a la interacción electrostática de la amina protonada y los grupos COOH del ácido fúlvico (NH₃+RCOO⁻), esto debido a la carga positiva de las PHQ a pH menor a 6.5, y la carga negativa del ácido fúlvico a pH mayor a 3 (pKa) (Leenheer *et al.*, 1995; Yan y Bai, 2005; Sun *et al.*, 2008; Cruz y Jiménez, 2013). El pH de la solución no se controló durante el proceso de adsorción y vario de un pH inicial de 4.9±0.1 a 5.9±0.3 al finalizar el proceso.

Tiempo			PHQ	
(min)	mg/L		%Remo	ción
0	153.76	±0.86	0	
10	88.03	±6.16	42.76	±3.69
20	84.24	±1.35	45.21	±0.57
30	73.97	±4.67	51.90	±2.77
40	74.31	±3.56	51.68	±2.04
50	66.12	±4.32	56.99	±3.05
60	65.97	±0.82	57.09	±0.78
70	62.70	±3.80	59.23	±2.24
80	57.06	±3.25	62.89	±1.91
90	55.05	±1.18	64.20	±0.57
100	52.99	±0.83	65.54	±0.73
110	54.33	±1.20	64.66	±0.98
120	62.10	±7.59	59.63	±4.71
130	54.44	±1.68	64.59	±0.89
140	55.56	±1.25	63.86	±1.01
150	52.21	±5.90	66.03	±4.03
160	50.18	±0.30	67.37	±0.38
170	46.72	±0.99	69.61	±0.81
180	47.04	±0.16	69.40	±0.07

|--|

La figura A.10 muestra una capacidad máxima de adsorción de las PHQ de 0.53 mg/g a los 180 minutos, lo que representa un 69.4% de remoción de ácido fúlvico, aunque un proceso de semisaturación se observa desde los 90 minutos, lo cual puede atribuirse a que el proceso esté ocurriendo en dos pasos: 1) Un proceso de difusión de capa límite donde la superficie del adsorbente se encuentra relativamente libre de ácido fúlvico y donde la cinética de adsorción puede considerarse como un proceso controlado por la difusión de moléculas de ácido fúlvico de la solución al adsorbente, donde tan pronto como las moléculas de ácido fúlvico llegan a la superficie del adsorbente instantáneamente se unen al grupo amino protonado (NH₃⁺) de las PHQ, y 2) un proceso de difusión intrapartícular, ya que se observa que una vez pasado el periodo de adsorción inicial el aumento en las cantidades de adsorción con el tiempo fue muy lento, esto debido a la disminución o indisponibilidad de grupos -NH₃⁺ en la superficie del adsorbente y a que las moléculas de ácido fúlvico entrantes encuentran interacciones electrostáticas desfavorables de las moléculas de ácido fúlvico adsorbidas (Wang *et al.,* 2008a). Tomando en consideración que las PHQ contienen un 94.79% de agua se pueden considerar como un proceso viable para la eliminación de ácido fúlvico en el agua.



Figura A.10 Capacidad de adsorción de las PHQ para ácido fúlvico

A.2.3.4 Mezcla de interferentes (MI)

La tabla A.5 muestra los datos de eliminación de cloruros, proteína y ácido fúlvico cuando se encuentran juntos en solución con el uso de PHQ, se observa que el porcentaje de remoción de Cl⁻ y de proteína menor en relación al porcentaje de remoción del ácido fúlvico. Las PHQ remueven en mayor porcentaje los compuestos orgánicos como el ácido fúlvico y la proteína y en un menor porcentaje los compuestos inorgánicos como los iones Cl⁻. Mientras de los compuestos orgánicos el ácido fúlvico es el que se remueve en mayor porcentaje.

Tiempo			
(min)	CI⁻ (%)	Ácido fúlvico (%)	
0	0	0	0
10	25.00 ±5.05	11.44 ±1.50	51.14 ±1.25
20	25.00 ±5.05	13.63 ±6.68	58.64 ±4.16
30	25.00 ±5.05	22.53 ±9.62	61.69 ±6.24
40	28.57	28.30 ±1.38	68.59 ±0.71
50	32.14 ±5.05	32.77 ±0.36	70.43 ±0.42
60	32.14 ±5.05	31.09 ±1.40	69.94 ±1.05
70	32.14 ±5.05	36.18 ±4.20	71.19 ±2.04
80	35.71 ±10.10	35.92 ±1.88	72.75 ±0.43
90	35.71 ±10.10	36.58 ±1.58	74.39 ±1.01
100	35.71 ±10.10	39.79 ±4.65	73.85 ±0.81
110	39.29 ±5.05	37.79 ±6.37	75.05 ±1.61
120	39.29 ±5.05	38.60 ±5.28	69.10 ±0.55
130	39.29 ±5.05	40.24	72.85 ±0.72
140	39.29 ±5.05	41.39 ±1.33	75.42 ±0.35
150	39.29 ±5.05	41.82 ±6.49	73.74 ±0.37
160	39.29 ±5.05	43.33 ±3.62	75.39 ±0.35
170	39.29 ±5.05	44.11 ±2.51	75.80 ±0.18
180	39.29 ±5.05	43.33 ±3.62	74.13 ±1.09

Tabla A.5 Remoción de Cl⁻, proteína y ácido fúlvico en solución con PHQ

La figura A.11 muestra la capacidad máxima de adsorción de las PHQ de 0.13, 0.24 y 0.67 mg/g para los iones Cl⁻, las moléculas de proteína y de ácido fúlvico respectivamente. Donde la disminución en la capacidad de adsorción de proteína y Cl puede atribuirse a una competencia por los grupos amino protonados de las PHQ. Y donde la preferencia por las moléculas de ácido fúlvico sobre las de proteína puede deberse al pH necesario para que las moléculas de cada sustancia se encuentren desprotonadas y puedan unirse con el grupo amino protonado de las PHQ (-NH₃⁺). El pH necesario para que la molécula de ácido fúlvico se encuentre desprotonada, y adquiera una carga negativa en la solución, es menor que el de la proteína (3 y 4.9, respectivamente). Bajo estas condiciones la cantidad de moléculas con carga negativa será mayor para el ácido fúlvico que para la proteína, por lo cual serían éstas las primeras en adherirse a los grupos amino protonados de las PHQ, disminuyendo los sitios disponibles para los demás interferentes (Leenheer *et al.*, 1995; Shi *et al.*, 2003; Tangpasuthadol *et al.*, 2003; Wang *et al.*, 2008a; Sun *et al.*, 2008).



Figura A.11 Capacidad de adsorción de las PHQ para Cl⁻, proteína y ácido fúlvico

A.2.4 Cinéticas de adsorción de interferentes

Los datos experimentales de las cinéticas de adsorción de Cl⁻, proteína y ácido fúlvico fueron ajustados a los modelos de pseudo-primer orden y pseudo-segundo orden. En la tabla A.6 se presentan los parámetros obtenidos del ajuste aplicado a los datos experimentales.

Tabla A.6 Parámetros obtenidos de modelos cinéticos de adsorción de Cl⁻, proteínas y ácido fúlvico por PHQ

Modelo	Interferente / adsorbente	Parámetros	r ²
Lagergren	Cloruros - PHQ	$k_1 = 0.1211 \text{ min}^{-1}$ $q_e = 0.1896 \text{ mg/g}$	0.9932
	Proteína - PHQ	k ₁ = 0.0701 min ⁻¹ q _e = 0.5563 mg/g	0.9840
	Ácido fúlvico - PHQ	$k_1 = 0.0676 \text{ min}^{-1}$ $q_e = 0.4887 \text{ mg/g}$	0.9097
Но-МсКау	Cloruros - PHQ	k ₂ = 1.3042 g/mg*min q _e = 0.19798 mg/g	0.9880
	Proteína - PHQ	$k_2 = 0.1834 \text{ g/mg}^*\text{min}$ $q_e = 0.60526 \text{ mg/g}$	0.9860
	Ácido fúlvico - PHQ	k ₂ = 0.2047 g/mg*min q _e = 0.5325 mg/g	0.9646

En las figuras A.12 a A.14 se muestran las gráficas de ajuste de los datos experimentales de las cinéticas de adsorción a los modelos presentados en la tabla A.6.



Figura A.12 Modelo cinéticos de a) Lagergren y b) Ho-McKay aplicados a la cinética de adsorción de Cl⁻ por las PHQ



Figura A.13 Modelo cinéticos de a) Lagergren y b) Ho-McKay aplicados a la cinética de adsorción de proteina por las PHQ



Figura A.14 Modelo cinéticos de a) Lagergren y b) Ho-McKay aplicados a la cinética de adsorción de ácido fúlvico por las PHQ

El ajuste de los datos experimentales muestra un buen ajuste a ambos modelos de adsorción, aunque en la mayoría de los casos ajusta mejor al modelo de Ho-McKay, lo que indica un proceso de quimisorción el cual puede ser resultado de las fuerzas de atracción electrostáticas entre los componentes cargados positivamente de los adsorbentes (NH₃⁺) y los iones Cl⁻ o los radicales RCOO⁻ cargados negativamente de los sorbatos (Qiu *et al.*, 2009), limitando el proceso a la formación de una monocapa en la superficie del material.

