

DESINFECCIÓN Y PURIFICACIÓN DE AGUA MEDIANTE NANOPARTÍCULAS METÁLICAS Y MEMBRANAS COMPÓSITAS

- María Eugenia Noriega-Treviño • Claudia Cristina Quintero-González •
• Jesús María Guajardo-Pacheco • José Elpidio Morales-Sánchez •
• Martha Eugenia Compeán-Jasso •

Universidad Autónoma de San Luis Potosí, México

- Facundo Ruiz •

Centro de Investigación en Materiales Avanzados, México

Resumen

Se propone el uso de nanopartículas como una alternativa para la desinfección de aguas, por su efecto biocida y posteriormente su purificación mediante membranas compósitas incorporadas de materiales nanoparticulados para ser usadas en ósmosis inversa y nanofiltración. La nanotecnología apunta a soluciones vanguardistas para la remediación de problemas ambientales y muchos otros enfrentados por la humanidad (Martínez-Gutiérrez *et al.*, 2010). En este trabajo se presenta un estudio comparativo de la efectividad antibacterial de nanopartículas metálicas y de aguas de diferente composición química contra dos microorganismos: *E. coli* y *E. faecalis*, utilizando concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) y bactericidas (CMB) de acuerdo con la norma NCCLS-CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute), N7A7, 2006, 26(2), esto como resultado de una primera etapa del proyecto. Se sintetizaron cinco diferentes tipos de partículas metálicas y se caracterizaron mediante las técnicas de microscopía electrónica de transmisión (MET), dispersión dinámica de luz (DDL) y espectroscopía UV-visible. Se prepararon dos matrices de agua de diferente composición química con compuestos inorgánicos. De las partículas sintetizadas, las que tienen mejores resultados bactericidas son las nanopartículas de plata Ag A (14 nm), que presentan una CMI de 13.37 µg/ml para *E. coli* y 40.13 µg/ml para *E. faecalis*, y las nanopartículas de plata Ag E (3 nm), con una CMI 6.68 µg/ml para *E. coli* y 13.37 µg/ml para *E. faecalis*. Se concluye que la actividad antibacterial de las nanopartículas es mayor para bacterias Gram-Negativas, excepto para el cobre, y que entre menor tamaño tengan las nanopartículas, mayor es su actividad bactericida.

Palabras clave: nanopartículas, nanotecnología, aguas residuales, desinfección, purificación, membranas.

Introducción

La escasez cada vez mayor de las aguas dulces debido al crecimiento demográfico, a la urbanización y probablemente, a los cambios climáticos, ha dado lugar al interés por reutilizar las aguas residuales para diversos fines (Chávez *et al.*, 2008), y su demanda aumentará en la medida que decrezca su disponibilidad y se incremente la necesidad de agua de primer uso (Escalante *et al.*, 2003).

Las aguas residuales pueden tener un origen doméstico, es decir, son aguas generadas por las actividades cotidianas de las personas; un origen industrial, en el cual la cantidad y naturaleza de los vertidos es muy variada, dependiendo del tipo de industria, de la gestión del consumo de agua y del grado de tratamiento que los vertidos reciben antes de su descarga (la mayoría de las industrias producen descargas de desechos líquidos que tienen demandas bioquímicas de oxígeno (DBO) muy altas); por último pueden

tener un origen subterráneo y meteorológico, donde la infiltración se produce cuando se sitúan conductos de alcantarillado por debajo del nivel freático o cuando el agua de lluvia se filtra hasta el nivel de la tubería. La cantidad de agua de lluvia que habrá que drenar dependerá de la pluviosidad, así como de las escorrentías o rendimiento de la cuenca de drenaje. Por otro lado, el impacto de las aguas residuales no tratadas en las fuentes de agua comunitarias ha originado diversas problemáticas en cuanto a salud y seguridad, por su contenido de microorganismos patógenos (Chávez *et al.*, 2008; Lind *et al.*, 2009). Se puede decir que los desechos industriales constituyen un gran problema ecológico y los desechos domésticos un gran problema de salud pública, aunque ambos coadyuvan en el deterioro general de la calidad del agua.

Los organismos potencialmente problemáticos en el agua residual incluyen las bacterias entéricas, los virus y los quistes protozoarios.

Las bacterias o grupos de bacterias indicadoras de contaminación fecal son utilizadas para valorar la calidad sanitaria de alimentos, aguas destinadas al consumo humano, agrícola, e industrial, así como para verificar la calidad del agua potable y la eficiencia en su tratamiento. Aunque no existe un indicador universal, dentro del rango de los indicadores se encuentra el grupo de bacterias coliformes (*E. coli*, colifagos, *Bifidobacterium sp.*, *Clostridium perfringens*) y el grupo de estreptococos fecales (*S. faecalis*, *S. faecium*, *S. durans*, *S. Boris* y *S. equinus*) (Bitton, 2005; Chávez *et al.*, 2008; Suárez, 2002; OMS, 1998).

Como respuesta a estas preocupaciones, la desinfección se ha convertido en una de las prácticas más seguras y económicas para la desactivación o destrucción de los organismos patógenos en el agua. Para que la desinfección sea efectiva, el agua residual debe ser tratada adecuadamente (Escalante *et al.*, 2003).

Una alternativa para la desinfección de aguas residuales tratadas es el uso de nanopartículas metálicas por su efecto bactericida.

En los últimos años se han realizado muchas investigaciones en el campo de la nanotecnología, dado que sus propiedades están íntimamente ligadas con su tamaño y morfología. Las nanopartículas se caracterizan por ser altamente reactivas y por poseer una gran área superficial.

La nanotecnología apunta soluciones vanguardistas a problemas ambientales y muchos otros enfrentados por la humanidad. Promete beneficios de todo tipo, por mencionar algunos, aplicaciones médicas, soluciones a problemas ambientales como contaminación, tratamiento de aguas, procesamiento de alimentos, alimentos transgénicos, cambios térmicos moleculares, informática, etcétera (Martínez-Gutiérrez *et al.*, 2010; Schierow, 2009).

Dos de los procesos más utilizados en la purificación de agua son la ósmosis inversa y la nanofiltración, en los cuales se usan membranas capaces de producir agua potable de alta calidad; son procesos de elevado costo por la necesidad de limpieza o reemplazo frecuente de las membranas.

Es necesario que las membranas presenten las siguientes características: alta permeabilidad, selectividad de contaminantes y mayor resistencia a la adherencia de microorganismos en la superficie; a la fecha se sigue trabajando en la obtención de membranas con estas propiedades (Hoek *et al.*, 2003; Lind *et al.*, 2009; Jeong *et al.*, 2007).

Por otro lado, se están desarrollando membranas de matriz polimérica a las cuales se les incorporan zeolitas (Jeong *et al.*, 2007; Lind *et al.*, 2009) debido a que éstas presentan óptimas características de sorción y ello permite una mayor selectividad de iones. La suciedad de la membrana no sólo se debe a la materia microbiológica (Herzberg *et al.*, 2010), sino también a coloides, sales inorgánicas que precipitan y a materia orgánica (Kang *et al.*, 2006).

Por tanto, se continúan realizando trabajos de investigación sobre la velocidad de adhesión de la biopelícula sobre la superficie de la membrana y sus propiedades, tales como rugosidad y permeabilidad (Kang *et al.*, 2006).

La ventaja de usar membranas compósitas es porque mejora sus propiedades, tales como estabilidad térmica, resistencia química y mecánica, y la capacidad de separación (Jeong et al., 2007).

La incorporación de materiales nanoparticulados que presentan una actividad bactericida y fungicida ayuda a evitar la formación de la biopelícula provocada por microorganismos patógenos presentes en el agua, y de esta manera reduce el costo en el proceso de ósmosis inversa y nanofiltración.

