



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE CIENCIAS QUÍMICAS

**“EVALUACIÓN DE LA INHIBICIÓN BACTERIANA
UTILIZANDO UN FOTOCATALIZADOR NANOCOMPOSITO DE
DIÓXIDO DE TITANIO-MAGNETITA”**

TRABAJO DE TITULACIÓN
TIPO: PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Presentado para optar el grado académico de:
INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL

AUTOR: MARCO ALEXANDER URQUIZO ROBALINO
DIRECTOR: Dr. WILIAN MARCELO BRAVO MOROCHO

Riobamba - Ecuador

2018

© 2018, Marco Alexander Urquizo Robalino

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho de Autor.

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE CIENCIAS QUÍMICAS

El Tribunal del Trabajo de Titulación certifica que: El trabajo de investigación: **“EVALUACIÓN DE LA INHIBICIÓN BACTERIANA UTILIZANDO UN FOTOCATALIZADOR NANOCOMPOSITO DE DIÓXIDO DE TITANIO-MAGNETITA”**, de responsabilidad del señor egresado Marco Alexander Urquizo Robalino, ha sido prolijamente revisado por los Miembros del Tribunal de Tesis, quedando autorizada su presentación.

NOMBRE	FIRMA	FECHA
Dr. Wilian Bravo M.		
DIRECTOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN	_____	_____
Dr. Robert Cazar R.		
MIEMBRO DEL TRIBUNAL	_____	_____
Dr. Iván Ramos S.		
MIEMBRO DEL TRIBUNAL	_____	_____

Yo, Marco Alexander Urquizo Robalino soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en esta Tesis y el patrimonio intelectual de la Tesis de Grado pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo

Marco Alexander Urquizo Robalino

DEDICATORIA

A mis padres por el apoyo incondicional que me han brindado durante todos estos años, a mis hermanas por brindarme su amistad y alegría en los momentos difíciles y a todas aquellas personas que me guiaron durante la elaboración de esta tesis.

Marco

AGRADECIMIENTO

Al Dr. Wilian Bravo por haberme guiado durante la elaboración del presente trabajo quien sin su aporte científico como personal no hubiese sido posible. Al Lic. Fausto Tapia por brindarme las facilidades para la realización de mi proyecto. A la Bqf. Yolanda Buenaño por haberme compartido sus conocimientos en microbiología para que esta tesis fuera exitosa. A todos mis amigos que compartieron conmigo las penurias y alegrías de la vida universitaria.

Marco

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN.....	XVII
SUMMARY.....	XVIII
INTRODUCCIÓN.....	1
OBJETIVOS.....	2
CAPÍTULO I	
1. MARCO TEÓRICO Y CONCEPTUAL.....	3
1.1. Antecedentes de la investigación.....	3
1.2. Marco Conceptual.....	4
1.2.1. <i>Fotocatálisis</i>	4
1.2.2. <i>Variables que pueden influir durante el proceso de fotocatalisis</i>	5
1.2.3. <i>Radiación Ultravioleta</i>	6
1.2.4. <i>Nanocomposito</i>	6
1.2.5. <i>Inhibición bacteriana por TiO₂</i>	7
1.2.5.1. Inactivación bacteriana por fotocatalisis.....	9
1.2.6. <i>Semiconductores con actividad fotocatalítica</i>	10
1.2.7. <i>Estructura cristalina y electrónica del TiO₂</i>	12
1.2.8. <i>Nanopartículas magnéticas (Fe₃O₄)</i>	13
1.2.9. <i>Método sol-gel</i>	14
1.2.10. <i>Preparación De TiO₂ Mediante El Método Sol-Gel</i>	15
1.2.11. <i>Escherichia coli</i>	16
1.2.12. <i>Staphylococcus aureus</i>	18
CAPÍTULO II	
2 MARCO METODOLÓGICO	
2.1. Preparación de nanopartículas de dióxido de titanio-magnetita (TiO ₂ /Fe ₃ O ₄) mediante el método sol-gel.....	19

2.1.1.	<i>Preparación de nanopartículas de Fe₃O₄</i>	19
2.1.2.	<i>Preparación de nanopartículas de TiO₂/Fe₃O₄</i>	19
2.2.	Caracterización física del fotocatalizador	20
2.3.	Caracterización química del fotocatalizador	20
2.4.	Fotocatalización con TiO₂/Fe₃O₄	21
2.4.1.	<i>Activación de las cepas de E. coli y S. aureus</i>	21
2.4.2.	<i>Determinación de la efectividad fotocatalítica</i>	21
2.4.3.	<i>Análisis de la inhibición bacteriana</i>	22
2.5.	Separación magnética del fotocatalizador nanocomposito de TiO₂/Fe₃O₄	22

CAPÍTULO III

3.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	23
3.1.	Preparación de las partículas de TiO₂/ Fe₃O₄ por el método sol-gel	23
3.2.	Caracterización físico-química del fotocatalizador composito de TiO₂/ Fe₃O₄	25
3.2.1.	<i>Análisis del fotocatalizador en espectrofotómetro infrarrojo</i>	25
3.2.2.	<i>Caracterización del fotocatalizador mediante Scannin Electron Microscopy (SEM)</i>	26
3.3.	Determinación de la efectividad fotocatalítica	30
3.4.	Separación magnética del fotocatalizador composito de TiO₂/Fe₃O₄	49
3.5.	Análisis Estadístico	51
3.5.1.	<i>Análisis estadístico entre concentraciones de un mismo experimento</i>	51
3.5.2.	<i>Análisis estadístico entre diferentes experimentos a concentraciones iguales</i>	60
	CONCLUSIONES	71
	RECOMENDACIONES	73

BIBLIOGRAFÍA

ANEXOS

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-1:	Niveles de <i>E. coli</i> permitidos para los diferentes tipos de agua.....	17
Tabla 1-3:	UFC de <i>S. aureus</i> después de la fotocatalisis al 1% sin aireación.....	31
Tabla 2-3:	UFC de <i>S. aureus</i> después de la fotocatalisis al 5% sin aireación.....	32
Tabla 3-3:	UFC de <i>S. aureus</i> después de la fotocatalisis al 10% sin aireación.....	34
Tabla 4-3:	UFC de <i>E. coli</i> después de la fotocatalisis al 1% sin aireación.....	35
Tabla 5-3:	UFC de <i>E. coli</i> después de la fotocatalisis al 5% sin aireación.....	36
Tabla 6-3:	UFC de <i>E. coli</i> después de la fotocatalisis al 10% sin aireación.....	38
Tabla 7-3:	UFC de <i>S. aureus</i> después de la fotocatalisis al 1% con aireación.....	39
Tabla 8-3:	UFC de <i>S. aureus</i> después de la fotocatalisis al 5% con aireación.....	40
Tabla 9-3:	UFC de <i>S. aureus</i> después de la fotocatalisis al 10% con aireación.....	42
Tabla 10-3:	UFC de <i>E. coli</i> después de la fotocatalisis al 1% con aireación.....	44
Tabla 11-3:	UFC de <i>E. coli</i> después de la fotocatalisis al 5% con aireación.....	45
Tabla 12-3:	UFC de <i>E. coli</i> después de la fotocatalisis al 10% con aireación.....	47
Tabla 13-3:	Gramos recuperados del fotocatalizador de TiO_2/Fe_3O_4 después del proceso de fotocatalisis.....	50
Tabla 14-3:	Porcentaje recuperado del fotocatalizador de TiO_2/Fe_3O_4 después del proceso de fotocatalisis.....	50
Tabla 15-3:	Análisis ANOVA de las concentraciones de 0.5 y 1 g/L al 1% sin aplicar oxigenación (<i>S. aureus</i>).....	51
Tabla 16-3:	Prueba Tukey para las concentraciones de 0.5 y 1 g/L al 1% sin aplicar oxigenación (<i>S. aureus</i>).....	51
Tabla 17-3:	Análisis ANOVA de las concentraciones de 0.5 y 1 g/L al 5% sin aplicar oxigenación (<i>S. aureus</i>).....	52
Tabla 18-3:	Prueba Tukey para las concentraciones de 0.5 y 1 g/L al 5% sin aplicar oxigenación (<i>S. aureus</i>).....	52