El análisis de los parámetros cinéticos obtenidos muestra que para la eliminación de Cl⁻ el mejor material es la ZAg al tener una mayor capacidad de eliminación por unidad de masa. Además, se observa que las PHQ tienen una mejor capacidad de adsorción de los compuestos orgánicos (proteína y ácido fúlvico) que del componente inorgánico (Cl⁻) aunque la velocidad de adsorción de Cl⁻ es mayor.

Aunado a esto el ajuste de los modelos cinéticos permite entender el comportamiento de las diferentes sustancias en el proceso de adsorción en la mezcla de interferentes con PHQ. Donde la capacidad de adsorción de proteína es la más afectada, lo cual se entiende debido a que si bien es el componente que mejor capacidad de adsorción

presenta, también, es el que tiene menor velocidad de quimisorción lo cual comprobaría que los grupos amino protonados están siendo utilizados en primer medida por los Cl⁻ y en segundo lugar por las moléculas de ácido fúlvico, pero la baja capacidad de adsorción de Cl⁻ permite al ácido fúlvico unirse a la mayoría de los grupos amino protonados de las PHQ disminuyendo la disponibilidad de sitios para la proteína y por ende disminuyendo su capacidad de adsorción de ésta. Por lo que la mejora del material ya sea a través del entrecruzamiento con otros materiales, la modificación en el tamaño de las perlas o el cambio del pH, de tal forma que se aumente la cantidad de sitios activos en éste; son factores que pueden investigarse, en afán de mejorar la capacidad de adsorción del material.

ANEXO B. TABLAS Y FIGURAS

B.1 Tablas

Clima	Soleado, despejado	Ligeramente nublado
Temperatura ambiente	24 °C	20 °C
Lluvia en las 24 horas	No	No
posteriores al muestreo		
Temperatura de la muestra	18 °C	18 °C
Apariencia	Color claro, ligera presencia	Color claro, ligera presencia
	de solidos sedimentables	de solidos sedimentables
рН	6.2	6.0

Tabla B.1 Toma de muestras de agua

Tabla B.2 Actividad microbicida de 10 y 20 mg de ZAg frente a *E. coli*

Tiempo (min)	ZNa (Ln UFC/100 mL)	Sob. %	ZAg 10 mg (Ln UFC/100 mL)	Sob. %	ZAg 20 mg (Ln UFC/100 mL)	Sob. %
0	16.13 ±1.27	100	15.58 ±1.57	100	16.22 ±0.42	100
10	16.81 ±0.056	104.2	13.88 ±1.46	89.1	14.81 ±0.87	91.4
20	15.95 ±1.36	98.9	11.63 ±0.11	74.7	11.82 ±0.29	72.9
30	16.61 ±0.34	103.0	9.61 ±1.78	61.7	9.09 ±2.01	56.1
40	16.48 ±0.34	102.2	5.85 ±1.6	37.6	0	0
50	17.95 ±1.73	111.3	2.44 ±4.22	15.6	0	0
60	16.52 ±2.47	102.4	0	0	0	0
80	16.93 ±0.40	105.0	0	0	0	0
100	17.18 ±0.45	106.5	0	0	0	0
120	17.39 ±1.23	107.8	0	0	0	0

*Sob %: Porcentaje de sobrevivencia

Tiempo (min)	ZNa (Ln UFC/100 mL)	Sob. %	ZAg 10 mg (Ln UFC/100 mL)	Sob. %	ZAg 20 mg (Ln UFC/100 mL)	Sob. %
0	15.14 ±1.87	100	16.23 ±0.19	100	16.78 ±0.08	100
10	16.46 ±0.81	108.8	14.90 ±1.33	91.8	15.65 ±1.60	93.3
20	16.35 ±0.65	108.0	15.12 ±0.18	93.2	14.74 ±0.80	87.8
30	16.89 ±0.26	111.6	14.74 ±0.85	90.8	11.31 ±1.82	67.4
40	16.29 ±1.22	107.6	13.69 ±1.28	84.4	9.61 ±2.43	57.3
50	16.49 ±0.05	108.9	12.78 ±1.32	78.7	7.58 ±0.14	45.2
60	16.79 ±0.29	110.9	9.39 ±2.57	57.8	5.66 ±0.14	33.7
80	16.75 ±0.23	110.7	8.55 ±0.28	52.7	0	0
100	17.47 ±0.36	115.4	6.91 ±0.69	42.6	0	0
120	17.05 ±0.33	112.6	3.72 ±1.38	22.9	0	0
140	16.77 ±0.05	110.8	0	0	0	0
160	16.82 ±0.01	111.2	0	0	0	0

Tabla B.3 Actividad microbicida de 10 y 20 mg de ZAg frente a C. albicans

	E. coli							C. albicans							
Tiempo (min)	ZNa (Ln UFC/100 mL)	Sob. %	ZAg 10 mg (Ln UFC/100 mL)	Sob. %	ZAg 20 mg (Ln UFC/10 0mL)	Sob. %	Zt (Ln UFC)	Va /100 mL)	Sob. %	ZAg [/] (Ln UFC)	10 mg :/100 mL)	Sob. %	ZAg 2 (Ln UFC/	0 mg 100 mL)	Sob. %
0	17.74 ±0.14	100	18.23 ±1.41	100	18.78 ±0.74	100	18.08	±0.75	100	18.46	±1.33	100	19.00	±0.67	100
10	18.64 ±0.91	105	17.27 ±1.61	95	17.02 ±2.17	91	18.06	±1.07	100	17.60	±1.55	95	17.05	±2.22	90
20	18.28 ±0.65	103	15.29 ±2.08	84	18.08 ±1.10	96	17.56	±0.71	97	14.61	±1.86	79	16.12	±2.04	85
30	19.04 ±0.09	107	15.88 ±0.59	87	15.69 ±1.04	84	18.38	±1.15	102	13.95	±2.59	76	15.08	±1.36	79
40	19.32 ±0.80	109	14.82 ±0.44	81	14.93 ±1.12	80	18.43	±1.15	102	15.45	±0.93	84	14.38	±0.98	76
50	17.49 ±0.44	99	16.33 ±0.17	90	14.64 ±0.95	78	17.54	±0.32	97	15.14	±1.03	82	13.92	±1.37	73
60	18.67 ±0.78	105	14.97 ±1.63	82	13.08 ±1.16	70	17.76	±1.24	98	14.15	±0.94	77	13.19	±1.85	69
80	17.55 ±0.85	99	13.35 ±2.02	73	10.85 ±2.49	58	17.50	±0.47	97	13.42	±1.49	73	12.10	±1.17	64
100	18.58 ±1.45	105	12.89 ±2.09	71	2.67 ±4.62	14	17.91	±1.15	99	12.44	±2.08	67	10.51	±1.63	55
120	17.76 ±0.55	100	9.78 ±0.80	54	0	0	17.48	±0.45	97	11.81	±2.42	64	8.90	±2.88	47
140	17.93 ±0.38	101	10.51 ±1.90	58	0	0	17.42	±0.29	96	10.99	±1.38	60	5.26	±4.80	28
160	19.05 ±0.66	107	8.67 ±0.52	48	0	0	18.85	±0.43	104	9.13	±1.15	49	0.00	±0.00	0
180	18.77 ±1.06	106	0	0	0	0	18.62	±0.76	103	8.90	±1.57	48	0)	0
240			0	0						4.93	±0.22	27		-	
300										(0	0		-	

Tabla B.4 Actividad microbicida de 10 y 20 mg de ZAg frente a un consorcio microbiano (E. coli y C. albicans)

		-				0		
Tiempo (min)	ZAg 10 mg (Ln UFC/100 mL)	E. C Sob. %	ZAg 20 mg (Ln UFC/100 mL)	Sob. %	ZAg 10 mg (Ln UFC/100 mL)	Sob. %	ZAg 20 mg (Ln UFC/100 mL)	Sob. %
0	16.11 ±0.35	100.0	16.89 ±1.27	100.0	16.41 ±0.26	100.0	15.56 ±1.48	100.0
10	15.31 ±0.86	95.0	15.65 ±1.62	92.6	16.17 ±0.19	98.6	15.24 ±0.63	98.0
20	15.06 ±0.94	93.5	15.29 ±1.37	90.5	15.55 ±0.86	94.8	15.00 ±0.53	96.4
30	13.80 ±0.82	85.7	14.41 <u>+</u> 2.11	85.3	15.47 ±0.99	94.3	14.40 ±0.79	92.5
40	12.66 ±0.70	78.6	13.76 ±1.82	81.5	15.50 ±0.53	94.5	13.19 ±1.84	84.8
50	12.51 ±0.91	77.6	12.85 ±2.56	76.1	14.92 ±0.82	90.9	12.26 ±1.30	78.8
60	12.02 ±0.68	74.6	11.51 ±1.32	68.2	14.24 ±0.70	86.8	11.37 ±1.10	73.1
80	10.35 ±1.09	64.2	9.41 ±2.94	55.7	14.07 ±0.54	85.7	10.88 ±1.15	69.9
100	9.66 ±0.53	60.0	5.48 ±1.85	32.4	14.03 ±0.47	85.5	8.56 ±2.15	55.0
120	8.36 ±0.41	51.9	3.95 ±1.87	23.4	13.52 ±0.07	82.4	9.16 ±1.47	58.9
140	3.99 ±3.53	24.8	0	0			7.63 ±0.47	49.0
160	0	0					6.75 ±0.91	43.4
180	0	0			11.54 ±1.17	70.4	3.30 ±2.88	21.2
200							0	0
240					8.80 ±1.08	53.6		
300					0	0		