El objetivo de esta investigación es el desarrollo de nuevas técnicas para la desinfección y purificación de aguas mediante la aplicación de nanomateriales; para ello es necesario, en primer lugar, realizar un estudio comparativo de la efectividad antimicrobiana de nanopartículas metálicas de distintos tamaños, en aguas de diferente composición química; en segundo lugar, desarrollar membranas con la incorporación de materiales nanoparticulados que presenten características específicas, como la capacidad de inhibir o evitar la formación de una biopelícula sobre la superficie de la membrana; y en tercer lugar, proponer el uso de nanopartículas metálicas como desinfectantes de aguas residuales tratadas para su reutilización, y membranas compósitas para filtración y purificación de agua. Partimos de la hipótesis de que las nanopartículas pueden ser utilizadas para la desinfección de aguas residuales y que las membranas compósitas pueden inhibir el crecimiento de microorganismos sobre su superficie. En este trabajo se presentan resultados de una primera etapa de investigación.

Se considera de importancia definir algunos conceptos de los cuales se hablará a lo largo del escrito, con el objeto de una mejor comprensión del mismo:

- *Nanotecnología*: es el estudio, diseño, creación, síntesis, manipulación y aplicación de materiales, aparatos y sistemas funcionales a través del control de la materia a nanoescala, y la explotación de fenómenos y propiedades de la materia a nanoescala.
- *Nanopartícula*: es una partícula con una dimensión menor a 100 nm.
- *Nanocompósitos*: son materiales compuestos por dos o más componentes, en los cuales, al que se encuentra en mayor porcentaje, se le llama matriz y al de menor porcentaje, carga. La carga debe tener tamaño nanométrico.
- *Desinfección de agua*: es la eliminación de microorganismos patógenos que no han sido exterminados en fases iniciales del tratamiento de agua.
- *Purificación de agua*: dependiendo del origen del agua a tratar, serán los procesos para purificación de agua a considerar. Algunos de ellos pueden ser sedimentación, filtración, desalinización, ósmosis inversa, etcétera.
- *Membranas*: son las barreras delgadas entre dos fases, a través de las cuales, bajo la acción de una fuerza (normalmente una diferencia de presión o de concentración) tiene lugar un transporte (Benito et al., 2004).
- *Concentración mínima inhibitoria (CMI)*: expresa la mínima cantidad de un agente bactericida necesario para impedir el crecimiento bacteriano.
- *Concentración mínima bactericida (CMB)*: es la menor cantidad de agente bactericida necesaria para matar una porción determinada de inóculo (casi siempre de 99.9%).
- *Efecto bacteriostático*: es aquel que aunque no produce la muerte de una bacteria, impide su reproducción.
- *Efecto bactericida*: es aquel que produce la muerte de una bacteria.

Metodología

Síntesis de partículas

Se sintetizaron cuatro tipos de nanopartículas y un nanocompósito de Ag-TiO₂.

- *Nanopartículas de plata de tamaño 14 nm*, a las cuales se les denominó como Ag A. Se disolvieron 0.0169 g de nitrato de plata (AgNO_3) en 100 ml de agua desionizada; se añadieron 0.01 g de ácido gálico previamente disueltos en 10 ml de agua desionizada y se mantuvo en agitación magnética; inmediatamente después se ajustó el pH de la solución a 10 mediante la adición de una solución de hidróxido de amonio (NH_4OH) (Martínez-Castañón *et al.*, 2008). A partir de esta síntesis se obtiene concentración de plata de 107 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (0.001 M).
- *Nanopartículas de plata de tamaño 3.5 nm*, a las cuales se les denominó como Ag E. Se disolvieron 0.0169 g de nitrato de plata (AgNO_3) en 100 ml de agua desionizada; se añadió 0.01 g de ácido gálico previamente disueltos en 10 ml de agua desionizada y se sometió a agitación magnética; inmediatamente después se ajustó el pH de la solución a 11 mediante la adición de una solución de hidróxido de sodio (NaOH) (Martínez-Castañón *et al.*, 2008). A partir de esta síntesis se obtiene concentración de plata de 107 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (0.001 M).
- *Nanocompósito Ag-TiO₂*. Se mezclaron 0.2 g de dióxido de titanio (TiO_2) en 100 ml de agua desionizada; se le añadieron 0.0169 g de nitrato de plata (AgNO_3) disuelto en un poco de agua desionizada; después se añadieron 0.01 g de borohidruro de sodio (NaBH_4) previamente disueltos en 10 ml de agua desionizada y se ajustó el pH a 9-10 mediante la adición de una solución de hidróxido de amonio (NH_4OH) (Niño-Martínez *et al.*, 2008). Mediante esta síntesis se obtiene concentración de dióxido de titanio de 2 000 $\mu\text{g}/\text{ml}$.
- *Nanopartículas de óxido de zinc*. Se mezclaron soluciones con cantidades estequiométricas de cloruro de zinc (ZnCl_2) e hidróxido de sodio (NaOH). Por medio de este procedimiento se obtiene una concentración de ZnO de 14.08 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (0.001 M).
- *Nanopartículas de cobre*. Se mezclaron cantidades estequiométricas de sulfato de

cobre (II) (CuSO_4) y borohidruro de sodio (NaBH_4). Por esta forma de proceder se obtiene una concentración de cobre de 65 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (0.001 M).

En el cuadro 1 se presenta de manera sintetizada la preparación de las nanopartículas metálicas y del nanocompósito Ag-TiO₂.

Caracterización

Las nanopartículas de plata, cobre y el nanocompósito Ag-TiO₂ fueron caracterizados mediante las siguientes técnicas: espectroscopía ultravioleta-visible (UV-vis), dispersión dinámica de luz (DDL) y por microscopía electrónica de transmisión (MET). Las nanopartículas de óxido de zinc fueron caracterizadas únicamente por las técnicas MET y DDL.

Preparación de matrices de agua

Se prepararon dos matrices de agua: una con una sal inorgánica, a la cual se le llamó A1, y otra con varios compuestos inorgánicos, simulando agua muy dura, a la cual se le llamó A2.

Matriz de agua A1

Se formuló con cloruro de sodio y agua desionizada. La concentración de NaCl fue de 0.02 M.

Matriz de agua A2

Se preparó con cloruro de magnesio (MgCl_2), cloruro de sodio (NaCl), cloruro de potasio (KCl), cloruro de calcio (CaCl_2), bicarbonato de sodio (NaHCO_3), nitrato de sodio (NaNO_3), sulfato de sodio (Na_2SO_4), sulfato de amonio ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$) y agua desionizada.

El cuadro 2 presenta la formulación de las matrices de agua antes mencionadas.

Mediciones directas en las matrices de agua

Se efectuaron las siguientes mediciones directas en las matrices de agua: conductividad

Cuadro 1. Síntesis de nanopartículas.

| Ag A | Ag E | Ag-TiO ₂ | ZnO | Cu |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------|
| [Ag] = 0.001M = 107 µg/ml | [Ag] = 0.001M = 107 µg/ml | [TiO ₂] = 2 000 µg/ml | [ZnO] = 0.001M = 814.08 µg/ml | [Cu] = 0.001M = 65 µg/ml |
| 0.0169g AgNO ₃ + 100 ml H ₂ O 0.01 g ac. gálico + 10 ml de agua pH (NH ₄ OH) = 10 | 0.0169g AgNO ₃ +100 ml H ₂ O 0.01 g ac. gálico + 10 ml H ₂ O pH (NaOH) = 11 | 0.2 g TiO ₂ + 100 ml H ₂ O 0.0169 g AgNO ₃ 0.01 g NaBH ₄ + 10 ml H ₂ O NH ₄ OH (pH = 9-10) | Cantidades estequiométricas de ZnCL ₂ y NaOH | Cantidades estequiométricas de CuSO ₄ y NaHB ₄ |

(Cond.), sólidos disueltos totales (SDT), temperatura (T), potencial hidrógeno (pH) y oxígeno disuelto (OD).

Prueba bactericida

Se utilizó el método de microdilución en placa NCCLS-CLSI N7 A7 Vol. 26 No. 2 (2006) para obtener la concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima bactericida (CMB) de las nanopartículas metálicas del nanocompósito Ag-TiO₂ y de las matrices de agua A1 y A2.