Tabla 19-3: Análisis ANOVA de las concentraciones de 0.5 y 1 g/L al 10% sin aplicar oxigenación (<i>S.aureus</i>).....	53
Tabla 20-3: Prueba Tukey para las concentraciones de 0.5 y 1 g/L al 10% sin aplicar oxigenación (<i>S.aureus</i>).....	53
Tabla 21-3: Análisis ANOVA de las concentraciones de 1.5 y 2.5 g/L al 1% sin aplicar oxigenación (<i>E.coli</i>).....	53
Tabla 22-3: Prueba Tukey para las concentraciones de 1.5 y 2.5 g/L al 1% sin aplicar oxigenación (<i>E.coli</i>).....	54
Tabla 23-3: Análisis ANOVA de las concentraciones de 1.5 y 2.5 g/L al 5% sin aplicar oxigenación (<i>E.coli</i>).....	54
Tabla 24-3: Prueba Tukey para las concentraciones de 1.5 y 2.5 g/L al 5% sin aplicar oxigenación (<i>E.coli</i>).....	55
Tabla 26-3: Prueba Tukey para las concentraciones de 1.5 y 2.5 g/L al 10% sin aplicar oxigenación (<i>E.coli</i>).....	55
Tabla 27-3: Análisis ANOVA de las concentraciones de 0.5 y 1 g/L al 1% al aplicar oxigenación (<i>S.aureus</i>).....	56
Tabla 28-3: Prueba Tukey para las concentraciones de 0.5 y 1 g/L al 1% al aplicar oxigenación (<i>S.aureus</i>).....	56
Tabla 29-3: Análisis ANOVA de las concentraciones de 0.5 y 1 g/L al 5% al aplicar oxigenación (<i>S.aureus</i>).....	57
Tabla 30-3: Prueba Tukey para las concentraciones de 0.5 y 1 g/L al 5% al aplicar oxigenación (<i>S.aureus</i>).....	57
Tabla 31-3: Análisis ANOVA de las concentraciones de 0.5 y 1 g/L al 10% al aplicar oxigenación (<i>S.aureus</i>).....	57
Tabla 32-3: Prueba Tukey para las concentraciones de 0.5 y 1 g/L al 10% al aplicar oxigenación (<i>S.aureus</i>).....	58
Tabla 33-3: Análisis ANOVA de las concentraciones de 1.5 y 2.5 g/L al 1% al aplicar oxigenación (<i>E.coli</i>).....	58
Tabla 34-3: Prueba Tukey para las concentraciones de 1.5 y 2.5 g/L al 1% al aplicar oxigenación (<i>E.coli</i>).....	58

Tabla 36-3: Prueba Tukey para las concentraciones de 1.5 y 2.5 g/L al 5% al aplicar oxigenación (<i>E.coli</i>).....	59
Tabla 38-3: Prueba Tukey para las concentraciones de 1.5 y 2.5 g/L al 5% al aplicar oxigenación (<i>E.coli</i>).....	60
Tabla 39-3: Análisis ANOVA de la concentración de 0.5 g/L al 1% con y sin la aplicación aireación (<i>S.aureus</i>).....	60
Tabla 40-3: Prueba Tukey para la concentración de 0.5 g/L al 1% con y sin la aplicación aireación (<i>S.aureus</i>).....	61
Tabla 42-3: Prueba Tukey para la concentración de 1 g/L al 1% con y sin la aplicación aireación (<i>S.aureus</i>).....	62
Tabla 43-3: Análisis ANOVA de la concentración de 0.5 g/L al 5% con y sin la aplicación aireación (<i>S.aureus</i>).....	62
Tabla 44-3: Prueba Tukey para la concentración de 0.5 g/L al 5 % con y sin la aplicación aireación (<i>S.aureus</i>).....	62
Tabla 45-3: Análisis ANOVA de la concentración de 1 g/L al 5% con y sin la aplicación aireación (<i>S.aureus</i>).....	63
Tabla 46-3: Prueba Tukey para la concentración de 1 g/L al 5 % con y sin la aplicación aireación (<i>S.aureus</i>).....	63
Tabla 47-3: Análisis ANOVA de la concentración de 0.5 g/L al 10% con y sin la aplicación aireación (<i>S.aureus</i>).....	64
Tabla 48-3: Prueba Tukey para la concentración de 0.5 g/L al 10 % con y sin la aplicación aireación (<i>S.aureus</i>).....	64
Tabla 49-3: Análisis ANOVA de la concentración de 1 g/L al 10% con y sin la aplicación aireación (<i>S.aureus</i>).....	65
Tabla 51-3: Análisis ANOVA de la concentración de 1.5 g/L al 1% con y sin la aplicación aireación (<i>E.coli</i>).....	66
Tabla 52-3: Prueba Tukey para la concentración de 1.5 g/L al 1 % con y sin la aplicación aireación (<i>E.coli</i>).....	66
Tabla 53-3: Análisis ANOVA de la concentración de 2.5 g/L al 1% con y sin la aplicación aireación (<i>E.coli</i>).....	66

Tabla 54-3: Prueba Tukey para la concentración de 2.5 g/L al 1 % con y sin la aplicación aireación (<i>E.coli</i>).....	67
Tabla 55-3: Análisis ANOVA de la concentración de 1.5 g/L al 5% con y sin la aplicación aireación (<i>E.coli</i>).....	67
Tabla 57-3: Análisis ANOVA de la concentración de 2.5 g/L al 5% con y sin la aplicación aireación (<i>E.coli</i>).....	68
Tabla 58-3: Prueba Tukey para la concentración de 2.5 g/L al 5 % con y sin la aplicación aireación (<i>E.coli</i>).....	68
Tabla 59-3: Análisis ANOVA de la concentración de 1.5 g/L al 10% con y sin la aplicación aireación (<i>E.coli</i>).....	69
Tabla 60-3: Prueba Tukey para la concentración de 1.5 g/L al 10 % con y sin la aplicación aireación (<i>E.coli</i>).....	69
Tabla 61-3: Análisis ANOVA de la concentración de 2.5 g/L al 10% con y sin la aplicación aireación (<i>E.coli</i>).....	70
Tabla 62-3: Prueba Tukey para la concentración de 2.5 g/L al 10 % con y sin la aplicación aireación (<i>E.coli</i>).....	70

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1-3:	Espectro Infrarrojo del fotocatalizador al 1 % de Fe ₃ O ₄	25
Gráfico 2-3:	Espectro Infrarrojo del fotocatalizador al 5% de Fe ₃ O ₄	25
Gráfico 3-3:	Espectro Infrarrojo del fotocatalizador al 10% de Fe ₃ O ₄	26
Gráfico 4-3:	Composición química del fotocatalizador al 1% de Fe ₃ O ₄	27
Gráfico 5-3:	Composición química del fotocatalizador al 5% de Fe ₃ O ₄	28
Gráfico 6-3:	Composición química del fotocatalizador al 10% de Fe ₃ O ₄	29
Gráfico 7-3:	Reducción de las colonias bacterianas del tiempo 0 al 1 min.....	30
Gráfico 8-3:	Inhibición de <i>S. aureus</i> : tiempo vs UFC con el fotocatalizador al 1% (0.5 g/L)..	31
Gráfico 9-3:	Inhibición de <i>S. aureus</i> : tiempo vs UFC con el fotocatalizador al 1% (1 g/L)..	32
Gráfico 10-3:	Inhibición de <i>S. aureus</i> : tiempo vs UFC con el fotocatalizador al 5% (0.5 g/L)..	33
Gráfico 11-3:	Inhibición de <i>S. aureus</i> : tiempo vs UFC con el fotocatalizador al 5% (1 g/L)..	33
Gráfico 12-3:	Inhibición de <i>S. aureus</i> : tiempo vs UFC con el fotocatalizador al 10% (0.5 g/L).....	34
Gráfico 13-3:	Inhibición de <i>S. aureus</i> : tiempo vs UFC con el fotocatalizador al 10% (1 g/L).....	34
Gráfico 14-3:	Inhibición de <i>E.coli</i> : tiempo vs UFC con el fotocatalizador al 1% (1.5 g/L)....	35
Gráfico 15-3:	Inhibición de <i>E.coli</i> : tiempo vs UFC con el fotocatalizador al 1% (2.5 g/L)....	36
Gráfico 16-3:	Inhibición de <i>E.coli</i> : tiempo vs UFC con el fotocatalizador al 5% (1.5 g/L)....	37
Gráfico 17-3:	Inhibición de <i>E.coli</i> : tiempo vs UFC con el fotocatalizador al 5% (2.5 g/L)....	37
Gráfico 18-3:	Inhibición de <i>E.coli</i> : tiempo vs UFC con el fotocatalizador al 10% (1.5 g/L)...	38
Gráfico 19-3:	Inhibición de <i>E.coli</i> : tiempo vs UFC con el fotocatalizador al 10% (2.5 g/L)...	38
Gráfico 20-3:	Inhibición de <i>S. aureus</i> : tiempo vs UFC con el fotocatalizador al 1% (0.5 g/L) al suministrar aireación.....	39
Gráfico 21-3:	Inhibición de <i>S. aureus</i> : tiempo vs UFC con el fotocatalizador al 1% (1 g/L) al suministrar aireación.....	40

Gráfico 22-3: Inhibición de <i>S. aureus</i> : tiempo vs UFC con el fotocatalizador al 5% (0.5 g/L) al suministrar aireación.....	41
Gráfico 23-3: Inhibición de <i>S. aureus</i> : tiempo vs UFC con el fotocatalizador al 5% (1 g/L) al suministrar aireación.....	41
Gráfico 24-3: Inhibición de <i>S. aureus</i> : tiempo vs UFC con el fotocatalizador al 10% (0.5 g/L) al suministrar aireación.....	42
Gráfico 25-3: Inhibición de <i>S. aureus</i> : tiempo vs UFC con el fotocatalizador al 10% (1 g/L) al suministrar aireación.....	43
Gráfico 26-3: Inhibición de <i>E.coli</i> : tiempo vs UFC con el fotocatalizador al 1% (1.5 g/L) al suministrar aireación.....	44
Gráfico 27-3: Inhibición de <i>E.coli</i> : tiempo vs UFC con el fotocatalizador al 1% (2.5 g/L) al suministrar aireación.....	45
Gráfico 28-3: Inhibición de <i>E.coli</i> : tiempo vs UFC con el fotocatalizador al 5% (1.5 g/L) al suministrar aireación.....	46
Gráfico 29-3: Inhibición de <i>E.coli</i> : tiempo vs UFC con el fotocatalizador al 5% (2.5 g/L) al suministrar aireación.....	46
Gráfico 30-3: Inhibición de <i>E.coli</i> : tiempo vs UFC con el fotocatalizador al 10% (1.5 g/L) al suministrar aireación.....	47
Gráfico 31-3: Inhibición de <i>E.coli</i> : tiempo vs UFC con el fotocatalizador al 10% (2.5 g/L) al suministrar aireación.....	48