Tabla B.5 Efecto de 104.9 mg/L de proteína sobre la actividad microbicida de 10 y 20 mg de ZAg en presencia de *E. coli* o *C. albicans*

	consorcio microbiano (<i>E. coli</i> y <i>C. albicans</i>)										
Tiempo	ZA	UFC/100 mL)	ZA	.g 20 mg (Ln	UFC/100 mL)						
(11111)	E. coli	Sob. %	C. albicans	Sob. %	E. coli	Sob. %	C. albicans	Sob. %			
0	15.49 ±0.60	100.0	15.97 ±1.14	100.0	15.35 ±0.75	100.0	15.32 ±0.76	100.0			
60	13.74 ±2.12	88.7	14.85 ±0.63	93.0	12.24 ±2.83	79.8	14.92 ±0.07	97.4			
120	9.88 ±2.57	63.8	13.99 ±0.90	87.6	7.04 ±0.90	45.9	12.42 ±0.46	81.1			
180	3.97 ±3.45	25.7	11.81 ±1.96	74.0	0	0	10.50 ±1.21	68.6			
240	0	0	9.75 ±2.28	61.1	0	0	1.54 ±2.66	10.0			
300	0	0	8.86 ±1.07	55.5	0	0	0	0			
360	0	0	5.06 ±4.94	31.7	0	0	0	0			
420	0	0	2.99 ±5.17	18.7	0	0	0	0			
480	0	0	0	0	0	0	0	0			

Tabla B.6 Efecto de 104.9 mg/L de proteína sobre la actividad microbicida de 10 y 20 mg de ZAg en presencia de un consorcio microbiano (*E. coli* y *C. albicans*)

Tabla B.7 Efecto de 150 mg/L de ácido fúlvico sobre la actividad microbicida de 10 y 20 mg de ZAg en presencia de E.

coli o C. albicans

	ZA	g 10 mg (Ln	UFC/100 mL)		ZAg 20 mg (Ln UFC/100 mL)			
Tiempo (min)	E. coli	Sob. %	C. albicans	Sob. %	E. coli	Sob. %	C. albicans	Sob. %
0	14.79 ±1.38	100.0	14.51 ±0.92	100.0	13.41 ±0.70	100.0	14.84 ±1.74	100.0
10	13.26 ±0.92	89.7	12.42 ±0.82	85.6	11.86 ±0.49	88.4	13.43 ±2.26	90.5
20	12.47 ±1.13	84.3	10.75 ±1.33	74.1	11.96 ±0.27	89.2	11.88 ±2.04	80.1
30	10.89 ±1.46	73.6	10.34 ±2.38	71.3	10.86 ±0.64	81.0	9.01 ±2.64	60.7
40	11.04 ±0.37	74.7	10.22 ±2.28	70.5	7.97 ±1.15	59.4	4.37 ±5.45	29.4
50	10.18 ±0.75	68.9	7.60 ±0.92	52.4	6.10 ±2.12	45.5	2.51 ±5.02	16.9
60	9.00 ±0.42	60.8	6.35 ±1.55	43.8	1.77 ±3.06	13.2	2.30 ±4.61	15.5
80	7.42 ±0.25	50.2	4.01 ±3.75	27.7	0	0	0	0
100	5.50 ±0.29	37.2	1.54 ±2.66	10.6	0	0	0	0
120	0	0	0	0	0	0	0	0
140					0	0	0	0

Tabla B.8 Efecto de 150 mg/L de ácido fúlvico sobre la actividad microbicida de 10 y 20 mg ZAg en presencia de un consorcio microbiano (*E. coli* y *C. albicans*)

	ZA	\g 10 mg (Ln	UFC/100 mL)		ZAg 20 mg (Ln UFC/100 mL)				
Tiempo (min)	E. coli	Sob. %	C. albicans	Sob. %	E. coli	Sob. %	C. albicans	Sob. %	
0	15.22 ±1.42	100.0	14.78 ±1.12	100.0	15.35 ±0.81	100.0	15.34 ±0.50	100.0	
30	13.47 ±0.67	88.5	12.46 ±3.04	84.3	14.79 ±1.11	96.3	14.16 ±0.63	92.3	
60	9.89 ±1.73	65.0	10.67 ±2.62	72.2	6.37 ±1.57	41.5	8.30 ±3.33	54.1	
90	7.64 ±0.86	50.2	7.73 ±3.19	52.3	3.67 ±3.18	23.9	4.15 ±5.86	27.0	
120	4.63 ±4.12	30.4	2.30 ±3.99	15.6	0	0	0	0	
180	1.54 ±2.66	10.1	0	0	0	0	0	0	
240	0	0	0	0	0	0	0	0	
300	0	0	0	0	0	0	0	0	

Tabla B.9 Efecto de una mezcla de interferentes (MI) sobre la actividad microbicida de 10 y 20 mg de ZAg en presencia de *E. coli* o *C. albicans*

		E. c	oli			C. alk	bicans	
Tiempo (min)	ZAg 10 mg (Ln UFC/100mL)	Sob. %	ZAg 20 mg (Ln UFC/100mL)	Sob. %	ZAg 10 mg (Ln UFC/100mL)	Sob. %	ZAg 20 mg (Ln UFC/100mL)	Sob. %
0	14.41 ±0.56	100.0	14.64 ±0.23	100.0	14.88 ±0.93	100.0	14.73 ±0.51	100.0
60	14.65 ±2.20	101.6	12.32 ±0.25	84.2				
120	14.13 ±3.92	98.0	10.74 ±1.36	73.3	14.89 ±0.70	100.0	14.20 ±1.71	96.4
180	14.43 ±2.62	100.1	8.65 ±1.34	59.0				
240	12.16 ±0.78	84.4	8.17 ±1.63	55.8	14.92 ±0.95	100.2	12.58 ±0.69	85.4
300	12.96 ±2.05	89.9	7.90 ±1.34	54.0				
360	11.79 ±2.34	81.8	8.08 ±1.41	55.2	14.44 ±1.00	97.0	10.56 ±1.87	71.7
420	10.66 ±0.08	73.9	6.56 ±0.59	44.8				
480	8.40 ±1.12	58.3	4.08 ±3.56	27.9	13.48 ±1.72	90.5	10.64 ±2.26	72.2
540	9.54 ±0.62	66.2	0	0				
600	8.87 ±0.74	61.5	0	0	13.81 ±1.63	92.8	11.43 ±1.41	77.6
660	7.33 ±0.23	50.9	0	0				
720	5.76 ±0.65	39.9			13.88 ±1.73	93.3	10.65 ±1.46	72.3
780	0	0						
840	0	0			13.64 ±1.62	91.6	10.33 ±1.40	70.1
960					14.19 ±1.15	95.3	10.69 ±1.17	72.5
1080					13.80 ±0.62	92.7	9.70 ±2.70	65.8
1200					13.55 ±1.15	91.0	10.08 ±1.95	68.4
1320					13.64 ±0.54	91.6	9.22 ±1.30	62.6
1440					12.68 ±0.99	85.2	9.05 ±0.60	61.4
1560					11.34 ±0.23	76.2	10.35 ±1.56	70.2
1680					9.79 ±0.20	65.8	9.79 ±2.26	66.4
1800					9.88 ±0.65	66.4	8.61 ±3.13	58.4
1920					10.25 ±0.36	68.9	8.16 ±3.47	55.4
2040					9.35 ±0.20	62.8	5.26 ±7.43	35.7
2160					9.14 ±0.22	61.4	0	0

Tabla B.10 Efecto de una MI sobre la actividad microbicida de 10 y 20 mg de ZAg en presencia de un consorcio microbiano (*E. coli* y *C. albicans*)

Tiempo	ZA	g 10 mg (Ln	UFC/100 mL)		ZA	g 20 mg (Ln	UFC/100 mL)	
(min)	E. coli	Sob. %	C. albicans	Sob. %	E. coli	Sob. %	C. albicans	Sob. %
0	18.33 ±0.22	100.0	14.97 ±0.65	100.0	17.97 ±0.55	100.0	15.20 ±0.09	100.0
300	16.09 ±0.04	87.8	15.41 ±0.01	103.0	ND	ND	14.38 ±0.32	94.6
600	11.61 ±0.98	63.3	14.40 ±0.52	96.2	9.65 ±2.76	53.7	14.02 ±0.82	92.3
900	11.56 ±1.04	63.1	14.01 ±0.02	93.6	7.02 ±1.14	39.1	12.56 ±0.02	82.6
1200	7.39 ±0.30	40.3	13.02 ±1.15	87.0	6.10 ±0.16	34.0	12.13 ±0.36	79.8
1440	7.37 ±0.18	40.2	12.50 ±1.40	83.5	0	0	10.86 ±0.61	71.5
1800	6.90 3.24	37.6	12.59 ±0.40	84.1	0	0	10.58 ±0.25	69.6
2160	4.29 ±6.06	23.4	11.98 ±1.16	80.0	0	0	9.36 ±1.91	61.6
2640	0	0	10.57 ±0.04	70.6	0	0	6.96 ±0.07	45.8