Se utilizaron dos cepas bacterianas: una Gram-Negativa *E. coli* (ATCC 25922) y una Gram-Positiva *E. faecalis* (ATCC 29212). La CMI se determinó en placas de microdilución de 96 pocillos; las bacterias, a una concentración de 10⁵ UFC/ml, se expusieron a una serie de diluciones de las partículas con caldo Mueller-Hinton, medio de cultivo bacteriano. Los puntos de corte se determinaron cuando no se observó turbidez en el pocillo, después de incubar las bacterias 24 horas a 37 °C. La prueba se realizó por triplicado. La CMB se determinó cuando no se observó crecimiento bacteriano posterior a incubar 24 horas a 37 °C la siembra en agar en placa del pocillo punto de corte, dos pocillos anteriores y dos pocillos posteriores a éste.

Cuadro 2. Formulación de matrices de agua.

| Matriz de agua A1 | Matriz de agua A2 |
|------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| NaCl 1.38 g H ₂ O 11 | MgCl ₂ 0.094 g NaCl 0.0174 g KCl 0.035 g CaCl ₂ 0.2026 g NaHCO ₃ 0.0882 g NaNO ₃ 0.0719 g Na ₂ SO ₄ 0.5006 g (NH ₄) ₂ SO ₄ 0.076 g H ₂ O 11 |

Métodos por desarrollar en las siguientes etapas del proyecto

Análisis de resultados

La prueba de la hipótesis de investigación se efectuará utilizando *Anova* (análisis de varianza) con un nivel de significación de 0.05 (95% de confiabilidad); para contrastes posteriores al *Anova* se utilizará el Método de Tukey.

Cinética del proceso de desinfección

Como referencia para conocer el comportamiento del proceso de desinfección se utilizará la Ley de Chick.

Elaboración de membranas e incorporación de nanopartículas

Se sintetizará la membrana de poliamida, posteriormente se le agregarán las nanopartículas que presenten actividad antibacterial.

Evaluación de la actividad antibacteriana y fungicida de las membranas

La evaluación se llevará a cabo de acuerdo con las normas ASTM G 21-96, ASTM E 2149-01 y método de observación directa (Wang *et al.*, 2005).

Resultados y discusión

Síntesis de nanopartículas

Nanopartículas de plata

Para este tipo de síntesis, reducción química en medio acuoso, se usó el nitrato de plata como precursor y el ácido gálico fue utilizado como agente reductor y estabilizador. La reacción de oxidación de los grupos fenol en el ácido gálico es la responsable de la reducción de los iones plata (Wang *et al.*, 2007). La reacción fue llevada a cabo a un pH de 10 para Ag de 14 nm, y a un pH de 11 para Ag de 3 nm, a estos valores de pH la reacción es muy rápida y permite obtener partículas de forma esférica (Martínez-Castañón *et al.*, 2008).

Nanocompósito Ag-TiO₂

En esta síntesis, de tipo reducción química en medio acuoso, se utilizó como precursor nitrato de plata y el agente reductor fue el borohidruro de sodio (NaBH₄) (Niño-Martínez *et al.*, 2008). Los iones plata (Ag⁺) fueron depositados sobre la superficie del dióxido de titanio mediante adsorción catiónica (Fu *et al.*, 2005). En este tipo de nanocompósito, la matriz es el dióxido de titanio y la carga es la plata.

Nanopartículas de óxido de zinc

En esta síntesis se utilizaron como precursores cloruro de zinc (ZnCl₂) e hidróxido de sodio (NaOH), al igual que dextrina como estabilizante.

Nanopartículas de cobre

La síntesis de nanopartículas de cobre se realizó mediante el método de precipitación; como precursores se utilizaron sulfato de cobre (II) (CuSO₄) y borohidruro de sodio (NaBH₄).

Caracterización

Microscopía electrónica de transmisión

La figura 1a y la figura 2a muestran imágenes de MET para las nanopartículas de plata, en las cuales se puede observar que presentan forma esférica o pseudoesférica, y que la plata Ag A presenta un tamaño de partícula de 14 nm y la plata Ag E presenta un tamaño promedio de partícula de 3 nm. Martínez-Castañón *et al.*, en el año 2008, reportaron que la forma de las nanopartículas mediante la síntesis que desarrollamos es esférica, lo que es consistente con nuestros resultados.

La figura 3a muestra nanopartículas de plata de forma esférica y de un tamaño promedio de 12 nm, adheridas a las partículas de dióxido de titanio de tamaño promedio de 200-300 nm, resultados consistentes con los que reportan Niño-Martínez *et al.* (2008).

La figura 4a indica que el tamaño promedio de las nanopartículas de cobre es de 20 nm y que presentan forma pseudoesférica; también se observa cierto grado de aglomeración de las partículas.

La figura 5a revela que las nanopartículas de óxido de zinc presentan forma pseudoesféricas y tienen un tamaño promedio de 30 nm.

Espectroscopía UV-visible

En la figura 1b se puede apreciar que las nanopartículas de plata Ag A, de tamaño 14

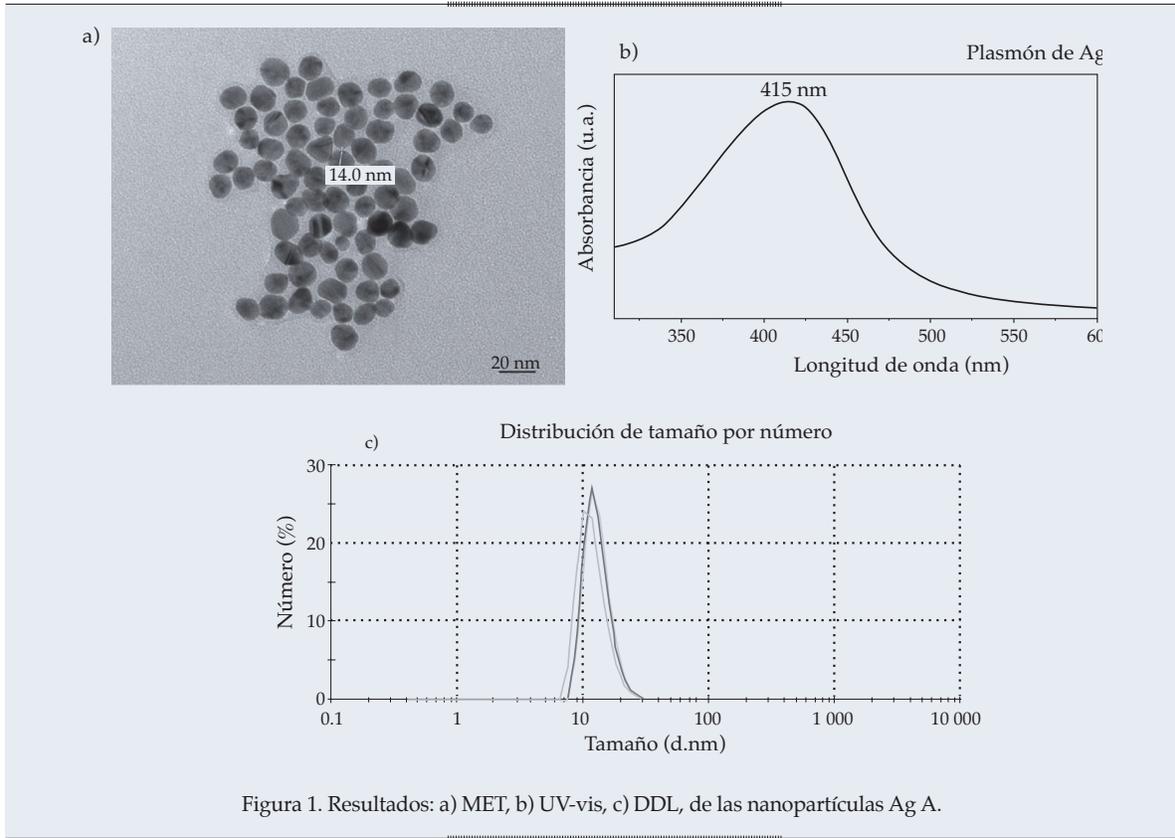


Figura 1. Resultados: a) MET, b) UV-vis, c) DDL, de las nanopartículas Ag A.