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1-1: Fotocatálisis.....	4
Figura 2-1: Nanotoxicidad.....	9
Figura 3-1: Partícula excitada por luz UV.....	11
Figura 4-1: Celdas primitivas de (a) Rutilo, (b) Anatasa, (c) Brookita.....	13
Figura 5-1: Proceso Sol-Gel.....	15
Figura 1-3: Magnetita (Fe_3O_4).....	23
Figura 2-3: Fotocatalizador de $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4$ en fase gel.....	23
Figura 3-3: Fotocatalizadores de $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4$ (1, 5 y 10%) después de ser secado en estufa...	24
Figura 4-3: Fotocatalizador nanocomposito de $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4$	24
Figura 5-3: Cristal de fotocatalizador composito de $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4$ al 1%.....	27
Figura 6-3: Cristales de fotocatalizador composito de $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4$ al 5%.....	28
Figura 7-3: Cristales de fotocatalizador composito de $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4$ al 10%.....	29

ÍNDICE DE ANEXOS

- Anexo A:** Preparación de magnetita (Fe_3O_4).
- Anexo B:** Medición de pH de los precipitados de magnetita (Fe_3O_4).
- Anexo C:** Magnetita (Fe_3O_4) disuelta en una solución de agua-etanol en diferentes concentraciones (1%, 5%,10%).
- Anexo D:** Muestras de $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4$ al 1% y al 10% en estado de gel.
- Anexo E:** Muestra de $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4$ al 5% en estado de gel.
- Anexo F:** Muestras de $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4$ después del secado a 60 °C.
- Anexo G:** Muestra de $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4$ después de la calcinación a 60 °C.
- Anexo H:** Muestra de *E.coli* y *S.aureus* contenidas en caldo nutritivo Mueller-Kauffman.
- Anexo I:** Proceso de fotocatalisis sin la aplicación de aireación.
- Anexo J:** Proceso de fotocatalisis al aplicar aireación.
- Anexo K:** Conteo de UFC después del proceso de fotocatalisis.
- Anexo L:** Medición del campo magnético
- Anexo M:** Recuperación del fotocatalizador de $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4$ mediante campo magnético.
- Anexo N:** Análisis del fotocatalizador composito de $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4$ en espectro IR.
- Anexo O:** Resultados DBO_5 de muestras de *E.coli* y *S.aureus* antes del proceso de fotocatalisis.
- Anexo P:** Resultados DBO_5 de muestras de *E.coli* y *S.aureus* después del proceso de fotocatalisis aplicando las concentraciones de 2.5g/l y 1g/l respectivamente (sin aireación).

RESUMEN

Se evaluó la efectividad inhibidora de un composito fotocatalizador de dióxido de titanio-magnetita ($\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4$) en agua inoculada con *S.aureus* y *E.coli*. Se sintetizaron tres diferentes formulaciones de fotocatalizadores mediante el método sol-gel al 1%, 5% y 10% de magnetita (Fe_3O_4). Se sometió una muestra previamente inoculada con bacterias a luz ultravioleta (UV) durante 30 minutos, añadiendo 0.5 g/L y 1 g/L para *S.aureus* y 1.5 g/L y 2.5 g/L para *E.coli*; se evaluó la efectividad del proceso al realizar la experimentación sin oxigenación y con oxigenación. Los mejores resultados fueron obtenidos en los procesos que no se sometieron a oxigenación, logrando inhibir al 100% las dos bacterias; en tanto su contraparte con oxigenación no logró inhibir el crecimiento bacteriano en su totalidad, obteniéndose un porcentaje de inhibición para *S.aureus* : 95% (0.5 y 1 g/L al 1%), 98% (0.5 g/L al 5%), 97% (1 g/L al 5%) y 98% (0.5 y 1 g/L al 10%), en cambio para *E.coli* el porcentaje de inhibición fue de: 98% (1.5 y 2.5 g/L al 1%), 99% (1.5 y 2.5 g/L al 5%), 98% (1.5 g/L al 10%) y 99% (2.5 g/L al 10%). Posterior a la finalización del experimento se recuperó el fotocatalizador mediante el uso de un magneto, rescatándose una media de 83% (0.5 g/L) y 75% (1 g/L) para *S.aureus*; 73% (1.5 g/L) y 72% (2.5 g/L) para *E.coli* sin oxigenación. En cambio para los procesos con oxigenación se recuperó una media de 68% (0.5 g/L) y 71% (1 g/L) para *S.aureus*; 72% (1.5 g/L) y 72% (2.5 g/L) para *E.coli*, con la posibilidad de ser reutilizado. Se recomienda que el tiempo de envejecimiento de la solución en estado de gel sea mínimo para evitar el crecimiento excesivo de los cristales.

Palabras clave: <BIOTECNOLOGÍA>, <MICROBIOLOGÍA>, <ESCHERICHIA COLI>, <STAPHYLOCOCCUS AUREUS>, <FOTOCATÁLISIS>, <INHIBICIÓN BACTERIANA>, <MÉTODO SOL-GEL>

SUMMARY

The inhibitory effectiveness of a photocatalyst composite of titanium dioxide-magnetite ($\text{TiO}_2\text{-Fe}_3\text{O}_4$) was evaluated in water inoculated with *S.aureus* and *E.coli*. Three different formulations of photocatalyst were synthesized by sol-gel method at 1%, 5% and 10% magnetite (Fe_3O_4). A sample previously inoculated with bacteria was subjected to ultraviolet light (UV) for 30 minutes, adding 0.5 g/L and 1 g/L for *S.aureus* and 1.5 g/L and 2.5 g/L for *E.coli*; the effectiveness of the process was evaluated when performing the experimentation without oxygenation and with oxygenation. The best results were obtained on the process that were not subjected to oxygenation, achieving to inhibit the two bacteria at 100%; while its counterpart with oxygenation did not manage to inhibit the bacteria growth in its entirety, obtaining a percentage of inhibition for *S.aureus*: 95% (0.5 y 1 g/L al 1%), 98% (0.5 g/L al 5%), 97 % (1 g/L al 5%) y 98% (0.5 y 1 g/L al 10%), whereas for *E.coli* the inhibition percentage was: 98% (1.5 y 2.5 g/L al 1%), 99% (1.5 y 2.5 g/L al 5%), 98% (1.5 g/L al 10%) y 99% (2.5 g/L al 10%). After the end of the experiment the photocatalyst was recovered by using a magnet, recovering an average of 83% (0.5 g/L) and 75% (1 g/L) for *S.aureus*; 73% (1.5 g/L) and 72% (2.5 g/L) for *E.coli* without oxygenation. Meanwhile for the process with oxygenation an average of 68% (0.5 g/L) and 71% (1 g/L) for *S.aureus*; 72% (1.5 g/L) and 72% (2.5 g/L) for *E.coli* was recovered, with the possibility of being reused. It is recommended that the aging time of the gel solution be minimal to avoid excessive growth of the crystals.

Keywords: <BIOTECHNOLOGY>, <MICROBIOLOGY>, <PHOTOCATALYSIS>, <BACTERIAL INHIBITION>, < SOL-GEL METHOD>, <ESCHERICHIA COLI>, <STAPHYLOCOCCUS AUREUS>.



INTRODUCCIÓN

Las aguas residuales son hoy en día uno de los problemas más críticos a resolver en Ecuador como en el resto del mundo; a pesar de que existe cierta conciencia por parte de la población en general y de los gobiernos, no es la suficiente como para implementar de una manera integral y eficiente las diversas estrategias que ayuden a mejorar la calidad de las aguas. Tenemos que tomar en cuenta que solamente en nuestro país el tratamiento de desechos líquidos es casi inexistente, apenas de un 7% de las aguas residuales totales generadas por la población son tratadas actualmente (CEPAL, 2011).

Por ello la necesidad de dar un tratamiento a las aguas residuales es una necesidad primordial, ya que al realizar un adecuado proceso de saneamiento se está asegurando que no se propagarán enfermedades dañinas en la población como cólera, gastroenteritis, fiebre tifoidea, disentería, etc., especialmente en las personas que habitan en zonas rurales, ya que ellas son las más propensas a consumir agua contaminada.

Desgraciadamente la totalidad de estas aguas no pueden ser tratadas debido a que los métodos que se encuentran disponibles pueden ser demasiado costosos o presentan una gran dificultad técnica al momento de su aplicación.