Tabla B.11 Actividad microbicida de 200 mg de ZCu sobre *E. coli, C. albicans* o en consorcio microbiano (*E. coli* y *C. albicans*)

		Е. с	coli			C. albicans				
Tiempo (min)	Individual (Ln UFC/100mL)	Sob. %	Consorcio (Ln UFC/100mL)	Sob. %	Individual (Ln UFC/100mL)	Sob. %	Consorcio (Ln UFC/100mL)	Sob. %		
0	15.68 ±1.66	100.0	14.36 ±0.78	100.0	16.98 ±0.52	100.0	15.26 ±0.49	100.0		
60	13.21 ±0.85	84.2			15.98 ±0.70	94.1				
120	12.43 ±1.30	79.3			15.30 ±0.36	90.1				
240	11.29 ±0.98	72.0			13.14 ±0.43	77.4				
360	11.17 ±0.49	71.2			13.06 ±0.54	76.9				
480	10.18 ±0.40	64.9			12.33 ±0.12	72.6				
600	7.46 ±0.20	47.5			11.49 ±1.04	67.7				
720	0	0	12.76 ±0.78	88.8	10.97 ±0.98	64.6	13.82 ±0.00	90.5		
1440	0	0	10.86 ±0.78	75.6	10.22 ±1.92	60.2	11.91 ±0.56	78.0		
1800					6.40 ±0.98	37.7				
1860					0	0				
2160			9.21 ±0.00	64.1			11.26 ±1.34	73.8		
2880			8.06 ±1.63	56.1			7.60 ±0.00	49.8		
3600			4.95 ±0.49	34.5			6.89 ±1.27	45.1		
3840			4.95 ±0.49	34.5			5.80 ±1.70	38.0		
4080			0	0			4.35 ±6.15	28.5		
4320			0	0			0	0		
4560			0	0			0	0		

		Е. с	coli			C. all	bicans	
Tiempo (min)	Individual	Sob.	Consorcio	Sob.		Sob.	Consorcio	Sob.
(iiiii)	(LITOPE/TOUML)	70	(LITOPE/TOOML)	70	(LITOPC/TOUNL)	70	(LITOPC/TOUML)	70
0	15.77 ±1.79	100.0	16.85 ±2.01	100.0	15.44 ±0.86	100.0	16.64 ±2.03	100.0
10	15.44 ±2.30	97.9	16.02 ±2.14	95.1	15.59 ±0.97	101.0	16.11 ±1.70	96.8
20	16.16 ±1.35	102.4	15.65 ±2.59	92.9	15.78 ±0.31	102.2	15.68 ±1.66	94.3
30	15.97 ±1.50	101.3	16.30 ±2.53	96.8	15.18 ±0.26	98.3	16.18 ±1.80	97.3
40	15.77 ±2.77	100.0	15.55 ±2.45	92.3	15.23 ±1.24	98.6	15.73 ±1.73	94.5
50	16.52 ±1.29	104.7	16.55 ±2.89	98.2	15.68 ±1.09	101.6	16.60 ±2.39	99.8
60	15.23 ±2.00	96.6	16.23 ±3.42	96.4	14.74 ±0.80	95.4	16.30 ±2.53	98.0
80	15.85 ±1.89	100.5	16.46 ±2.77	97.7	15.34 ±0.72	99.4	16.46 ±2.19	98.9
100	15.53 ±2.43	98.5	16.21 ±3.38	96.2	15.20 ±1.20	98.4	16.36 ±2.62	98.3
120	15.59 ±0.24	98.9	15.31 ±1.14	90.9	14.91 ±1.10	96.6	15.06 ±0.20	90.5
140	15.86 ±1.34	100.6	16.44 ±2.74	97.6	15.38 ±0.85	99.6	16.30 ±1.96	98.0
160	15.86 ±1.34	100.6	15.86 ±2.90	94.2	15.48 ±0.40	100.2	16.01 ±2.12	96.2
180	15.31 ±2.12	97.1	17.00 ±1.24	100.9	15.48 ±0.40	100.2	16.14 ±1.74	97.0
200			16.58 ±2.94	98.4			16.14 ±2.30	97.0
240			15.99 ±3.08	94.9			16.85 ±1.18	101.3
300			16.28 ±2.50	96.6			16.32 ±1.99	98.1
360			16.01 ±3.10	95.0			15.79 ±2.79	94.9
420			16.32 ±2.56	96.9			15.73 ±2.71	94.5
480			16.36 ±2.62	97.1			16.10 ±2.25	96.7

Tabla B.12 Efecto de 104.9 mg/L de proteína sobre E. coli, C. albicans o en consorcio microbiano (E. coli y C. albicans)

		E . (coli			C. all	bicans	
Tiempo (min)	Individual (Ln UFC/100mL)	Sob. %	Consorcio (Ln UFC/100mL)	Sob. %	Individual (Ln UFC/100mL)	Sob. %	Consorcio (Ln UFC/100mL)	Sob. %
0	14.16 ±0.49	100.0	13.81 ±0.01	100.0	15.00 ±1.13	100.0	15.83 ±0.89	100.0
10	13.53 ±0.09 95.5 14.93 ±0.51 99.6							
20	13.18 ±0.40	93.1	93.1 14.95 ±0.31 99.7					
30	13.36 ±0.65	94.3	13.38 ±0.11	96.9	15.38 ±0.40	102.6	15.29 ±0.52	96.6
40	13.10 ±0.29	92.5			14.48 ±0.76	96.5		
50	13.16 ±0.78	92.9			14.54 ±0.19	97.0		
60	13.30 ±0.57	93.9	13.30 ±0.57	96.3	14.72 ±0.77	98.2	15.09 ±0.16	95.3
80	13.25 ±0.49	93.5			14.76 ±0.59	98.4		
90			13.30 ±0.57	96.3			15.39 ±0.26	97.2
100	13.29 ±0.24	93.8			14.52 ±0.85	96.8		
120	13.01 ±1.14	91.9	13.25 ±0.49	95.9	14.64 ±0.48	97.7	14.46 ±0.91	91.3
140					13.82 ±0.09	92.1		
160					13.82 ±0.00	92.1		
180			13.04 ±0.60	94.4	14.91 ±0.10	99.5	14.43 ±0.11	91.2
240			13.36 ±0.65	96.7			14.74 ±1.31	93.1
300			13.53 ±0.09	97.9			15.22 ±0.29	96.1

Tabla B.13 Efecto de 150 mg/L de ácido fúlvico sobre E. coli, C. albicans o en consorcio microbiano (E. coli y C. albicans)

Tabla B.14 Efecto de la MI sobre E. coli, C. albicans o consorcio microbiano (E. coli y C. albicans)

		Е.	coli			C. albicans				
Tiempo (min)	Individual (Ln UFC/100mL)	Sob. %	Consorcio (Ln UFC/100mL)	Sob. %	Individual (Ln UFC/100mL)	Sob. %	Consorcio (Ln UFC/100mL)	Sob. %		
0	17.82 ±0.51	100.0	18.44 ±0.85	100.0	14.61 ±0.65	100.0	15.20 ±0.40	100.0		
600	17.94 ±0.31	100.7	17.40 ±0.48	94.4	16.97 ±0.31	116.2	14.00 ±0.65	92.1		
1440	18.09 ±0.40	101.5	18.06 ±0.09	98.0	14.98 ±0.65	102.5	15.20 ±0.29	100.0		
1800	18.45 ±0.76	103.5	16.81 ±0.00	91.2	15.67 ±0.85	107.3	14.35 ±0.78	94.4		
2160	18.92 ±0.19	106.1	17.37 ±0.85	94.2	15.30 ±1.27	104.7	14.08 ±0.49	92.6		
2640			16.91 ±0.10	91.7			14.73 ±0.09	96.9		