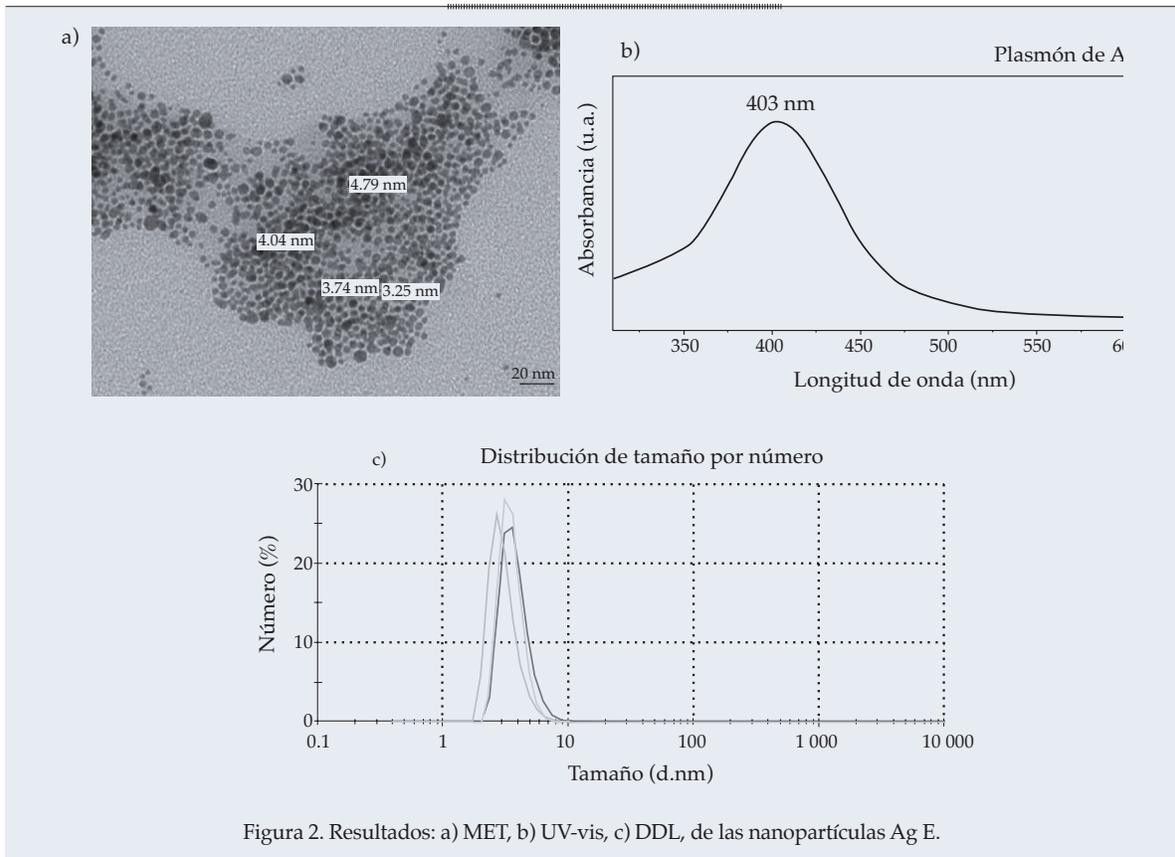


Figura 2. Resultados: a) MET, b) UV-vis, c) DDL, de las nanopartículas Ag E.

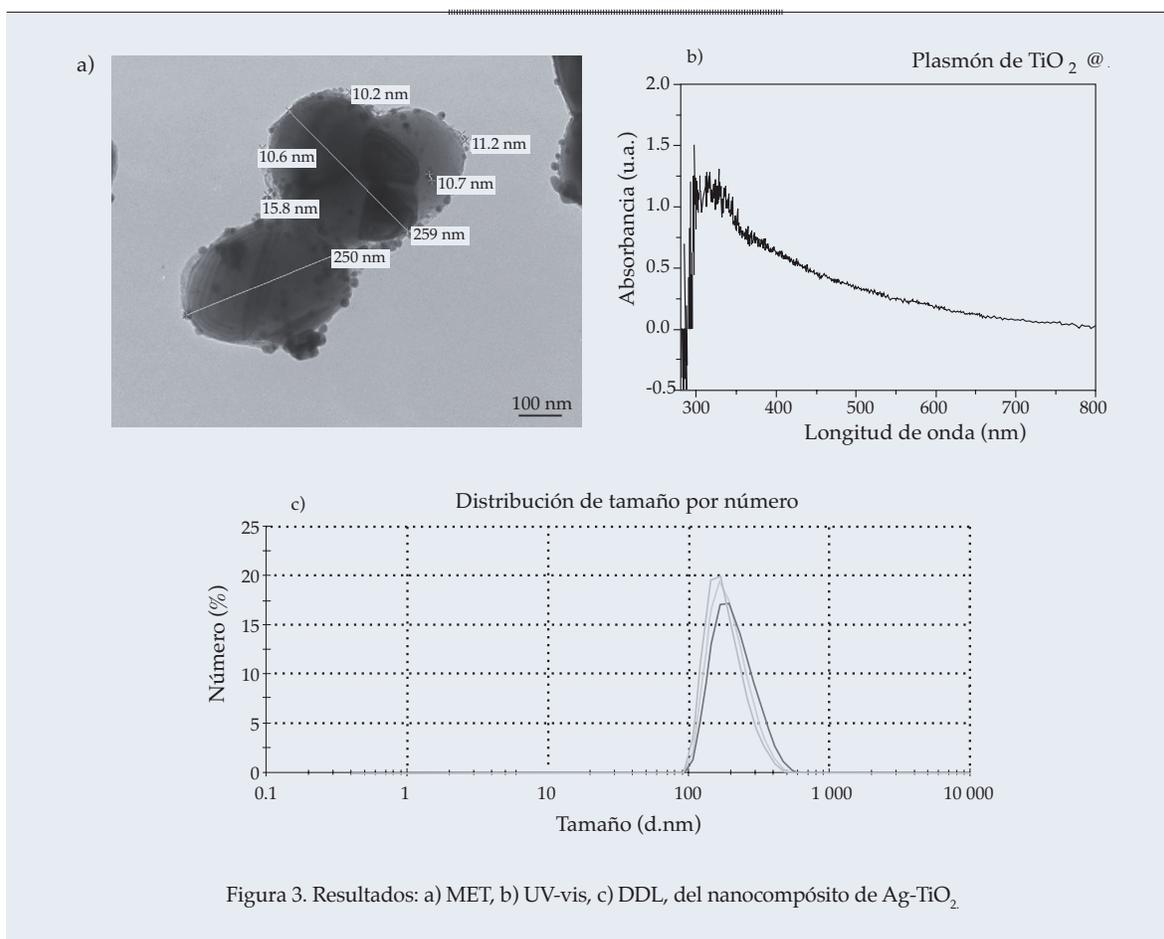


Figura 3. Resultados: a) MET, b) UV-vis, c) DDL, del nanocompósito de Ag-TiO₂

nm, presentan una banda de absorción en 415 nm. La figura 2b revela que las nanopartículas de plata Ag E de tamaño 3 nm presentan una banda de absorción en 403 nm. Se ha reportado que las nanopartículas de plata de forma esférica presentan una banda de absorción entre 400 y 450 nm (Pal *et al.*, 2007; Martínez-Castañón *et al.*, 2008), lo que es congruente con nuestros resultados. El nanocompósito Ag-TiO₂ presenta una débil banda de absorción en 400 nm, la cual corresponde a la presencia de Ag (figura 3b). Las nanopartículas de cobre (figura 4b) presentan una banda de absorción en 530 nm, la cual corresponde a la presencia de Cu (Yeshchenko *et al.*, 2007).