Esta situación nos pone en una situación en donde la implementación de programas para el tratamiento de las aguas residuales es una necesidad urgente, ya que se debe recordar que la escasez del líquido vital es cada vez mayor, por lo que una cantidad peligrosa de aguas residuales están siendo utilizadas sin querer en las diferentes actividades productivas como la agricultura y la industria, en algunos lugares también se puede utilizar el líquido contaminado en el hogar, siendo el consumo respectivo de dichas actividades en el país de 80%, 13% y 7% (CEPAL, 2011). En algunos casos extremos, las aguas residuales son el único recurso hídrico disponible de algunas comunidades pobres que su único medio de alimentación es por la agricultura. Estos impactos pueden verse minimizados siempre y cuando se implementen buenas prácticas de manejo (OMS, 2017).

Es por esta razón que el proceso de fotocatalisis del agua representa una alternativa tecnológica factible como novedosa para tratar este recurso, ya que se garantiza altos grados de eficiencia en periodos de tiempos relativamente cortos en la desinfección de microorganismos dañinos que pueden estar presentes en afluentes líquidos.

OBJETIVOS

Objetivo General

- Evaluar la inhibición bacteriana utilizando un nanocomposito fotocatalizador de dióxido de titanio-magnetita.

Objetivos Específicos

- Sintetizar un nanocomposito de dióxido de titanio-magnetita ($\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4$).
- Determinar la actividad fotocatalítica del nanocomposito $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4$ para la inhibición en de *E. coli* y *Staphylococcus aureus*.
- Evaluar la efectividad de la separación del nanocomposito de la suspensión al utilizar un campo magnético.
- Realizar la caracterización físico-química del nanocomposito de dióxido de titanio-magnetita ($\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4$).

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO Y CONCEPTUAL

1.1. Antecedentes de la investigación

Las aguas utilizadas en los procesos productivos como en el uso doméstico, retornan contaminadas a los cursos de agua; en la mayoría de los casos se deteriora su calidad para usos posteriores, inclusive la irrigación. Dependiendo del grado de contaminación, el agua residual puede ser nociva para la vida, causando por ejemplo, la mortandad de peces. También puede producirse una liberación de compuestos volátiles, que provocan mal olor y sabor acentuado, y que podrían traer problemas en una nueva operación de purificación y tratamiento del agua (Guimarães y Nour, 2001, p.20).

Las enfermedades infecciosas son transmitidas primariamente por la contaminación de las fuentes de agua con deposiciones de animales como de humanos, las cuales contienen agentes que son activos en el transporte de diferentes enfermedades, por lo que el uso de tales aguas para beber o cocinar, el contacto con la misma durante baños, o la inhalación de pequeñas gotitas (aerosoles) pueden resultar en infecciones (Guimarães, Ibáñez, et al., 2001, p.376).

Por lo que el tratamiento de los residuos líquidos puede ser un problema muy complejo debido a la gran variedad de químicos y sus niveles de concentración como a la presencia de microorganismos, pero gracias a las investigaciones realizadas acerca de los efectos de ciertos contaminantes, se han generado nuevas tecnologías como el tratamiento de oxidación fotocatalítico, el cual presenta una ventaja sobre las técnicas comúnmente utilizadas como el tratamiento primario y secundario (Garcés, Mejía & Santamaría, 2004, p.84).

Por diversas razones, el proceso de tratamiento y/o purificación de aguas mediante fotocátalisis con dióxido de titanio como catalizador es una de las aplicaciones fotoquímicas que más interés ha despertado entre la comunidad científica internacional. Por un lado, la fotocátalisis a diferencia de la mayoría de los procesos fotoquímicos, no es selectiva y puede emplearse para tratar mezclas complejas de contaminantes, por otro lado brinda la posibilidad de la utilización de la radiación solar como fuente primaria de energía, le otorga un importante y significativo valor medioambiental por lo que este proceso constituye un claro ejemplo de tecnología sostenible (Gálvez, Rodríguez, Gasca, et al., 2001, p.52).

La primera publicación sobre este proceso de degradación de contaminantes en fases tanto acuosa como gaseosa, se debe a Carey y aparece en 1976. Desde entonces, un análisis histórico de la evolución del desarrollo del proceso fotocatalítico para la purificación de aguas permite identificar cuatro etapas claramente diferentes donde hasta los primeros años de la década de los 90, coincide con una creciente preocupación e inquietud de la comunidad científica internacional sobre temas medioambientales (Garcés, Mejía & Santamaría, 2004, p.84).

En tanto a la utilización del TiO_2 en el proceso de fotocálisis para la inactivación bacteriana ha generado un gran interés debido a que absorbe la luz UV que origina especies que son oxidantes, como peróxidos, hidroxilos y superóxidos los que resultan muy ventajosos al momento de inactivación de especies bacterianas que se encuentran en el recurso hídrico; varios autores reportan que el radical responsable de la desinfección de poblaciones microbianas indeciabes es el radical hidroxilo, este radical actúa al iniciar una serie de reacciones en cadena llamadas reacciones de peroxidación lipídica; estas reacciones ocasionan la desintegración de los ácidos grasos poliinsaturados (AGP) que son responsables de darle fluidez e integridad estructural a las células, esta desestabilización ocasiona un daño progresivo a la estructura que compone a la membrana celular, seguido de una pérdida de permeabilidad, resistencia mecánica, movilidad y fluidez de la membrana y posteriormente lisis y muerte (Moreno, Castro, et al., 2011, p.69).

1.2. Marco Conceptual

1.2.1. *Fotocatálisis*

Este proceso se basa en la absorción de energía radiante, ya sea ultravioleta o visible, por un sólido, que generalmente es un semiconductor de banda ancha (Paez & Taborda, 2006, p.71).

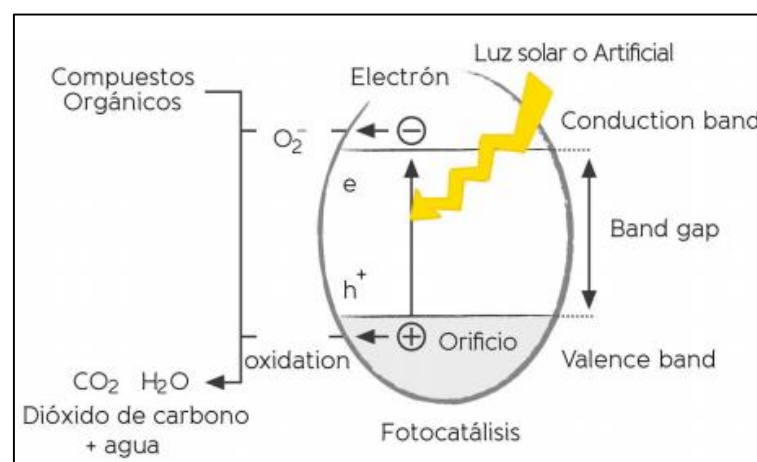


Figura 1-1: Fotocatálisis

Realizado por: Garcés Luis; Mejía Edwin; Santamaría Jorge; 2004

La capacidad de generar especies oxidantes poderosas como los radicales libres hidroxilo (*OH) con la ayuda de la radiación UV (solar o artificial), hace que esta tecnología sea atractiva para aplicaciones ambientales. Durante este proceso el semiconductor es iluminado con luz ultravioleta lo que da como resultado la generación de diferentes reacciones electroquímicas que producen radicales hidroxilo, los mismos que presentan un fuerte poder oxidante permitiendo ataques de manera no selectiva a cualquier sustrato orgánico presente en el agua (Narváez & Rodríguez, 2012, p.14).

En la región interfacial, es decir la región existente entre sólido excitado y la solución, ocurren varias reacciones que llevan a la destrucción o en ciertas ocasiones a la remoción de los contaminantes que se encuentran presentes en el agua; estas reacciones ocurren sin que el catalizador sufra cambios químicos (Narváez & Rodríguez, 2012, p.15).

1.2.2. Variables que pueden influir durante el proceso de fotocátalisis

Se pueden hallar ciertos parámetros que pueden influir ya sea de manera cualitativa o cuantitativa en el proceso de fotocátalisis, los que afectan en la eficiencia global del proceso (Martínez, Reyes, 2013, p.30), entre estas variables se puede mencionar a las siguientes:

- **Intensidad de la radiación:** para un rango de intensidad de radiación la velocidad de reacción es proporcional a ésta, pero para intensidades grandes no guarda esta proporcionalidad (Domínguez, 2012, p.44).
- **Características del catalizador:** el catalizador a utilizar debe poseer forma esférica, alta área superficial, tamaño uniforme. Las propiedades superficiales que presenta un catalizador pueden alterar la densidad de producción superficial de radicales libres hidroxilo durante el proceso, así como la de otros radicales oxidantes (Martínez, Reyes, 2013, p.30).
- **Concentración del catalizador:** el proceso de fotocátalisis es afectado exclusivamente por la concentración del catalizador debido a la presencia de un área superficial mayor que se encuentra disponible tanto como para la adsorción como para la degradación; sin embargo cuando existe un exceso del catalizador en el medio a tratar, este ocasiona un efecto pantalla y enmascara la superficie de las partículas, lo que reduce el paso de la radiación (Domínguez, 2012, p.45).

- **pH:** esta propiedad afecta tanto a las propiedades superficiales del catalizador como a la forma química del compuesto a degradar y tiene correlación directa con la velocidad a la que ocurre la degradación (Domínguez, 2012, p.45).
- **Temperatura:** en cuanto a esta variante se puede mencionar que su influencia en el proceso de degradación fotocatalítica es crucial debido a que a una alta temperatura el proceso de fotocatálisis no puede realizarse (Martínez, Reyes, 2013, p.30).