Tiempo (min)	ZAg-25.36 mg/L Cl ⁻ (Ln UFC/100mL)	Sob. %	ZAg-63.41 mg/L Cl ⁻ (Ln UFC/100mL)	Sob. %	ZAg-5.245 mg/L proteína (Ln UFC/100mL)	Sob. %	ZAg-52.5 mg/L ácido fúlvico (Ln UFC/100mL)	Sob. %
0	16.77 ±1.90	100.0	14.93 ±0.39	100.0	18.60 ±0.44	100.0	17.13 ±0.45	100.0
10	17.08 ±1.36	101.9	15.08 ±0.67	101.0	15.15 ±0.48	81.5	15.85 ±0.26	92.5
20	14.96 ±0.60	89.2	14.91 ±0.84	99.9	15.79 ±0.36	84.9	14.35 ±0.29	83.8
30	14.49 ±0.66	86.4	14.42 ±0.91	96.6	14.34 ±0.61	77.1	12.44 ±0.74	72.6
40	13.79 ±0.12	82.2	14.78 ±1.58	99.0	13.68 ±1.03	73.6	10.54 ±0.91	61.5
50	12.72 ±0.73	75.8	12.78 ±0.81	85.6	11.92 ±2.42	64.1	10.88 ±0.72	63.5
60	11.19 ±1.84	66.7	11.58 ±1.80	77.6	10.82 ±1.09	58.2	8.34 ±1.55	48.7
70	9.93 ±2.24	59.2	10.53 ±1.39	70.6				
80	9.84 ±2.46	58.7	9.59 ±2.81	64.3	4.30	23.1	0	0
90	9.44 ±2.34	56.3	9.00 ±2.96	60.3				
100	7.72 ±0.67	46.0	8.89 ±2.23	59.6	0	0	0	0
110	6.45 ±0.33	38.5	8.44 ±2.32	56.6				
120	0	0	8.26 ±1.91	55.4	0	0	0	0
130	0	0	7.79 ±1.75	52.2				
140	0	0	7.75 ±1.91	51.9	0	0	0	0
150	0	0	7.05 ±2.47	47.2				
160	0	0	3.59	24.0	0	0	0	0
170	0	0	0	0				
180	0	0	0	0	0	0	0	0

Tabla B.15 Efecto de la MI a bajas concentraciones sobre la actividad microbicida de 20 mg de ZAg en presencia de

E. coli

Tiompo	ZAg	ZAg-5.245 mg/L proteína	ZAg-52.5 mg/L ácido fúlvico	ZAg-25.36 mg/L Cl ⁻	ZAg-MI totales	ZAg-MI reducidos
(min)			(Ln UF	C/100mL)		
0	17.11 ±0.51	16.26 ±0.23	14.21 ±0.19	15.93 ±0.01	17.48 ±0.04	15.77 ±1.68
10	0	0	0	0	0	0
30					0	0
60					8.79 ±0.85	0
90					10.59 ±0.49	0
120	0	0	0	0	12.46 ±0.47	8.62 ±0.71
180					14.93 ±0.80	10.99 ±0.78
240	0	0	0	10.79 ±0.20	17.40 ±0.01	13.32 ±2.49
360	0	0	0	12.66 ±0.19	17.14 ±0.40	15.08 ±1.21
480	0	0	4.15 ±0.02	13.29 ±0.36		
600	0	7.59 ±0.96	8.84 ±0.78	14.53 ±0.07		
720	0	9.30 ±1.11	10.68 ±0.19	15.10 ±0.79		
780	6.05 ±5.26	10.60 ±0.98	10.74 ±0.21			
840	8.24 ±2.45	10.59 ±0.78	10.94 ±0.26	15.00 ±0.93		
960	10.46 ±1.46	11.28 ±0.59	10.94 ±0.49	15.01 ±0.85		
1080	11.54 ±0.71	12.20 ±0.07	10.99 ±0.02	15.74 ±0.07		
1200	11.67 ±0.53	12.25 ±0.01	11.36 ±0.19	15.85 ±0.03		

B.2 Figuras



Figura B.2 Modelo de Chick aplicado a la cinética del proceso de desinfección de a) 10 mg de ZAg y b) 20 mg de ZAg frente a *E. coli* en presencia de interferentes



Figura B.3 Modelo de Chick aplicado a la cinética del proceso de desinfección de a) 10 mg de ZAg y b) 20 mg de ZAg frente a *C. albicans* en presencia de interferentes





Figura B.5 Modelo de Chick aplicado a la cinética del proceso de desinfección de 200 mg de ZCu frente a *E. coli* y *C. albicans* de forma a) individual y b) en consorcio



Figura B.6 Modelo de Chick–Watson aplicado a la cinética del proceso de desinfección de a) 10 mg de ZAg y b) 20 mg de ZAg frente a *E. coli* en presencia de





Figura B.8 Modelo de Chick–Watson aplicado a la cinética del proceso de desinfección de a) 10 mg de ZAg y b) 20 mg de ZAg frente a un consorcio microbiano (*E. coli* y *C. albicans*) en presencia de interferentes



desinfección de 200 mg de ZCu frente a *E. coli* y *C. albicans* de forma a) individual y

b) en consorcio



Figura B.10 Modelos de Lagergren (a) y Ho-McKay (b) aplicados a la adsorción de

Cl⁻ por la ZAg









Figura B.12 Modelos de a) Korsmeyer-Peppas y b) Higuchi aplicados a la cinética de desorción de Ag de 10 mg de la ZAg en presencia de *C. albicans* en presencia de interferentes



Figura B.13 Modelos de a) Korsmeyer-Peppas y b) Higuchi aplicados a la cinética de desorción de Ag de 10 mg de la ZAg en presencia de consorcio microbiano (*E. coli* y *C. albicans*) en presencia de interferentes



Figura B.14 Modelos de a) Korsmeyer-Peppas y b) Higuchi aplicados a la cinética de desorción de Ag de 20 mg de la ZAg en presencia de *E. coli* en presencia de interferentes



Figura B.15 Modelos de a) Korsmeyer-Peppas y b) Higuchi aplicados a la cinética de desorción de Ag de 20 mg de la ZAg en presencia de *C. albicans* en presencia de interferentes


Figura B.16 Modelos de a) Korsmeyer-Peppas y b) Higuchi aplicados a la cinética de desorción de Ag de 20 mg de la ZAg en presencia de consorcio microbiano (*E. coli* y *C. albicans*) en presencia de interferentes



Figura B.17 Modelos de a) Korsmeyer-Peppas y b) Higuchi aplicados a la cinética de desorción de Cu de 200 mg de la ZCu en presencia de *E. coli*, *C. albicans* y un consorcio microbiano (*E. coli* y *C. albicans*)



Tabla B.17 Modelo logístico de crecimiento poblacional para la desinfección de *E. coli* con ZAg





E. coli con ZAg en presencia de 5.245 mg/L de proteína







Tabla B.20 Modelo logístico de crecimiento poblacional para la desinfección de*E. coli* con ZAg en presencia de 25.36 mg/L de cloruros





E. coli con ZAg en presencia de MI totales



Tabla B.22 Modelo logístico de crecimiento poblacional para la desinfección de *E. coli* con ZAg en presencia de MI reducidos

ANEXO C. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Las variables consideradas en el presente trabajo fueron: a) la masa del desinfectante, b) el material desinfectante, c) el tipo de microorganismo y d) los diferentes interferentes (cloruros, ácido fúlvico y proteína). Un análisis estadístico del efecto de estas variables sobre los mecanismos de respuesta obtenidos de los modelos cinéticos, tales como de cinética de desinfección (k), eficiencia del desinfectante (Ct) y cinética de desorción de los iones metálicos al medio (k), se realizó mediante un análisis de varianza de dos factores con una observación por grupo (ANOVA).

C.1 Cinética de desinfección

Para verificar el efecto de las variables sobre la cinética de desinfección, se consideraron como variables de respuesta los valores obtenidos de la constante cinética del modelo de Chick (k) (Tablas 3.5 a 3.7). Las variables se agruparon de tal forma, que se pudiesen comparar y determinar cuál es la que influye en mayor medida, como se muestra en las tablas C.1 a C.5.

Variables	Masa del desinfectante			
variables		ZAg 10 mg	ZAg 20 mg	
Tipo de microorganismo	E. coli	-0.2878	-0.4717	
	C. albicans	-0.1172	-0.224	
	<i>E. coli</i> (consorcio)	-0.0755	-0.1645	
	C. albicans (consorcio)	-0.0524	-0.0976	

Tabla C.1 Efecto de la masa	del desinfectante (ZAg)	vs. el tipo de microorganismo
sobre	la cinética de desinfecci	ón (k).

Tabla C.2 Efecto del material desinfectante vs. tipo de microorganismo :	sobre la
cinética de desinfección (k).	

Variables	Material desinfectante			
Valiables		ZAg 10 mg	ZAg 20 mg	ZCu 200 mg
Tipo de microorganismo	E. coli	-0.2878	-0.4717	-0.0161
	C. albicans	-0.1172	-0.224	-0.0062
	<i>E. coli</i> (consorcio)	-0.0755	-0.1645	-0.0032
	C. albicans (consorcio)	-0.0524	-0.0976	-0.0032

Tabla C.3 Efecto de los interferentes *vs.* tipo de microorganismo sobre la cinética de desinfección (k) utilizando 10 mg de ZAg.

	Interferente				
Variables		Sin interferente	Proteína (104.9 mg/L)	A. fúlvico (150 mg/L)	MI
	E. coli	-0.2878	-0.0902	-0.107	-0.0163
Tipo de microorganismo	C. albicans	-0.1172	-0.0455	-0.1172	-0.0029
	<i>E. coli</i> (consorcio)	-0.0755	-0.0785	-0.0635	-0.006
	C. albicans (consorcio)	-0.0524	-0.0357	-0.0899	-0.0019

Tabla C.4 Efecto de los interferentes *vs.* tipo de microorganismo sobre la cinética de desinfección (k) utilizando 20 mg de ZAg.