Dispersión dinámica de luz

El análisis de dispersión dinámica de luz corrobora el tamaño de partícula medido por

MET para la plata Ag A 14 nm (figura 1c), para la plata Ag E 3 nm (figura 2c) y para el óxido de zinc de 30 nm (figura 5b). Sin embargo, para el cobre, este análisis presenta un tamaño de 60 nm (figura 4c), ya que las partículas están un poco aglomeradas, lo que puede observarse en la imagen de MET (figura 4a). El nanocompósito de dióxido de titanio con plata presenta un tamaño de 200-300 nm (figura 3c), esto se debe a que el aparato mide el tamaño del dióxido de titanio y la plata adherida a éste (Niño-Martínez *et al.*, 2008).

Mediciones directas en matrices de agua

El cuadro 3 muestra las mediciones directas realizadas a las matrices de agua A1 y A2; ambas matrices fueron formuladas con sales inorgánicas; presentan alta conductividad, 2 639 y 1 577 μs , respectivamente, esto por los

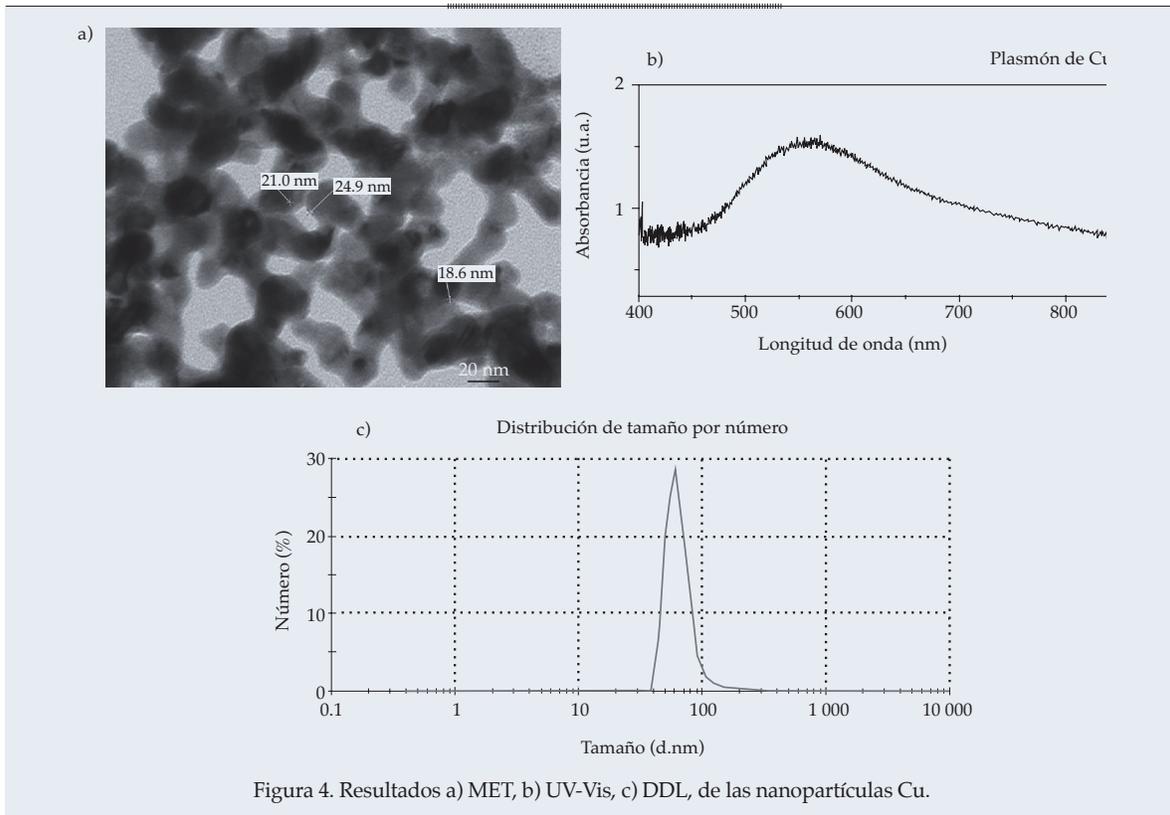


Figura 4. Resultados a) MET, b) UV-Vis, c) DDL, de las nanopartículas Cu.

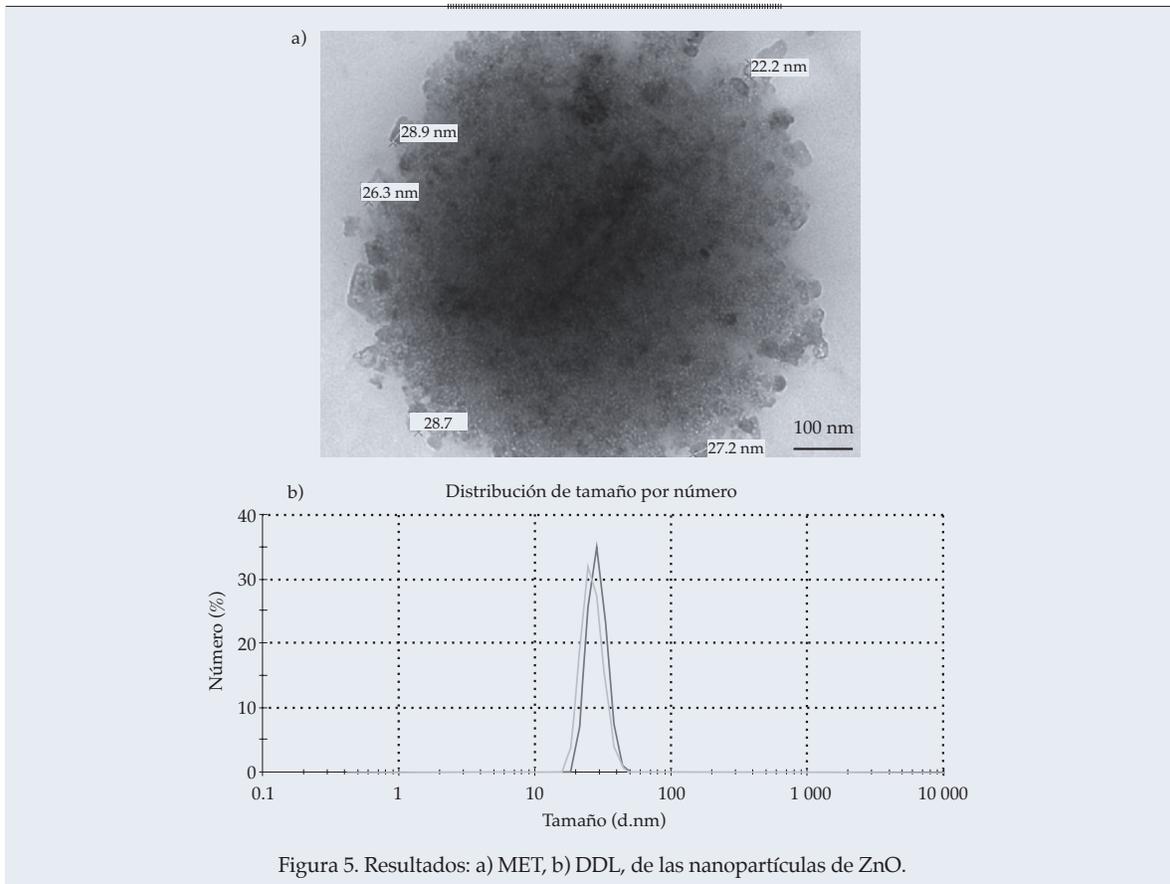


Figura 5. Resultados: a) MET, b) DDL, de las nanopartículas de ZnO.

iones disueltos en la misma. Se puede observar que la matriz de agua A2 corresponde a un agua muy dura, por tener elevada cantidad de sales de calcio, magnesio y sulfatos, además de otros compuestos inorgánicos, y por tener un contenido de 1 945 ppm de sólidos disueltos totales (SDT), se considera un agua muy dura aquella que tiene un contenido de sólidos disueltos totales mayor de 420 ppm. El pH de ambas matrices es casi neutro, 7.7 para la matriz de agua A1 y 7.4 para la matriz de agua A2, condición necesaria para no tener interferencia con los resultados de las pruebas bactericidas.