1.2.3. Radiación Ultravioleta

La radiación ultravioleta (UV) pertenece a la sección del espectro electromagnético que se encuentra entre las longitudes de onda de 400-100 nm; se ubica desde la parte violeta del espectro visible hasta la zona comprendida por los rayos X. La radiación UV se origina a partir de transiciones electrónicas de los átomos, específicamente en su parte externa; es posible detectarla sencillamente debido a que posee una gran actividad fotoeléctrica como fotoquímica, pero la materia puede absorber este tipo de radiación fácilmente, esto ocasiona varios problemas al momento de producirse su transmisión a distintos medios (Portero, 2004).

Su característica principal es la de poder originar excitaciones en los átomos lo que ocasiona reacciones químicas; para la correcta aplicación de la radiación UV con fuentes artificiales se debe tener en cuenta diferentes aspectos físicos, como la ley del inverso del cuadrado de la distancia y la ley del coseno de Lambert (Portero, 2004).

Otra característica importante es la de su efecto antiséptico, debido a que posee un efecto directo sobre las proteínas y ácidos nucleicos, ocasionando su desnaturalización lo que puede conllevar a la muerte biológica. Este efecto es muy conveniente al momento de esterilizar el agua, cámaras de cultivos microbiológicos y para mantener estéril los instrumentos procedentes de autoclaves; la acción bactericida se consigue con longitudes de onda inferiores a los 290 nm (Portero, 2004).

1.2.4. Nanocomposito

Son conocidos como los materiales que se encuentran compuestos básicamente mediante la unión de dos o más materiales, con la finalidad de poder adquirir con esta combinación diversas propiedades mecánicas como conducción, mayor rigidez, resistencia mecánica, resistencia a la corrosión, menor peso, alto poder abrasivo, ser un buen conductor térmico, lumínico o acústico (Díaz, 2012).

Los nanocompositos son materiales que tiene dimensiones del orden del nanómetro (10⁻⁹ m), las dimensiones tan pequeñas de las partículas conducen a una elevada superficie interfacial (Díaz, 2012).

Existen seis características estructurales que nos permiten diferenciar a los nanocompositos, estas características son con respecto a las dimensiones de las partículas, estas son (Durán, 2014, p.21):

- Bajo umbral de percolación.
- Correlación partícula – partícula (orientación y posición) surge en la fracción de bajo volumen.
- Gran número de partículas por volumen de partícula.
- Extensa área interfacial por volumen de partícula.
- Distancia corta entre partículas.

Además se puede mencionar que los nanocompositos son materiales que se encuentran formados por una nanofase, es decir que poseen una microestructura compuesta por granos, cristales diminutos o partículas nanométricas (Díaz, 2012).

1.2.5. Inhibición bacteriana por TiO₂

El dióxido de titanio (TiO₂) es un fotocatalizador que es ampliamente utilizado como material autolimpiante y autodesinfectante ya sea para superficies o medios líquidos, este compuesto lleva a cabo un rol muy importante en lo que se refiere a la purificación del ambiente debido a su no toxicidad y a su súper hidrofobicidad inducida por el proceso de fotocatalisis, estas propiedades han permitido su aplicación para la eliminación de microorganismos no deseados como bacterias y materiales orgánicos dañinos en el agua y en el aire así como en superficies autolimpiantes o auto esterilizantes para centros médicos (Giridhar, et al., 2017, p. 11672).

Además se ha venido utilizado durante varios años como un pigmento ya que este es un producto inerte, no tóxico y que además ha sido evaluado por muchos organismos reguladores como el Material Safety Data Sheets (MSDS) y otros entes reguladores que tienen la responsabilidad de salvaguardar la salud de los trabajadores como de la seguridad de la salud pública; en los Estados Unidos la Food and Drug Administration (FDA) permitió su ingestión como aditivo farmacológico y su aplicación externa que incluye el área del ojo, es considerado como una sustancia segura para la salud pública (Li., et al., 2008, p. 3627).

En general, los agentes que contribuyen con la asepsia pueden clasificarse como bactericidas (que matan a las bacterias) o bacteriostáticas (ralentizan el crecimiento bacteriano). Los agentes

antibacterianos son fundamentales para combatir las enfermedades infecciosas, sin embargo, debido con su uso muy amplio como a su abuso, la resistencia bacteriana se ha convertido en un fenómeno común; las diferentes cepas y especies que son resistentes a los diferentes tipos de antibacterianos son mayoritariamente conocidos con el nombre de superbacterias y contribuyen a la aparición de enfermedades que estaban bajo buen control durante muchos años (Hajipour, et al., 2012, p.508).

Otras de las ventajas que se dan por la aplicación del dióxido de titanio, es con respecto a la resistencia bacteriana, es muy conocida el tipo de resistencia bacteriana que ocurre dentro del cuerpo humano pero también esta se puede dar en los microorganismos que se encuentran en el medio ambiente debido a la acumulación significativa de antibióticos, al tratar los medios contaminados con este fotocatalizador se puede esperar una disminución significativa de los agentes biológicos debido a que el TiO_2 tienen un potente efecto antimicrobiano, varios autores reportan que la disminución de microorganismos como *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus spp.*, *S. aureus*, entre otros es significativa cuando se los somete bajo iluminación UV, ocurriendo la eliminación total de los agentes biológicos en aproximadamente 60 minutos (Giridhar, et al., 2017, p. 11671).

Hay muchas ventajas al usar los métodos fotocatalíticos para la actividad antibacteriana, el catalizador de TiO_2 se caracteriza por su no toxicidad, alta estabilidad, bajo costo y se pueden llevar a cabo experimentos a temperatura y presión normales. El compuesto orgánico funcionalizado también se descompone de forma ecológica sin crear ningún efecto secundario contaminante, sin embargo, los resultados obtenidos varían entre los diferentes grupos esto puede deberse a la falta de disponibilidad de procedimiento estándar para la evaluación, también dependen del tipo de configuración experimental, fuente de luz, dopaje de metales y no metales su concentración y cálculos de actividad antibacteriana (Giridhar, et al., 2017, p. 11672).

Los mecanismos exactos por los que las nanopartículas (incluyendo las nanopartículas TiO_2) tienen un efecto tóxico contra diversas bacterias no es comprendido en su totalidad; las nanopartículas pueden unirse a la membrana de las bacterias al darse una interacción electrostática en la que puede interrumpir la integridad de dicha membrana; este tipo de nanotoxicidad es desencadenada debido a la inducción del estrés oxidativo por la formación de radicales libres es decir, los ROS (Reactive Oxygen Species) o especies reactivas al oxígeno, después de que se administra las nanopartículas (Hajipour, et al., 2012, p.509).

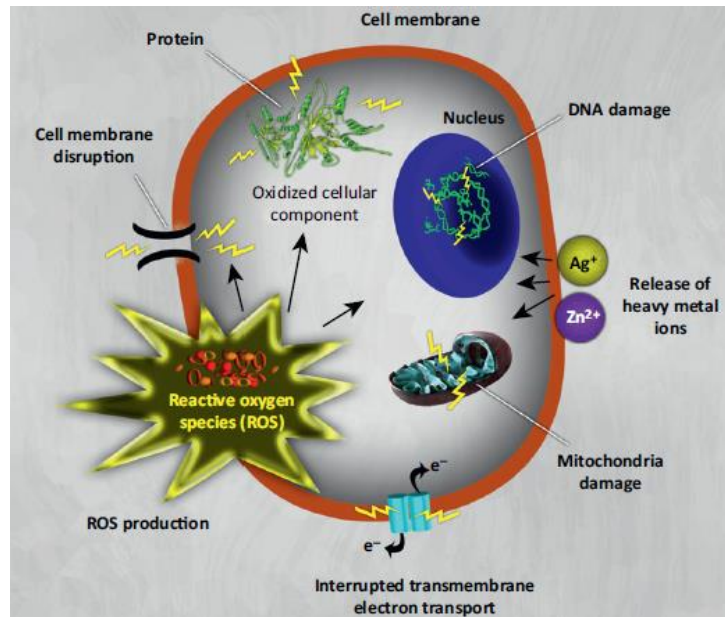


Figura 2-1: Nanotoxicidad

Realizado por: Hajipour; Katharina; Akbar; Jiménez.; 2012

La toxicidad de las nanopartículas de TiO_2 depende de que las condiciones en las que se esté trabajando sean las adecuadas, estos factores tales como la temperatura, aireación, pH, la concentración del fotocatalizador y la concentración de bacterias a las que se les quiere inhibir; cuando se tiene altas temperatura como valores altos de aireación y el pH bajo se disminuyen la aglomeración de los microorganismos y aumentan la posibilidad de inhibición por toxicidad, de hecho, la aglomeración más baja proporciona más superficie disponible para la interacción con las membranas bacterianas y para la solubilización de iones de TiO_2 , lo que conduce a una mayor toxicidad (Hajipour, et al., 2012, p.509).

1.2.5.1. Inactivación bacteriana por fotocátalisis

El dióxido de titanio en medio acuoso y en presencia de luz solar es capaz de excitarse, con una energía equivalente al salto energético, de esta forma los electrones que se encuentran en banda de valencia migran hacia la banda de conducción dejando un hueco en la banda de valencia, y generándose los denominados pares hueco-electrón (Escuadra, 2016, p.12).