	Interferente				
Variables		Sin interferente	Proteína (104.9 mg/L)	A. fúlvico (150 mg/L)	МІ
Tipo de microorganismo	E. coli	-0.4717	-0.1216	-0.1949	-0.0204
	C. albicans	-0.224	-0.0704	-0.207	-0.0037
	<i>E. coli</i> (consorcio)	-0.1645	-0.102	-0.1569	-0.0118
	C. albicans (consorcio)	-0.0976	-0.0679	-0.16	-0.0031

Tabla C.5 Efecto del tipo de interferente *vs.* concentración de interferente sobre la cinética de desinfección (k).

Variables	Tipo de interferente			
variables		Proteína	A. fúlvico	Cloruros
Concentración del interferente	Totales	-0.1216	-0.1949	-0.077
	Reducidos	-0.1786	-0.2051	-0.1201

Una vez agrupados los datos, se procedió con el análisis de varianza de dos factores obteniéndose los valores de F y F crítica, para cada caso, como se muestra en la tabla C.6.

	Variable	F	F crítica
Masa del desinfectante (ZAg) vs. tipo de	Masa del desinfectante	13.467	10.128
microorganismo	Tipo de microorganismo	21.663	9.277
Material desinfectante vs. tipo de	Material desinfectante	8.508	5.143
microorganismo	Tipo de microorganismo	3.980	4.757
Interferente vs. tipo de microorganismo.	Interferente	4.560	3.863
utilizando 10 mg de ZAg	Tipo de microorganismo	2.029	3.863
Interferente vs. tipo de microorganismo.	Interferente	7.008	3.863
utilizando 20 mg de ZAg	Tipo de microorganismo	1.830	3.863
Tipo de interferente vs. concentración	Tipo de interferente	17.819	19.000
del interferente	Concentración del interferente	7.021	18.513

Tabla C.6 Efecto de las diferentes variables sobre la cinética de la desinfección.

Se realizó también un análisis estadístico de las cinéticas de desinfección sin presencia de interferentes contra las cinéticas cuando hay presencia de cada uno de los interferentes por separado, con los datos mostrados en las tablas C.3 y C.4. Con ello se determinó el efecto que cada interferente genera sobre la cinética de la desinfección. Los resultados obtenidos se muestran en la tabla C.7.

Tabla C.7 Efecto individual de los interferentes sobre la cinética de la desinfección.
--

	Masa del material desinfectante	F	F crítica
Sin interferente ve 404.0 mg/l. proteíne	10 mg ZAg	2.456	10.128
Sin interferente vs. 104.9 mg/L proteina	20 mg ZAg	4.283	10.128
Sin interferente vs. 150 mg/L ácido	10 mg ZAg	0.641	10.128
fúlvico	20 mg ZAg	0.643	10.128
Sin interferente vs. mezcla de	10 mg ZAg	6.354	10.128
interferentes	20 mg ZAg	8.626	10.128

El análisis estadístico de los datos de la cinética de la desinfección (tablas C.1 a C.7), muestra que el aumento de la masa de ZAg genera un efecto significativo sobre la cinética de la desinfección. Sin embargo, el efecto provocado por la variación del tipo de microorganismo es mayor, indicando que el proceso de difusión de iones dentro de la membrana celular y la competencia por estos por parte de los microorganismos es más importante que la concentración de iones en el medio.

La variación en el tipo de desinfectante, al considerar los datos de ZCu en la variable de respuesta, hacen que este factor provoque un efecto mayor sobre la cinética de la desinfección, que el factor tipo de microorganismo, debido a que la F calculada es mayor que la F crítica para el factor "material desinfectante".

Se observa que la presencia de interferentes provoca un efecto significativo sobre la cinética de la desinfección, no importando si se usan 10 o 20 mg de ZAg, siendo dicho efecto mayor al provocado por la variación del tipo de microorganismo tratado. Además, la presencia de interferentes genera un efecto mayor sobre la cinética de la desinfección, al utilizar 20 mg de ZAg. Lo cual indica, que la interacción entre los iones Ag⁺ y los compuestos interferentes es más importante sobre la cinética de desinfección, que los procesos de difusión dentro de la membrana o la competencia de los microorganismos por los iones metálicos. Esto se explica considerando que la interacción Ag⁺ - interferentes influye sobre la difusión dentro de la membrana celular de los microorganismos, al no permitir a los iones estar biodisponibles para éstos.

El efecto provocado por los interferentes sobre la cinética de la desinfección se da en el orden de MI > proteína > ácido fúlvico, no importando la masa del desinfectante utilizado.

La disminución de la concentración de los interferentes muestra que aunque el efecto provocado no es significativo, al ser la F calculada menor a la F crítica, si existe un efecto en la variable de respuesta, aunque éste es menor al provocado por la variación del tipo de interferente, indicando que la interacción iones Ag⁺ - interferente – microorganismo es diferente en cada caso.

C.2 Eficiencia del desinfectante

Para verificar el efecto que las diferentes variables ejercen, sobre la eficiencia del desinfectante, se consideraron como datos de respuesta los valores obtenidos de "Ct" del modelo de Chick-Watson (Tablas 3.8 a 3.10). Los valores se agruparon de tal forma, que se pudiesen comparar las diferentes variables, tal como se muestra en las tablas C.8 a C.12.

 Tabla C.8 Efecto de la masa del desinfectante (ZAg) vs. tipo de microorganismo

 sobre la eficiencia del desinfectante.

Variables	Masa del desinfectante				
valiables		ZAg 10 mg	ZAg 20 mg		
Tipo de microorganismo	E. coli	0.62	0.849		
	C. albicans	1.854	1.017		
	<i>E. coli</i> (consorcio)	0.891	1.186		
	C. albicans (consorcio)	2.175	2.173		

Tabla C.9 Efecto del material desinfectante *vs.* tipo de microorganismo sobre la eficiencia del desinfectante.

Variables	Material desinfectante			
Valiables		ZAg 10 mg	ZAg 20 mg	ZCu 200 mg
Tipo de microorganismo	E. coli	0.62	0.849	36.7
	C. albicans	1.854	1.017	120.48
	<i>E. coli</i> (consorcio)	0.891	1.186	425.53
	C. albicans (consorcio)	2.175	2.173	476.19

Tabla C.10 Efecto de los interferentes *vs.* tipo de microorganismo sobre la eficiencia del desinfectante (10 mg ZAg).

	Interferente						
Variables		Sin interferente	Proteína (104.9 mg/L)	A. fúlvico (150 mg/L)	MI		
Tipo de microorganismo	E. coli	0.62	3.7	11.587	5.901		
	C. albicans	1.854	26.281	8.873	98.03		
	<i>E. coli</i> (consorcio)	0.891	16.168	24.51	43.19		
	C. albicans (consorcio)	2.175	64.725	18.639	188.67		

Tabla C.11 Efecto	de los interferentes	vs. tipo de	e microorgan	ismo sobr	e la e	ficiencia
	del desinfec	ctante (20	mg ZAg).			

	Interferente						
Variables		Sin interferente	Proteína (104.9 mg/L)	A. fúlvico (150 mg/L)	МІ		
Tipo de microorganismo	E. coli	0.849	4.054	15.385	3.428		
	C. albicans	1.017	15.711	12.78	80		
	<i>E. coli</i> (consorcio)	1.186	13.029	13.986	16.129		
	C. albicans (consorcio)	2.173	35.273	14.006	169.49		

Tabla C.12 Efecto del tipo de interferente *vs.* concentración de interferente sobre la eficiencia del desinfectante.

Variables	Tipo de interferente				
variables		Proteína	A. fúlvico	Cloruros	
Concentración del interferente	Totales	4.054	15.385	2.6215	
	Reducidos	1.0755	5.6322	1.608	

Una vez agrupados los datos se procedió con el análisis de varianza de dos factores obteniéndose los datos de F y F crítica, para cada factor comparado, como se muestra en la tabla C.13.

	Variable	F	F critica	
Masa del desinfectante (ZAg) vs. tipo de	Masa del desinfectante	0.091	10.128	
microorganismo	Tipo de microorganismo	5.702	9.277	
Material desinfectante vs. tipo de	Material desinfectante	5.826	5.143	
microorganismo	Tipo de microorganismo	1.011	4.757	
Interferente vs. tipo de microorganismo,	Interferente	3.754	3.863	
utilizando 10 mg de ZAg	Tipo de microorganismo	2.073	3.863	
Interferente vs. tino de microorganismo	Interferente	2.549	3.863	
utilizando 20 mg de ZAg	Tipo de microorganismo	1.488	3.863	
Tipo de interferente vs. concentración	Tipo de interferente	4.242	19.000	
del interferente	Concentración del interferente	2.996	18.513	

Tabla C.13 Efecto de las diferentes variables sobre la eficiencia del desinfectante

Se realizó también, un análisis estadístico de la eficiencia del desinfectante sin presencia de interferentes contra la eficiencia del desinfectante cuando hay presencia de cada uno de los interferentes por separado, con base en los datos mostrados en las tablas C.10 y C.11. Los resultados obtenidos, se muestran en la tabla C.14.