Prueba bactericida

Se obtuvieron valores para concentración mínima inhibitoria (CMI) y concentración mínima bactericida (CMB) de las nanopartículas metálicas y el nanocompósito Ag-TiO₂ sintetizados, así como de las matrices de agua formuladas, contra dos microorganismos comúnmente encontrados en aguas residuales: *E. coli* y *E. faecalis*.

El cuadro 4 presenta resultados de las pruebas bactericidas realizadas a las nanopartículas de plata de dos tamaños y el nanocompósito de plata Ag-TiO₂. Se puede observar que para todas las muestras la concentración mínima inhibitoria es menor para la bacteria *E. coli*

(Gram-negativa) que para la bacteria *E. faecalis* (Gram-positiva), esto puede explicarse por la diferencia en la composición de la pared celular que tienen las bacterias. En las bacterias Gram-positivas, la pared celular contiene una gruesa capa de peptoglicano; en las bacterias Gram-negativas, la pared celular tiene una capa menos gruesa de peptoglicano, lo que las hace más débiles (Thiel et al., 2007). También puede observarse que las nanopartículas de menor tamaño (Ag E) presentan menor CMI y CMB que las nanopartículas de mayor tamaño (Ag A) (Martínez-Castañón et al., 2008). El mecanismo por el cual las nanopartículas de plata penetran al interior de la bacteria no está definido en su totalidad, se sabe que la membrana de la bacteria posee proteínas que contienen azufre y fósforo, y que podrían ser sitios de preferencia de las nanopartículas de plata (Espinoza, 2007; Morones et al., 2005). El nanocompósito Ag-TiO₂ presenta únicamente efecto bacteriostático contra las bacterias probadas, pero no presenta efecto bactericida a la concentración utilizada.

Las nanopartículas de plata han recibido una considerable atención debido a sus atractivas propiedades fisicoquímicas y a su fuerte toxicidad para un amplio rango de microorganismos (Jong-Seok, 2007; Raffit et al., 2008; Smetana et al., 2008; Shrivastava et al., 2007), a diferencia de su forma iónica, por

Cuadro 3. Mediciones directas en matrices de agua.

| Matriz de agua | Cond. μs | SDT ppm | T $^{\circ}\text{C}$ | pH | OD mg/l |
|----------------|---------------------|---------|----------------------|-----|---------|
| A1 | 2 639 | 1 945 | 16.6 | 7.7 | 9.01 |
| A2 | 1 577 | 1 122 | 16.5 | 7.4 | 9.25 |

Cuadro 4. Resultados de pruebas bactericidas de las nanopartículas de plata y del nanocompósito Ag-TiO₂.

| Bacteria | | Ag E ($\mu\text{g/ml}$) | | Ag A ($\mu\text{g/ml}$) | | Ag-TiO ₂ ($\mu\text{g TiO}_2/\text{ml}$) | |
|--------------------|---------------|---------------------------|-------|---------------------------|-------|-------------------------------------------------------|---------|
| | | CMI | CMB | CMI | CMB | CMI | CMB |
| <i>E. coli</i> | Gram-negativa | 6.68 | 6.68 | 13.37 | 13.37 | 500 | > 2 000 |
| <i>E. faecalis</i> | Gram-positiva | 13.37 | 13.37 | 40.13 | 40.13 | 1 000 | > 2 000 |

lo que se espera sean una gran promesa como nuevos agentes antimicrobianos y antivirales (Espinoza, 2007; Martínez-Castañón et al., 2008; Niño-Martínez et al., 2008).

Se ha comprobado la actividad antimicrobiana de las nanopartículas de cobre (Cioffi et al., 2005; Kelechi et al., 2008; Omae, 2003; Trapalis et al., 2003), sin embargo nosotros encontramos que la bacteria *E. coli* es resistente al efecto de las nanopartículas de cobre a la concentración utilizada. También se ha comprobado que las nanopartículas de óxido de zinc presentan efecto bactericida a pH neutro y sin presencia de luz, y que también presentan toxicidad contra células cancerígenas humanas (Brayner et al., 2006; Huang et al., 2008; Nair et al., 2009; Ohira et al., 2008; Yamamoto et al., 2004; Zhang et al., 2007). La prueba bactericida que realizamos en esta investigación se lleva a cabo en pH neutro y en ausencia de luz, sin embargo en las concentraciones utilizadas en este trabajo, el óxido de zinc no presenta buen efecto bactericida. Estos resultados se pueden ver en forma simplificada en el cuadro 5.

Las matrices de agua A1 y A2 no presentan efecto bacteriostático ni bactericida contra las bacterias implicadas (cuadro 6).

Conclusiones

Las conclusiones que se pueden obtener de esta primera etapa del proyecto son las siguientes:

- Se sintetizaron nanopartículas de plata de diferentes tamaños (3 y 14 nm) mediante el método de reducción química, utilizando ácido gálico como agente reductor, las cuales fueron caracterizadas por las técnicas MET, UV-vis y DDL; se analizó la actividad antibacterial de las nanopartículas y se encontró que dicha actividad es mayor contra la bacteria Gram-negativa *E. coli* que contra la bacteria Gram-positiva *E. faecalis*. También se encontró que a menor tamaño de las nanopartículas es mayor el efecto antibacterial. Es decir, a menor tamaño de partícula se obtienen menores concentraciones mínimas inhibitorias y bactericidas.
- Se sintetizó un nanocompósito de dióxido de titanio con plata (Ag-TiO₂) por el método de reducción química, el cual fue caracterizado por las técnicas MET, DDL y UV-vis, y se demostró que las nanopartículas adheridas al dióxido de titanio son de plata elemental y que dicho compuesto presenta efecto bacteriostático, pero no efecto bactericida contra las bacterias implicadas
- Se sintetizaron nanopartículas de cobre por el método de precipitación, las cuales fueron caracterizadas mediante las técnicas MET, UV-vis y DDL, y se mostró que tienen actividad antibacterial contra la bacteria Gram-positiva *E. faecalis*.

Cuadro 5. Resultados de pruebas bactericidas de nanopartículas de cobre y óxido de zinc.

| Bacteria | | Cu (µg/ml) | | ZnO (µg/ml) | |
|--------------------|---------------|------------|------|-------------|---------|
| | | CMI | CMB | CMI | CMB |
| <i>E. coli</i> | Gram-negativa | > 65 | > 65 | 101.76 | 407.04 |
| <i>E. faecalis</i> | Gram-positiva | 4.06 | 4.06 | > 814.1 | > 814.1 |

Cuadro 6. Resultados de pruebas bactericidas de matrices de agua.

| Bacteria | | A1 | | A2 | |
|--------------------|---------------|---------|---------|-----------------------|-----------------------|
| | | CMI (M) | CMB (M) | CMI (M) | CMB (M) |
| <i>E. coli</i> | Gram-negativa | > 0.02 | > 0.02 | > Concentración usada | > Concentración usada |
| <i>E. faecalis</i> | Gram-positiva | > 0.02 | > 0.02 | > Concentración usada | > Concentración usada |

- Se sintetizaron nanopartículas de óxido de zinc, las cuales fueron caracterizadas mediante las técnicas MET y DDL; se mostró que en las concentraciones utilizadas, el óxido de zinc no es un buen bactericida.
- Las matrices de agua formuladas A1 y A2 no presentan actividad bacteriostática ni bactericida contra las bacterias tratadas.
- Se considera que las partículas que tienen un mayor efecto bacteriostático y bactericida son las nanopartículas Ag E de tamaño 3 nm y Ag A de tamaño 14 nm. Por tanto, serán éstas las que se incorporarán a las membranas compósitas en una etapa posterior al proyecto de investigación.