La energía necesaria para excitar el dióxido de titanio es de 3,2 V y como consecuencia sólo es capaz de absorber luz ultravioleta ($\lambda < 385 \text{ nm}$). Los pares hueco-electrón pueden recombinarse o bien desplazarse a la superficie de catalizador. Por otro lado, moléculas de agua son adsorbidas en los huecos produciéndose radicales hidroxilo. También se puede producir la oxidación de una

molécula M (por ejemplo un contaminante orgánico) adsorbida en los huecos mediante transferencia de electrones (Escuadra, 2016, p.13).

El TiO_2 puede utilizarse en la desinfección fotocatalítica en suspensión o fijo, si se usa suspendido se hace necesario añadir una etapa posterior después del tratamiento para separarlo del agua, puesto que no puede ser emitido al medio ambiente acuático; lo mismo ocurre si quiere ser reutilizado (Malato, et al., 2009 citado por Escuadra, 2016, p.13).

Las bacterias como *E. coli*, *Clostridium perfringens*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, entre otras, son indicadores de que una contaminación fecal ha ocurrido en el agua; la corrupción de las aguas pudo ser reciente u antigua. Las principales fuentes de contaminación son la escorrentía agrícola, descargas de aguas residuales e infiltración de materia fecal de animales domésticos o salvajes (Villanueva, 2011, p.23), estos patógenos causan diferentes afecciones en la salud humanos y animales.

Es así que la luz UV es de gran importancia, ya que la pirimidina del ADN absorbe esta luz y forma dímeros de pirimidina, cambiando así la estructura del ADN e interfiriendo con su duplicación, lo que puede ocasionar su muerte (Li et al., 2008, p. 3627), por lo que esta clase de tratamientos es mucho más útil cuando se utiliza procesos catalíticos debido a que la inversión necesaria es menor.

Los efectos de la inactivación varían de acuerdo a la intensidad de luz que es proporcionada al medio, algunos autores reportan que a una intensidad 1000 W/m^2 se da un flujo mayor de fotones, lo que ocasiona, en presencia del catalizador TiO_2 , el aumento de radicales OH^* , esto lleva a la inactivación microbiana en un menor tiempo de exposición haciendo más efectivo el proceso; a diferencia de intensidades de 400 W/m^2 , donde los tiempos de exposición deben ser mayores; sin darse una relación lineal entre la intensidad de la luz y la inactivación de la bacteria. Se ha reportado además que la desinfección con procesos que solo involucran fotólisis son menos efectivos que los procesos fotocatalíticos (Kim & Kwak, 2009 citado por Villanueva, 2011, p.23).

1.2.6. Semiconductores con actividad fotocatalítica

El proceso de la fotocatalisis se basa en la transferencia de carga a través una interfaz, la misma que se encuentra formada por un semiconductor iluminado por una fuente de luz ultravioleta y una solución en estado acuoso; en la interfaz existe una densidad local de carga diferente a la del seno de ambas fases lo que provoca un campo eléctrico que actúa como fuerza impulsora en el proceso de transferencia de carga que actúa como el impulsor del proceso de transferencia de

carga, generando la formación de los radicales hidroxilos. La interfaz semiconductor – solución acuosa tiene como rasgo distintivo que la redistribución de carga se extiende significativamente tanto del lado de la solución como del lado del semiconductor (Candal, Bilmes & Blesa, 2001).

Durante la fotoexcitación cuando un fotón de energía suficiente es absorbido, las bandas curvadas adquieren las condiciones necesarias para la separación de cargas.

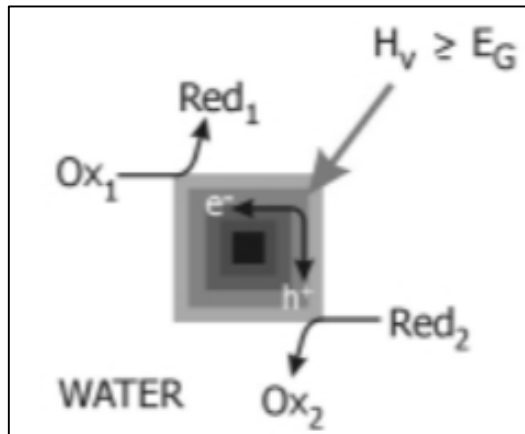
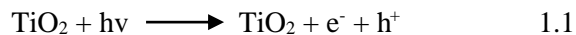


Figura 3-1: Partícula excitada por luz UV

Realizado por: Garcés; Mejía; Santamaría; 2004.

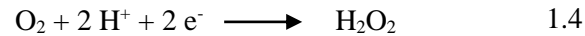
Se cree que el radical OH^* es la principal especie oxidante, responsable de la fotodegradación de los compuestos orgánicos presentes en las soluciones acuosas, aunque cuando se usa el TiO_2 el proceso de degradación que se da por la transferencia electromagnética provoca huecos (h^+) en la banda de valencia del semiconductor; dichos huecos son producidos debido a que cuando se somete al TiO_2 a una longitud de onda inferior de 400 nm, se genera un exceso de electrones en la banda de conducción dan como resultado huecos positivos h^+ en la banda de valencia (Garcés, Mejía & Santamaría, 2004, p.84).



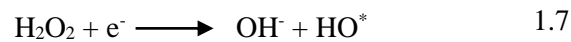
Los huecos (h^+) que son generados reaccionan tanto con el agua de la solución acuosa como con grupos OH^- para formar posteriormente radicales hidroxilo



Además los electrones que se encuentran en exceso de la banda de conducción reaccionan con el oxígeno molecular y formar radicales superóxido y peróxido de hidrógeno como se muestra a continuación.



Tanto los radicales peróxido como superóxido posteriormente generan más radicales hidroxilos



Al finalizar el proceso, los radicales HO* formados anteriormente son los que provocan la mineralización de casi toda la totalidad de las sustancias orgánicas presentes en la solución acuosa (Garcés, Mejía & Santamaría, 2004, p.84).

1.2.7. Estructura cristalina y electrónica del TiO₂

El dióxido de titanio (TiO₂) es un semiconductor sensible a la luz que absorbe radiación electromagnética en la región del UV, es anfótero y muy estable químicamente. Por estas características es el fotocatalizador más empleado en diferentes estudios y actualmente es utilizado para la degradación de moléculas orgánicas en aguas residuales (Ochoa, Ortegón & Páez, 2013, p.33).

Es considerado como un aislante porque posee un ancho de banda de 3,2 eV; pero debido a razones termodinámicas, su estructura es deficiente en oxígenos, esto da como resultado estados que se encuentran localizados cerca de la banda de conducción lo que le brinda características de semiconductor (Tuesta & Gutarra, 2004, p.32).

El óxido de titanio presenta 3 formas polimórficas (rutilo, brooquita y anatasa); la fase rutilo es la única fase estable por lo que muchos compuestos se cristalizan presentando esta estructura, mientras que las fases anatasa y brooquita son metaestables, pueden ser transformadas a rutilo irreversiblemente por calentamiento (Mendoza, Salas, et al., 2014, p.14).

La Anatasa y el Rutilo poseen estructuras tetragonales las que forman cadenas de octaedros, donde el ion Ti⁺⁴ está rodeado por un octaedro de seis iones de O⁻². El octaedro del Rutilo no es regular

y muestra una pequeña desviación en sus octaedros que se encuentran dentro de la celda unitaria, mientras que el octaedro en la fase anatasa es significativamente más desviado, estas distorsiones cambia las distancias interatómicas de los iones y cationes dentro de los octaedros, donde las distancias Ti-Ti en la fase Anatasa son de 0.379 nm y 0.304 nm, y en la fase Rutilo son de 0.357 nm y 0.296 nm; mientras que las distancias Ti-O son menores en la fase Anatasa (0.1934 y 0.1980 nm) que en la fase Rutilo (0.1949 y 0.1980 nm) (Quiroz, 2014, p.38).

La Anatasa y la Brookita son formas monotrópicas del TiO_2 y se transforman en el rutilo estable a una velocidad que aumenta con la temperatura. La anatasa y la brookita se convierten en rutilo a temperaturas de 400°C a 500°C . (Quiroz, 2014, p.38).

La estructura cristalina del rutilo se describe comúnmente mediante cadenas de octaedros de donde el átomo de titanio (catión) se localiza en el centro de la celda unitaria y está rodeado por seis átomos de oxígeno (aniones). En el rutilo cada octaedro está en contacto con 10 octaedros vecinos, dos compartiendo las caras de los pares de oxígeno y ocho compartiendo las esquinas de los átomos de oxígeno. Tiene seis átomos por celda unitaria y todos los átomos de los mismos elementos son equivalentes por simetrías en las esquinas de un octaedro distorsionado (Pacheco, Rico, et al., 2014, p.181).