	Masa del material desinfectante	F	F critica
Sin interferente ve 104.0 mg/L proteíne	10 mg ZAg	4.206	10.128
Sin interference vs. 104.9 mg/L proteina	20 mg ZAg	6.238	10.128
Sin interferente vs. 150 mg/L ácido fúlvico.	10 mg ZAg	16.268	10.128
	20 mg ZAg	388.63	10.128
Sin interferente ve mozele de interferentes	10 mg ZAg	4.402	10.128
Sin interference vs. mezcia de interferentes	20 mg ZAg	3.059	10.128

Tabla C.14 Efecto individual de los interferentes sobre la eficiencia del desinfectante.

El análisis estadístico de los datos relativos a la eficiencia del desinfectante (Tablas C.8 a C.14), muestra que tanto el aumento en la masa del material desinfectante y la variación en cuanto al tipo de microorganismo no generan un efecto significativo sobre la eficiencia de desinfección, sin embargo, al ser menor la diferencia entre la F calculada y la F critica en el factor "tipo de microorganismo", el efecto provocado por éste es mayor. Lo cual indica que los procesos de difusión de los iones Ag⁺ dentro de la membrana celular, controlan la eficiencia del desinfectante.

La variación del tipo de desinfectante provoca un efecto significativo sobre su eficiencia, mayor a aquél generado por la variación en el tipo de microorganismo, lo cual indica que el uso de ZCu como agente desinfectante afecta sobre la eficiencia del desinfectante en mayor medida, que los procesos de difusión de la Ag+ dentro de la membrana celular y la competencia de los microorganismos por dichos iones.

La presencia de interferentes provoca un efecto mayor sobre la eficiencia del desinfectante, no importando si se usan 10 o 20 mg de ZAg, que el provocado por la variación en el tipo de microorganismo. Esto indica que la interacción entre los iones Ag⁺ y los interferentes afecta en mayor medida, la eficiencia del desinfectante. Por lo

que la interacción Ag⁺-interferentes, repercute en la difusión dentro de la membrana celular de los microorganismos, al no estar los iones biodisponibles.

El efecto provocado por los interferentes sobre la eficiencia del desinfectante se da en el orden: ácido fúlvico >> proteína ≅ mezcla de interferentes. Lo cual se debe a la interacción que se pueda establecer entre los iones Ag⁺ y el ácido fúlvico, lo que impediría la difusión de los iones al interior de la membrana del microorganismo. Además, la disminución de la concentración de los interferentes tiene un efecto sobre la eficiencia del desinfectante.

C.3 Desorción de iones al medio

Para verificar el efecto que las diferentes variables ejercen, sobre la desorción de iones metálicos al medio acuoso de los materiales zeolíticos acondicionados, se consideraron como datos de respuesta los valores obtenidos de la constante cinética (k) del modelo de Korsmeyer-Peppas (Tabla 3.12). Los resultados se agruparon de tal forma, que se pudiesen comparar las diferentes variables, tal como lo muestran las tablas C.15 a C.19.

Variables		Masa del desinfectante	
Variabics		ZAg 10 mg	ZAg 20 mg
Tipo de microorganismo	E. coli	2.51E-04	2.28E-04
	C. albicans	2.22E-04	1.29E-04
	Consorcio	4.55E-05	8.64E-05

Tabla C.15 Efecto de la ma	asa del desinfectante (ZAg)	vs. el tipo d	de microorganismo
sobre la	a cinética de la desorción de	e los iones.	

 Tabla C.16 Efecto del material desinfectante vs. el tipo de microorganismo sobre la cinética de la desorción de los iones.

Variables	Material desinfectante					
valiables		ZAg 10 mg	ZAg 20 mg	ZCu 200 mg		
Tipo de microorganismo	E. coli	2.51E-04	2.28E-04	3.14E-05		
	C. albicans	2.22E-04	1.29E-04	2.59E-05		
	<i>E. coli</i> (consorcio)	4.55E-05	8.64E-05	1.33E-05		
	C. albicans (consorcio)	2.51E-04	2.28E-04	3.14E-05		

Tabla C.17 Efecto del interferente *vs.* el tipo de microorganismo sobre la cinética de la desorción de los iones, utilizando 10 mg de ZAg.

	Interferente						
Variables		Sin interferente	Proteína (104.9 mg/L)	A. fúlvico (150 mg/L)	МІ		
Tipo de microorganismo	E. coli	2.51E-04	2.02E-04	1.18E-03	1.06E-05		
	C. albicans	2.22E-04	3.62E-04	9.94E-04	1.10E-05		
	<i>E. coli</i> (consorcio)	4.55E-05	4.38E-04	7.86E-04	1.07E-05		
	C. albicans (consorcio)	2.51E-04	2.02E-04	1.18E-03	1.06E-05		

Tabla C.18 Efecto del interferente *vs.* el tipo de microorganismo sobre la cinética de la desorción de los iones, utilizando 20 mg de ZAg.

	Interferente						
Variables		Sin interferente	Proteína (104.9 mg/L)	A. fúlvico (150 mg/L)	МІ		
Tipo de microorganismo	E. coli	2.28E-04	1.66E-04	1.52E-03	9.55E-06		
	C. albicans	1.29E-04	2.56E-04	1.43E-03	3.17E-04		
	<i>E. coli</i> (consorcio)	8.64E-05	2.64E-04	7.60E-04	7.61E-06		
	C. albicans (consorcio)	2.28E-04	1.66E-04	1.52E-03	9.55E-06		

Tabla C.19 Efecto del tipo de interferente *vs.* concentración del interferente sobre la cinética de la desorción de iones.

Variables		Tipo de interferente				
variables		Proteína	A. fúlvico	Cloruros		
Concentración del interferente	Totales	1.66E-04	1.52E-03	5.71E-05		
	Reducidos	1.01E-04	5.17E-04	9.17E-05		

Una vez agrupados los datos se procedió con el análisis de varianza de dos factores obteniéndose los datos de F y F crítica para cada factor comparado como se muestra en la tabla C.20.

	iones.		
	Variable	F	F critica
Material desinfectante (masa de ZAg) vs. tipo de microorganismo	Material desinfectante	0.419	18.513
	Tipo de microorganismo	6.934	19.000
Material desinfectante <i>vs.</i> tipo de microorganismo	Material desinfectante	6.052	6.944
	Tipo de microorganismo	3.598	6.944
Interferente <i>vs.</i> tipo de microorganismo, utilizando 10 mg de ZAg	Interferente	29.283	4.757
	Tipo de microorganismo	0.511	5.143
Interferente <i>vs.</i> tipo de microorganismo, utilizando 20 mg de ZAg	Interferente	18.587	4.757
	Tipo de microorganismo	1.528	5.143
Tipo de interferente <i>vs.</i> concentración del interferente	Tipo de interferente	3.420	19.000
	Concentración del interferente	1.088	18.513

Tabla C.20 Efecto de las diferentes variables sobre la cinética de la desorción de los iones

Se realizó también un análisis estadístico en cuanto a la cinética de desorción de los iones al medio (k), sin presencia de interferentes contra la cinética de desorción cuando hay presencia de cada uno de los interferentes por separado, con base en los resultados de las tablas C.17 y C.18. Esto se llevó a cabo, con la finalidad de determinar el efecto que cada interferente genera sobre la velocidad de desorción de los iones. Los resultados obtenidos, se muestran en la tabla C.21.

	Masa del material desinfectante	F	F critica	
Sin interferente vs. 104.9 mg/L proteína	10 mg ZAg	1.585	18.513	
	20 mg ZAg	1.233	18.513	
Sin interferente vs. 150 mg/L ácido	10 mg ZAg	195.08	18.513	
fúlvico	20 mg ZAg	27.476	18.513	
Sin interferente vs. mezcla de interferentes	10 mg ZAg	6.366	18.513	
	20 mg ZAg	0.094	18.513	

Tabla C.21 Efecto individual de los interferentes sobre la cinética de la desorción de los iones.

El análisis estadístico muestra, que el aumento de la masa de ZAg no genera efecto sobre la cinética de la desorción de los iones al medio acuoso, mientras que la variación en el tipo de microorganismo si lo provoca. Sin embargo, dicho efecto es menor al generado por el tipo de desinfectante al considerar la ZCu, como el factor de respuesta, indicando que la cinética del proceso de desorción de iones al medio acuoso dependerá en mayor medida, del tipo de ion metálico contenido en el material zeolítico (Ag⁺ o Cu²⁺).

La presencia de interferentes en el medio acuoso provoca un efecto significativo sobre la cinética de desorción de los iones, no importando si se usan 10 o 20 mg de ZAg, siendo mayor el efecto al provocado por el tipo de microorganismo presente en la solución. Estos resultados indican, que los interferentes interactúan con el material zeolítico afectando la cinética del proceso de desorción de los iones. El tipo de ion metálico presente en el material genera un efecto significativo sobre la cinética de la desorción de los iones, lo cual aunado a lo obtenido en el punto 3.9.3 indica que la desorción de iones metálicos de la red cristalina de la zeolita se lleva a cabo mediante un mecanismo de intercambio iónico, que dependerá de los iones presentes en la solución.