Agradecimientos

Para el desarrollo de esta primera etapa del proyecto de investigación se contó con la colaboración, asesoría y apoyo de la Q.F.B. Juana Tovar Oviedo del Laboratorio de Microbiología, Pruebas de Concentración Mínima Inhibitoria y Bactericida, Facultad de Ciencias Químicas de la UASLP. De la M.C. Claudia Guadalupe Elías Alfaro, por las pruebas de caracterización de partículas mediante MET, Instituto de Metalurgia de la UASLP. Del M.C. Guillermo Acosta González, responsable operativo Vía Húmeda-Proceso Físicoquímico del Centro de Investigación en Materiales Avanzados (CIMAV), Unidad Monterrey.

Recibido: 14/12/10
Aprobado: 03/10/11

Referencias

- BENITO, J.M., CONESA, A. y RODRIGUEZ, M.A. Membranas cerámicas. Tipos, métodos de obtención y caracterización. *Bol. Soc. Esp. Ceram. V.* Vol. 43, núm. 5, 2004, pp. 829-842.
- BITTON, G. *Wastewater microbiology*. Tercera edición. New York: John Wiley & Sons, Inc, 2005.
- BRAYNER, R., FERRARI-LIYOU, R., BRIVOIS, N., DJEDIAT, S., BENEDETTI, M.F., and FIÉVET, F. Toxicological impact studies based on *Escherichia coli* bacteria in ultrafine ZnO nanoparticles colloidal medium. *Nano Letters*. Vol. 6, No. 4, 2006, pp. 866-870.
- CHÁVEZ, A., JIMÉNEZ, B. y MAYA, C. Evaluación del la calidad microbiológica del agua de riego a través del tamaño de partícula. *Ingeniería Hidráulica en México*. Vol. XXIII, núm. 4, octubre-diciembre de 2008, pp. 91-101.
- CIOFFI, N., TORSI, L., DITARANTO, N., TANTILLO, G., GHIBELLI, L., SABBATINI, L., BLEVE-ZACHEO, T., D'ALESSIO, M., ZAMBONIN, P.G., and TRAVERSA, E. Copper nanoparticle/polymer composites with antifungal and bacteriostatic properties. *Chem. Mater.* Vol. 17, No. 21, 2005, pp. 5255-5262.
- ESCALANTE, V., CARDOSO, L., RAMIREZ, E., MOELLER, G., MANTILLA, G., MONTECILLOS, J., SERVIN, C., and VILLAVICENCIO, F. El reuso del agua residual tratada en México. *Seminario Internacional sobre Métodos Naturales para el Tratamiento de Aguas Residuales*. Universidad del Valle/Instituto Cinara, 2003, pp. 230-236.
- ESPIÑOZA, J. Propiedades físicas y químicas de partículas metálicas de tamaño nanométrico. Nanopartículas de plata. *Diseño de Materiales Poliméricos Avanzados*. Vol. 6, 2007, pp. 23-27.
- FU, G., VARY, P., and LIN, C. Anatase TiO₂ nanocomposites for antimicrobial coatings. *J. Phys Chem.* Vol. 109, 2005, pp. 8889-8898.
- HERZBERG, M., BERRY, D., and RASKIN, L. Impact of microfiltration treatment of secondary wastewater effluent on biofouling of reverse osmosis membrane. *Water Research*. Vol. 44, No. 1, 2010, pp. 167-176.
- HOEK, E.M.V., BHATTACHARJEE, S., and ELIMELECH, M. Effect of membrane surface roughness on colloid-membrane DLVO interactions. *Langmuir*. Vol. 19, No. 11, 2003, pp. 4836-4847.
- HUANG, Z., ZHENG, X., YAN, D., YIN, G., LIAO, X., KANG, Y., HUANG, D., and HAO, B. Toxicological effect of ZnO nanoparticles based on bacteria. *Langmuir*. Vol. 24, No. 8, 2008, pp. 4140-4144.
- JEONG, B.H., HOEK, E.M.V., YAN, Y., SUBRAMANI, A., HUANG, X., HURWITZ, G., GHOSH, A. K., and HAWOR, A. Interfacial polymerization of thin film nanocomposites: a new concept for reverse osmosis membranas. *Journal of Membrane Science*. Vol. 294, No. 1-2, 2007, pp. 1-7.
- JONG-SEOK, K. Antibacterial activity of Ag⁺ ion-containing silver nanoparticles prepared using the alcohol reduction method. *J. Ind. Eng. Chem.* Vol. 13, No. 4, 2007, pp. 718-722.
- KANG, S., HOEK, E.M.V., CHOI, H., and SHIN, H. Effect of membrane surface properties during the fast evaluation of cell attachment. *Separation Science and Technology*. Vol. 41, No. 7, 2006, pp. 1475-1487.
- KELECHI, C.A., FEDOROV, A., and NECKERS, D.C., Synthesis, characterization, and antifouling potential of functionalized copper nanoparticles. *Langmuir*. Vol. 24, No. 8, 2008, pp. 4340-4346.
- LIND, M.L., GHOSH, A.K., JAWOR, A., HUANG, X., HOU, W., YAHG, Y., and HOEK E.M.V. Influence of zeolite crystal size on zeolite-polyamide thin film nanocomposite