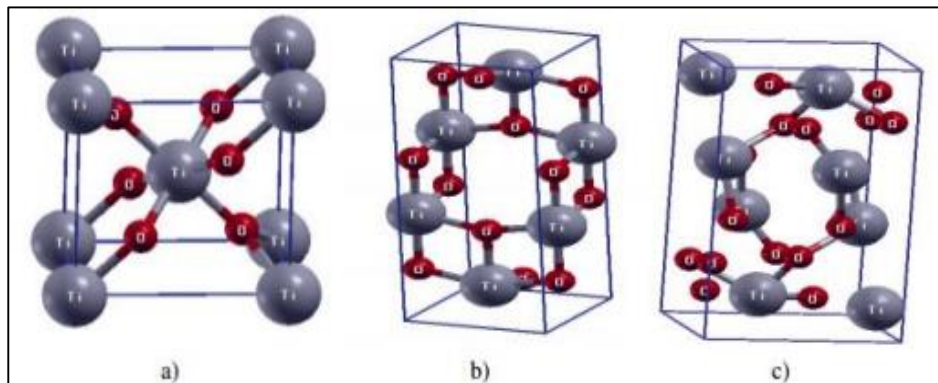


Figura 4-1: Celdas primitivas de (a) Rutilo, (b) Anatasa, (c) Brookita

Realizado por: Pacheco; Rico; et al.; 2014, p.181

1.2.8. Nanopartículas magnéticas (Fe_3O_4)

La magnetita (Fe_3O_4), un óxido de hierro magnético común, tiene una estructura espinela inversa cúbica con oxígeno formando un embalaje cerrado FCC y cationes Fe que ocupan los sitios intersticiales tetraédricos y octaédricos. Los electrones pueden saltar entre Fe^{2+} y Fe^{3+} en sitios octaédricos incluso a temperatura ambiente, lo que hace la magnetita un importante medio material metálico (Martínez, Reyes, 2013, p.28).

La magnetita presenta características únicas que le hacen destacar respecto del resto de óxidos de hierros; un aspecto fundamental en su uso como catalizadores es la generación de radicales de OH⁻ debido a la fotodisolución del Fe(III), otro aspecto esencial de este tipo de catalizador es que debido a su naturaleza sólida puede absorber diversos iones y moléculas que pueden interactuar con los OH⁻ presentes en su superficie, asimismo algunas moléculas pueden favorecer la disolución del óxido en medio acuoso al formar complejos, como puede ser el caso con algunos ácidos orgánicos (Morán, 2016, p.82).

La reactividad de las partículas de óxido de hierro se ha demostrado que aumenta en gran medida como sus dimensiones son reducidas y pueden someterse a biodegradación rápida cuando se expone directamente a los sistemas biológicos (Martínez, Reyes, 2013, p.29).

Además de las características mencionadas anteriormente, es necesario destacar que la magnetita al ser un metal que posee un carácter magnético, es muy importante ya que le confiere al catalizador un valor agregado frente a otros catalizadores ya que así se favorece su separación del medio lo que posibilita su reutilización.

1.2.9. Método sol-gel

El proceso conocido con el nombre de sol-gel es una ruta química que permite la realización de diversos materiales amorfos y policristalinos de una forma relativamente fácil; este método es muy importante ya que se pueden obtener nuevos materiales que por los métodos convencionales de fabricación son muy difíciles de obtener, como las combinaciones de óxidos (SiO₂, TiO₂, ZrO₂, etc.) (Castañeda, 2006).

Este método es la evolución de un sistema de suspensión-coloide que se inicia mediante la formación de una suspensión coloidal que es llamada sol y es seguida por su gelificación posterior la que forma una red en una fase líquida continua que es llamada gel que posteriormente es puesta bajo tratamiento térmico (Hernández, 2013, p.11).

Este método fue introducido en el año 1860 por Thomas Graham, pero gracias a otro científico llamado Rustom Roy se amplía su desarrollo como su aplicación en varios campos; sin embargo esta tecnología solo es usada en varios campos al final del siglo XX; hoy en día se sabe que las diferentes reacciones sol-gel juegan un papel sumamente crucial en los procesos de síntesis de muchas clases de nano materiales, cerámicas, polímeros, etc. (Hernández, 2013, p.11).

El término sol-gel es un término que incluye una gran variedad de técnicas, dichas técnicas permiten que la composición química del producto sea pura como homogénea a nivel molecular, este proceso se da gracias primeramente a la formación de una dispersión estable de partículas menores a 0.1 μm suspendidos en un líquido, que en este caso es el sol, seguido por cambios de concentración dados por la evaporación parcial del líquido, añejamiento, o adición de electrolitos no reactivos, haciendo que los enlaces tridimensionales del sol se expandan dándose la formación del gel (Hernández, 2013, p.11).

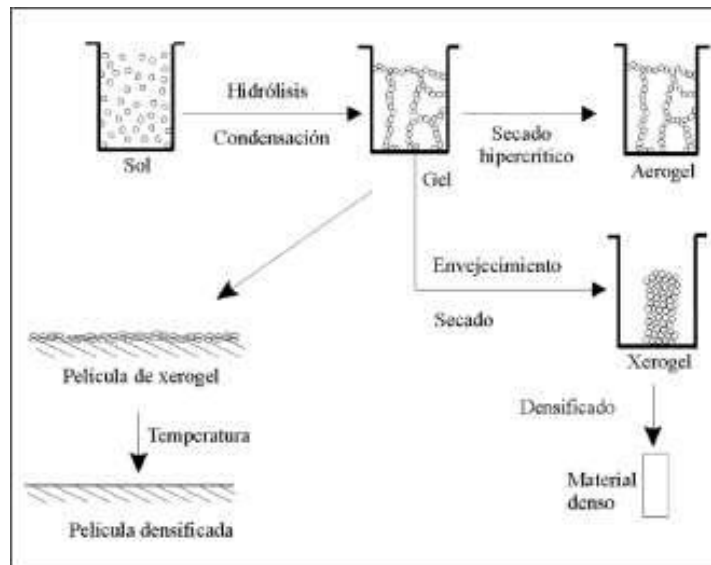


Figura 5-1: Proceso Sol-Gel

Realizado por: Castañeda; 2014

Cuando el gel va adquiriendo una cierta rigidez se previene la migración o segregación de los átomos, lo que es muy beneficioso en el proceso de secado ya que así se garantiza la homogeneidad a nivel molecular lo que le da estabilidad al producto resultante, también se asegura de esta manera un alta área superficial específica y tamaños de partícula finos de entre 20 nm a 70 nm; al presentar el producto una distribución homogénea de los átomos es fácil densificar los compuestos a más bajas temperaturas que los desarrollados por procesos convencionales (Hernández, 2013, p.12).

1.2.10. Preparación De TiO_2 Mediante El Método Sol-Gel

El dióxido de titanio puede ser obtenido al utilizar diferentes técnicas, entre ellas se puede mencionar: síntesis química en fase vapor, hidrotérmica, precipitación controlada y el denominado proceso sol-gel, entre otros. En general, el proceso sol-gel, como es explicado anteriormente, implica el cambio de un sistema en estado líquido o también llamado sol

(suspensión coloidal de partículas sólidas con tamaño nanométrico que está en esta condición gracias al movimiento Browniano), a una fase en estado sólido que es denominada gel (sólido constituido por al menos dos fases, con la fase líquida atrapada e inmovilizada por la fase sólida). Las reacciones más importantes son las de hidrólisis y condensación, las que ocurren durante la formación del sol y su paso a estado gel. (Ochoa, Ortégón & Páez, 2013, p.30).

Los métodos de laboratorio que son empleados para preparar materiales con características definidas a partir de soluciones acuosas o alcohólicas que contienen precursores de TiO_2 , utilizando como precursores usuales el tetracloruro o alcóxidos de titanio; mediante la hidrólisis controlada del precursor o empleando una relación [precursor]/ $[\text{H}_2\text{O}]$ elevada, se obtienen soles de TiO_2 de distintas características (Mendoza, et al., 2014, p.14).

El TiO_2 aparece con estructuras de baja dimensionalidad (por ejemplo fibras), también se obtienen soles particulados que, dependiendo del pH de la solución, resultan cristalinos o amorfos. Luego de la eliminación del exceso de reactivos y los subproductos de reacción, los soles producen agregados muy poco cristalinos de alta área superficial. Por evaporación o desestabilización, los soles pueden producir geles que, a su vez, se transforman en xerogeles por deshidratación. Para obtener polvos, los xerogeles deben molerse adecuadamente y luego tratarse térmicamente (Mendoza, et al., 2014, p.14).

1.2.11. *Escherichia coli*

E.coli es un bacilo Gram negativo, anaerobio facultativo de la familia Enterobacteriaceae, tribu Escherichia. Esta bacteria se encuentra en el intestino del hombre a pocas horas después del nacimiento y es considerado como un microorganismo que se encuentra de forma normal en flora normal (Oquendo, 2011, p.14), sin embargo se puede hallar ciertas cepas que pueden ser patógenas y causar daño, dichas cepas son productoras de la toxina conocida como shiga o verotoxigénicas las que pueden provocar patologías gastrointestinales graves, las que se manifiestan en diarreas sanguinolentas acompañadas de dolores abdominales, seguidos de fiebre, las personas afectadas suelen recuperarse con el tratamiento adecuado alrededor de una semana después de haberse dado la infección (ELIKA, 2005).