El efecto provocado por los interferentes sobre la cinética de la desorción de los iones se da en el orden: ácido fúlvico > MI > proteína, no importando la masa del desinfectante utilizado. Además, la reducción de la concentración de los compuestos interferentes afecta sobre la cinética de la desorción de los iones.

ANEXO D. PRODUCCIÓN CIENTÍFICA

Artículo publicado en la revista "Journal Environmental Management"

Título: "Comparison between silver- and copper-modified zeolite-rich tuffs as microbicide agents for *Escherichia coli* and *Candida albicans*"

Autores: L. G. Rossainz-Castro^{a,b}, I. De-La-Rosa-Gómez^a, M. T. Olguín^{b*}, D. Alcántara-Díaz^c

Instituciones: ^aLaboratorio de Investigación en Ingeniería Ambiental, Instituto Tecnológico de Toluca, Av. Tecnológico s/n. Ex. Rancho la Virgen, Metepec, México, C.P. 52140, México. ^bDepartamento de Química y ^cDepartamento de Biología, Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares. Carretera México-Toluca s/n, La Marquesa Ocoyoacac, México C.P. 52750, México.

Abstract: "Zeolite-rich tuff from the State of Chihuahua was modified with silver or copper ions (ZChAg and ZChCu) to evaluate its microbicidal effect against *Escherichia coli* (*E. coli*) and *Candida albicans* (*C. albicans*) suspended in an aqueous solution in order to compare the microbial disinfection kinetics between bacteria and yeast. The zeolite-rich tuff was treated with AgNO₃ or CuCl₂ solutions. The materials obtained were characterized using scanning electron microscopy (SEM), energy-dispersive X-ray spectroscopy (EDS), X-ray diffraction (XRD) and the textural properties were also determined by BET-analyses. The concentration of Ag and Cu was verified in the zeolitic materials using neutron activation analysis. The experimental data were adjusted to both Chick and Chik-Watson models to describe the kinetic behavior of the process. It was found that when the mass of ZChAg increased, the survival microorganisms notably decreased. The *E. coli* and *C. albicans* showed higher resistance in contact with ZChCu even when the mass of such material was 10–20 times higher than the mass of ZChAg. Chick and Chik-Watson constants showed that

the kinetics of the disinfection process depended on the desorption of the exchange ion that modified the structure of the zeolitic material, its concentration in aqueous medium, its oligodynamic properties, and each microorganism's characteristics (Gramnegative bacteria and yeast). The kinetic desorption of Ag and Cu from the corresponding modified-zeolite-rich tuffs was also considered in this work. In this case, the Higuchi and Korsmeyer-Peppas models were applied."

nial Management xxx (2016) 1-8





Research article

Comparison between silver- and copper-modified zeolite-rich tuffs as microbicide agents for Escherichia coli and Candida albicans

L.G. Rossainz-Castro ^{a, b}, I. De-La-Rosa-Gómez ^a, M.T. Olguín ^{b, *}, D. Alcántara-Díaz ^c

* Laboratorio de Investigación en Ingeniería Ambiental, Instituto Tecnológico de Toluca, Av. Tecnológico o/n, Br. Rancho la Virgen, Meitroc, Allafan, C.R. 52140 Media Depar Mestao Mestao Mestao n to de Quimico y, instituto Nacional de investigaciones Nucleares, Carretera Máxico-Toluca y/n, La Marqueta Ocayaacac, México C.R. 52750 ananio de Biología, instituio Nacional de Investigaciones Nucleanes, Carreirea México-Toluca e.h., La Marqueta Grayoacac, México C.P. 52250,

ARTICLEINFO

ABSTRACT

Artific history: Received 15 March 2016 Revived in revised form 8 September 2016 Accepted 10 September 2016 Available online xxx

Keywords: Disinilation Escherichia coli Condido oblicano er, natural- woll te Zeo lite-rich tuff from the State of Chihushua was modified with silver or copper ions (ZChAg and ZChCu) to evaluate its microbicidal effect against facherichia $coli (E, \alpha N)$ and Candida albiane (C albiane) is expended in an aqueous solution in order to compare the microbial disinfaction hencics between bacteria and yoast. The zeolite-rich tuff was treated with AgNO₂ or GuO₂ solutions. The materials ob tained were characterized using scaming electron microscopy (SEM), energy-dispensive X-ray spectroscopy (EDS), X-ray diffraction (ORD) and the toxtural properties were also determined by BET-analyses. The concentration of Ag and Ga was verified in the inolitic materials using neutron activa-tion analysis. The experimental data were adjusted to both Chek and Chik-Watson models to describe the kinetic behavior of the process, it was found that when the mass of ZChAg increased, the survival microorganisms notably decreased. The E coli and C of bicore showed higher resistance in contact with 2ChCu even when the mass of such material was 10–20 times higher than the mass of ZChAg. Chick and Chik-Watson constants showed that the kinetics of the disinfection process depended on the desorption of the exchange ion that modified the structure of the zeolitic material, its concentration in aqueous medium, its oligodynamic properties, and each microorganism's characteristics (Goem-negative bacteria and yeast). The kinetic desorption of Ag and Ga from the corresponding modified-atolita-rich taffs was also considered in this work. In this case, the Higuchi and Korsmoyer-Propas models were applied. © 2016 Elsevier Int. All rights mereved.

1. Introduction

Currently, the microbiological contamination of water is an important factor to be considered due to the ensuing health hazard (Schijven et al, 2016). Because of the variety and numbers of microorganisms present in water, it is not possible to fully analyze them. Therefore, microorganisms such as fecal and total collforms have been commonly used as contamination indicators due to their rapid replication and smal size (Drechsel and Keraita, 2014; Odonior and Ampolo, 2013). Other larger microorganisms (such as yeasts) that are more complex in their structure show stronger resistance to different disinfection agents (Burrola-Aguilar, 2004), and thus, it is important to consider them in the sanitary control of

* Corresponding author. E-mail address: Interna.olguin@inin.goh.mx (M.T. Olguin)

h tip ://dx.doi.org/10.1016/j.jenvman.2016.09.03 0301-4797/& 2016 Einevier Izd, All rights rese

water. Among yeast species, the most frequent and pathogenic from an odontological-medical point of view is C. allicans, which exhibits a lower decay rate in seawater compared with E coli. C. albicars can impact the population's health, causing effects that range from skin allergies to severe systemic infections in imm nodeficient patients. In the vegetative state, this yeast is slightly more resistant than bacteria to the action of certain antiseptics and cultures of this yeast in distilled water can survive for up to 2 years (Mayer et al., 2013; Negroni, 2009). Total coliform and fecal coliforms are resistant to com

used disinfectants, such as chlorine (Friedler et al., 2011). This makes it necessary to research new disinfectants that not only have a broad microbicidal effect but also reduce the generation of disinfection by-products to a minimum (Krishnani et al., 2012). Some inorganic compounds can satisfy these requirements; among them are metallic compounds that exhibit microbicidal properties

Peace cite this article in press as: Rossainz-Castro, L.G., et al., Comparison between silve r- and copper-modified zeolite-rich tuffs as microbicide gents for Escherichia coli and Candida albicare, journal of Environmental Management (2016), http://dx.doi.org/10.1016/j.jenvman.2016.00.034

Participación en ponencia en el "XXXVII Congreso: Nuevas Tecnologías y Tendencias En La Ingeniería Química" organizado por el AMIDIQ.

Título: "Efecto de un compuesto proteico sobre la capacidad bactericida de la clinoptilolita acondicionada con plata", ISBN: 978-607-95593-4-2.

Autores: Luis Gerardo Rossainz Castro^{a,b}, Isaías De la Rosa Gómez^a, María Teresa Olguín Gutiérrez^b

Instituciones: ^aLaboratorio de Investigación en Ingeniería Ambiental, Instituto Tecnológico de Toluca, Av. Tecnológico s/n. Ex. Rancho la Virgen, Metepec, México, C.P. 52140, México. kivodelarosa@yahoo.com; luis.rossainz@gmail.com. ^bDepartamento de Química, Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares. Carretera México-Toluca s/n, La Marquesa Ocoyoacac, México C.P. 52750, México. teresa.olguin@inin.gob.mx

Resumen: "En esta investigación se evaluó el efecto que tienen las proteínas totales del agua residual proveniente de una planta de tratamiento, sobre la capacidad bactericida de la clinoptilolita modificada con plata (ZChAg), utilizando *Escherichia coli* como microorganismo de prueba, en un sistema tipo lote. Los resultados revelan que, en presencia de material proteico, el tiempo requerido para llegar a un 100% de muerte celular, es mayor comparativamente con el proceso sin presencia de material proteico, aun cuando la cantidad de iones Ag⁺ desorbidos al medio se mantiene constante. Este comportamiento está relacionado con la capacidad de las proteínas para formar entidades de coordinación con los iones metálicos, por lo que se inhibe su efecto bactericida."