- membranas. *Langmuir*. Vol. 25, No. 17, 2009, pp. 10139-10145.
- MARTÍNEZ-CASTAÑÓN, G.A., NIÑO-MARTÍNEZ, N., MARTÍNEZ-GUTIÉRREZ, F., MARTÍNEZ-MENDOZA, J.R., and RUIZ, F. Synthesis and antibacterial activity of silver nanoparticles with different sizes. *Journal of Nanoparticle Research*. Vol. 10, No. 8, 2008, pp. 1343-1348.
- MARTÍNEZ-GUTIÉRREZ, F., OLIVE, P., BANUELOS, A., ORRANTIA, E., NINO, N., MORALES, E., RUIZ, F., BACH, H., and AV-GAY, J. Synthesis, characterization and evaluation of antimicrobial and cytotoxic effect of silver and titanium nanoparticles. *Nanomedicine: Nanotechnology*. Vol. 6, No. 5, 2010, pp. 681-688.
- MORONES, J.R., ELECHIGUERRA, J.L., CAMANCHO, A., HOLT, J.B., KOURT, J.B. RAMÍREZ, J.T., and YACAMAN, M.J. The bactericidal effect of silver nanoparticles. *Nanotechnology*. Vol. 16, 2005, pp. 2346-2353.
- NAIR, S., SASIDHARAN, A., DIYYA-RANI, V.V., MENON, D., SEEMA, N., MANZOOR, K., and RAINA, S. Role of size scale of ZnO nanoparticles and microparticles on toxicity Howard bacteria and osteoblast cancer cells. *Journal of Material Science: Materials in Medicine*. Vol. 20, 2009, pp. S235-S241.
- NCCLS-CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. N7 A7. Vol. 26, No. 2, 2006, pp. 1-45.
- NIÑO-MARTÍNEZ, N., MARTÍNEZ CASTAÑÓN, G.A., ARAGÓN-PIÑA, A., MARTÍNEZ-GUTIÉRREZ, F., MARTÍNEZ-MENDOZA, J.R., and RUIZ, F. Characterization of silver nanoparticles synthesized on titanium dioxide fine particles. *Nanotechnology*. Vol. 19, No. 6, 2008, pp. 1-8. doi:Artn 065711 Doi 10.1088/0957-4484/19/6/065711.
- OHIRA, T., YAMAMOTO, O., IIDA, Y., and NAKAGAWA, Z. Antibacterial activity of ZnO powder with crystallographic orientation. *Journal of Material Science: Materials in Medicine*. Vol. 19, No. 3, 2008, pp. 1407-1412.
- OMAE, I. General aspects of tin-free antifouling paints. *Chem. Rev.* Vol. 103, No. 9, 2003, pp. 3431-3448.
- OMS. *Guías para la calidad del agua potable. Segunda edición. Vigilancia y control de los abastecimientos de agua de la comunidad*. Vol. 3. Organización Mundial de la Salud, 1998, pp. 65-66.
- PAL, S., TAK, Y.K., and SONG, J.M., Does the antibacterial activity of silver nanoparticles depend on the shape of the nanoparticle? A study of the Gram-negative bacterium *Escherichia coli*. *Appl. Environ Microbiol.* Vol. 73, No. 6, 2007, pp. 1712-1720.
- RAFFIT, M., HUSSAIN, F., BHATTI, T.M., AKHTER, J.I., HAMEED, A., and HASAN, M.N. Antibacterial characterization of silver nanoparticles against *E. coli* ATCC-15224. *J. Mater. Sci. Technol.* Vol. 24, No. 2, 2008, pp. 192-196.
- SCHIEROW, L. Engineers nonoscale materials and derivate products: regulatory challenges. CRS Report for Congress. Congressional Reserch Services [en línea]. Octubre de 2009 (citado el 10 de enero de 2008). Disponible para *World Wide Web*: <http://www.fas.org/sgp/crs/misc/RL34332.pdf>.
- SHRIVASTAVA, S., BERA, T., ROY, A., SINGH, G., RAMACHANDRARAO, P., and DASH, D. Characterization of enhanced antibacterial effects of novel silver nanoparticles. *Nanotechnology*. Vol. 18, No. 22, 2007, pp. 1-9.
- SMETANA, A.B., KLABUNDE, K.J., MARCHIN, G.R., and SORENSEN, C.M. Biocidal activity of nanocrystalline silver powders and particles. *Langmuir*. Vol. 24, No. 14, 2008, pp. 7457-7464.
- SUÁREZ, M. Tendencia actual del estreptococo como indicador de contaminación fecal. *Revista cubana de higiene y epidemiología*. Vol. 40, núm. 1, 2002, pp.38-43.
- THIEL, J., PAKSTIS, L., BUZBY, S., RAFFI, M., NI, C., POCHAN, D.J., and ISMAT-SHAH., S. Antibacterial properties of silver doped titania. *Small*. Vol. 3, 2007, pp. 799-803.
- TRAPALIS, C., KOKKORIS, M., PERDIKAKIS, G., and KORDAS, G. Study of antibacterial composite Cu/SiO₂ thin coatings. *Journal of Sol-Gel Science and Technology*. Vol. 26, No. 1-3, 2003, pp. 1213-1218.
- WANG, S., GUILLEN, G., HOEK, E.M.V. Direct observation of microbial adhesion to membranes. *Environ. Sci. Technol.* Vol. 39, No. 17, 2005, pp. 6461-6469.
- WANG, W., CHEN Q., JIANG, C., YANG, D., LIU, X., and XU, S. One-step synthesis of biocompatible gold nanoparticles using gallic acid in the presence of poly-(N-vinyl-2-pyrrolidone). *Colloids Surf A Physicochem Eng Asp*. Vol. 301, No. 1, 2007, pp. 73-79.
- YAMAMOTO, O., KOMATSU, M., SAWAI, J., and NAKAGAWA, Z. Effect of lattice constant of zinc oxide on antibacterial characteristics. *Journal of Material Science: Materials in Medicine*. Vol. 15, No. 8, 2004, pp. 847-851.
- YESHCENKO, O.A., DMITRUK, I.M., DMYTRUK, A.M., ALEXEENKO, A.A. Influence of annealing conditions on size and optical properties of copper nanoparticles embedded in silica matrix. *Materials Science and Engineering B*. Vol. 137, No. 1-3, 2007, pp. 247-254.
- ZHANG, L., JIANG, Y., DING, Y., POVEY, M., and YORK, D. Investigation into the antibacterial behavior of suspensions of ZnO nanoparticles (ZnO nanofluids). *Journal of Nanoparticle Research*. Vol. 9, No. 3, 2007, pp. 479-489.

Abstract

NORIEGA-TREVIÑO, M.E., QUINTERO-GONZÁLEZ, C.C., GUAJARDO-PACHECO, J.M., MORALES-SÁNCHEZ, J.E., COMPEÁN-JASSO, M.E., & RUIZ, F. *Water disinfection and purification with metal nanoparticles and composite membranes. Water Technology and Sciences (in Spanish). Vol. III, Special Number TyCA-RETAC, February-March, 2012, pp. 87-100.*

Our aim was to find an alternative method for the disinfection of water with the use of metallic nanoparticles, employing their biocide effects and, subsequently, purification with inverse osmosis and nanofiltration using composite membranes embedded with nanoparticles. Nanotechnology provides cutting-edge solutions to environmental problems as well as many others that confront humankind. (Martínez-Gutiérrez et al., 2010). Here we present a comparative study of the antibacterial effectiveness of metallic nanoparticles and waters with different chemical compositions against two micro-organisms—E. coli and E. faecalis—using minimal inhibitory and bactericidal concentrations according to the norm NCCLS-CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) N7A7, 2006, 26(2). This constitutes the result of the first stage of the project. Five different types of metallic particles were synthesized and characterized using transmission electron microscopy (TEM), dynamic light scattering (DLS), and UV-visible spectroscopy. Two matrices were produced for water with different chemical compositions and inorganic compounds. The synthesized particles with the best bactericidal results are the silver nanoparticle Ag A (14 nm), which present a CMI of 13.37 µg/ml for E. coli and 40.13 µg/ml for E. faecalis and the silver nanoparticle Ag E (3 nm) with a CMI 6.68 µg/ml for E. coli and 13.37 µg/ml ml for E. faecalis. We conclude that the antibacterial activity of the nanoparticles is greater for negative-Gram bacteria, with the exception of copper, and that the smaller the size of the nanoparticles, the greater is their bactericidal activity.

Keywords: nanoparticles, nanotechnology, wastewater, disinfection, purification, membranes.

Dirección institucional de los autores

M.C. María Eugenia Noriega Treviño

Doctorado Institucional en Ingeniería y Ciencia de Materiales
Facultad de Ciencias
Departamento de Físico Matemáticas
Universidad Autónoma de San Luis Potosí
Álvaro Obregón 64, Colonia Centro
78000 San Luis Potosí, San Luis Potosí, MÉXICO
marunor@uaslp.mx

M.C. Claudia Cristina Quintero González

Doctorado Institucional en Ingeniería y Ciencia de Materiales
Facultad de Ciencias
Universidad Autónoma de San Luis Potosí
Álvaro Obregón 64, Colonia Centro
78000 San Luis Potosí, San Luis Potosí, MÉXICO
cristina.quintero@alumnos.uaslp.edu.mx

M.C. Jesús María Guajardo Pacheco

Doctorado Institucional en Ingeniería y Ciencia de Materiales
Centro de Investigación en Materiales Avanzados (CIMAV)
Av. Miguel de Cervantes 120, Complejo Industrial Chihuahua
31109 Chihuahua, Chihuahua, MÉXICO

Departamento de Físico Matemáticas
Universidad Autónoma de San Luis Potosí
Álvaro Obregón 64, Colonia Centro
78000 San Luis Potosí, San Luis Potosí, MÉXICO
guajardo@uaslp.mx

M.C. José Elpidio Morales Sánchez

Doctorado Institucional en Ingeniería y Ciencia de Materiales
Centro de Investigación en Materiales Avanzados (CIMAV)
Av. Miguel de Cervantes 120, Complejo Industrial Chihuahua
31109 Chihuahua, Chih. MÉXICO

Departamento de Físico Matemáticas
Universidad Autónoma de San Luis Potosí
Álvaro Obregón 64, Colonia Centro
78000 San Luis Potosí, San Luis Potosí, MÉXICO
elpidio@uaslp.mx

Dra. Martha Eugenia Compeán Jasso

Facultad de Ciencias
Universidad Autónoma de San Luis Potosí
Álvaro Obregón 64, Colonia Centro
78000 San Luis Potosí, San Luis Potosí, MÉXICO
martha.compean@gmail.com

Dr. Facundo Ruiz

Centro de Investigación en Materiales Avanzados (CIMAV)
Alianza Norte 202, Parque de Investigación e
Innovación Tecnológica
66600 Apocada, Nuevo León, MÉXICO

Universidad Autónoma de San Luis Potosí
Álvaro Obregón 64, Colonia Centro
78000 San Luis Potosí, San Luis Potosí, MÉXICO
facundo@ciencias.uaslp.mx