Es una de las especies bacterianas que más ha sido estudiada, no solamente por sus capacidades patogénicas, sino también por su importancia en estudios como: investigaciones metabólicas, genéticas, poblacionales y de diversa índole. Cabe mencionar que de la gran cantidad de organismos coliformes solo *E.coli* posee un origen específicamente fecal, debido a que se encuentra siempre en grandes cantidades en las heces fecales de los seres vivos de sangre caliente

y rara vez se encuentran en agua o suelo que no haya sufrido algún tipo de contaminación fecal (Oquendo, 2011, p.14).

Como es mencionado anteriormente la detección de estas bacterias en el agua significa que una contaminación fecal ha ocurrido en dichas aguas y sugiere que patógenos entéricos (*Salmonella spp.*, *Cryptosporidium spp.*), pueden estar presentes, por lo que tanto humanos como animales no deben entrar en contacto con el agua contaminada hasta que la presencia de *E. coli* ya no sea detectada, y el agua sea considerada como segura (Channah, Berenise, 2014).

Los estándares bacterianos de calidad del agua según la EPA se basan en un nivel de *E. coli* en el agua por encima del cual el riesgo para la salud y enfermedades transmitidas por el agua es inaceptablemente alta; los niveles de *E. coli* no puede superar las 575 unidades formadoras de colonias o comúnmente referidas con el término de UFC por cada 100 ml de agua para el contacto corporal parcial (Channah, Berenise, 2014).

Tabla 1-1: Niveles de *E. coli* permitidos para los diferentes tipos de agua

Propósito	Nivel de <i>E.coli</i>
Agua Potable	cero
Aguas superficiales con contacto corporal completo (natación)	235 ufc/100 ml
Aguas superficiales con contacto corporal parcial (pesca, paseo en embarcaciones, etc.)	575 ufc/100 ml
Aguas residuales (riego o descarga)	< 2.2 ufc/100 ml <1.0 ufc/100 ml

Fuente: Channah, Berenise, 2014.

Realizado por: ADEQ, 2010

Para el contacto corporal completo en cambio, los niveles de esta bacteria no deben exceder las 235 UFC por cada 100 ml de agua, el contacto corporal completo se refiere al cuerpo humano completamente bajo el agua en actividades como la natación o cualquier otra actividad recreativa acuática (Channah, Berenise, 2014).

1.2.12. *Staphylococcus aureus*

Es un microorganismo que se encuentra largamente disperso en el ambiente debido a que posee características específicas como virulencia y resistencia contra antibióticos, lo que constituye un gran problema para la salud de las personas, además el problema es más generalizado debido a que se este microorganismo se encuentra distribuido a nivel mundial (Zendejas, 2014, p.134).

Esta bacteria forma parte de la familia *Micrococaceae*, correspondiente al género *Staphylococcus* que posee más de 30 especies diferentes y muchas de ellas habitan naturalmente la piel como las membranas mucosas de los humanos, específicamente *S. aureus* forma parte de la flora microbiana de la piel humana, también es detectado ocasionalmente en el aparato digestivo y también en aguas residuales. *Staphylococcus aureus* puede ser liberado por contacto humano en medios acuáticos tales como piscinas, balnearios y otras aguas de uso recreativo, también se ha detectado en aguas de consumo. Es un coco gram-positivo, no móvil que no forma esporas, puede encontrarse solo, en pares, en cadenas cortas o en racimos, es un anaerobio facultativo, pero crece mejor en condiciones aerobias (Bustos, et al., 2004, p.291).

Puede producir catalasa, coagulasa, en tanto a sus colonias miden se puede mencionar que pueden medir de entre 1 a 3 mm, su coloración es amarillenta debido a la presencia de carotenoides y muchas cepas producen hemólisis a las 24-36 horas (Bustos, et al., 2004, p.291).

En los humanos, este microorganismo ocasiona una amplia variedad de enfermedades infecciosas y su principal impacto es ocasionado debido a que es fuertemente resistentes a la meticilina (MRSA) y otros antibióticos que en tiempos pasados eran eficaces atacándola cuando se producía alguna infección, dicha resistencia es producto de varios factores naturales como la selección natural que a través de mutaciones producidas al azar cambian genéticamente a esta bacteria; sin embargo, estas mutaciones también pueden ser inducidas artificialmente mediante la aplicación de una presión selectiva, como es el abuso o la utilización de diversos antibióticos (Zendejas, 2014, p.134).

A pesar de que *Staphylococcus aureus* es considerado como un indicador de aguas contaminadas y analizar la calidad higiénica de aguas de consumo humano, no se tiene una guía para determinar en qué cantidad límite esta bacteria debería estar presente, pero a pesar de ello, esta bacteria debe estar libre de toda agua de consumo.

CAPÍTULO II

2. MARCO METODOLÓGICO

2.1. Preparación de nanopartículas de dióxido de titanio-magnetita ($\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4$) mediante el método sol-gel.

Para la preparación de las nanopartículas de $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4$ fue llevado a cabo en dos pasos. Primeramente, las nanopartículas de Fe_3O_4 fueron preparadas utilizando el método de coprecipitación de titulación, en segundo lugar fueron preparadas las partículas de $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4$ mediante la técnica sol-gel (Li, et al., 2009, p.424).

2.1.1. *Preparación de nanopartículas de Fe_3O_4*

Para la preparación de la nanopartículas de Fe_3O_4 se utilizó el método de coprecipitación el que consistió en la adición de 100 ml de 0,15 mol /L de la solución acuosa constituida de FeCl_2 y 200 ml de 0,15 mol /L de solución acuosa constituida por FeCl_3 ; ambas soluciones se mezclaron en un vaso de precipitación para posteriormente someterla a calentamiento a una temperatura aproximada de 40 ° C por unos cuantos minutos hasta que la solución esté casi hirviendo (Li, 2009).

Posteriormente se dejó caer amoniaco (NH_3) en la solución mezclada (compuesta de FeCl_2 y FeCl_3) hasta que el valor de pH alcanzó 9; es entonces en la que una gran cantidad de precipitados negros fueron generados. Los precipitados de Fe_3O_4 , también conocidos con el nombre de magnetita, fueron lavados con agua destilada y etanol repetidas veces hasta que el valor del pH fue cercano a 7 (Li, et al., 2009, p.424).

2.1.2. *Preparación de nanopartículas de $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4$*

Para la preparación de las nanopartículas de $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4$, dotadas con diferentes cantidades de Fe_3O_4 (1%, 5%, 10%) se pesó 0.023 g (1%), 0.115 g (5 %), 0.23 g (10%) de este compuesto para posteriormente agregarlo a una mezcla de agua-etanol con un relación de volumen de 1:20 en diferentes vasos de precipitación. Las diferentes mezcla fueron etiquetadas adecuadamente y

sometidas por 30 minutos a un sonicador para asegurarse que la dispersión de las partículas de Fe_3O_4 en el medio sea la adecuada (Li, et al., 2009, p.424).

Posteriormente se añadió una solución acuosa diluida de HCl a cada una de las suspensiones hasta que el valor de pH de cada una de las mezclas decreció de 4-5; seguidamente se preparó una solución de mezcla con 10 ml de tetrabutilo de titanio disuelto en 23 ml de etanol y 6.9 ml de ácido acético, bajo baño maría a 40°C , el tetrabutilo de titanio se dejó caer lentamente en el por encima de la suspensión caliente (Li, 2009, p.424).

Las suspensiones deben ser tratadas con vibración ultrasónica durante 30 minutos para garantizar una composición uniforme y se debe dejarlas reposar al menos por dos días para que el envejecimiento de las partículas sea el adecuado (para este punto las mezclas deben presentar una composición parecida a un gel) (Li, 2009, p.424).

A continuación cada mezcla fue colocada en un crisol para secarlas en una estufa a 60°C durante una hora para finalmente someterlas a calcinación por 3 horas a 450°C en una mufla, el nanocomposito resultante fue recolectado de los crisoles y puesto en recipientes etiquetados adecuadamente (Li, 2009, p.424).

2.2. Caracterización física del fotocatalizador

Las diferentes muestras fueron sometidas al análisis en el SEM (Scanning Electron Microscopy), en la que se realizó un barrido horizontal por las muestras con la finalidad de obtener una imagen panorámica de los cristales de $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4$, así como para obtener las medidas de dichos cristales y su composición elemental.

2.3. Caracterización química del fotocatalizador

Las muestras del fotocatalizador de $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4$ se realizó la medición del pH de cada una, para posteriormente someterlas a un análisis de espectrofotometría IR; las muestras del fotocatalizador de 1%, 5 % y 10% de Fe_3O_4 o magnetita se lo realizó en el espectrofotómetro infrarrojo JASCO 4100 con el fin de identificar los picos representativos de cada uno de los grupos funcionales que componen al fotocatalizador; las mediciones fueron realizadas con una longitud de onda entre un rango de $400\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$ donde normalmente son analizados los posibles grupos funcionales que se encuentran formando una muestra.

Posteriormente a la obtención de los diferentes espectros, se procedió a la realización de una comparación entre los mismos, se comparó los picos y las longitudes de onda para la determinación de los grupos funcionales presentes con datos representativos que se los puede encontrar fácilmente en tablas el artículo de Spectra-Structure Correlations in the Mid- and Far-infrared (Shurvell, 2002).

2.4. Fotocatalización con $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4$

Para la realización de la fotocatalisis se eligió dos bacterias que servirían para analizar la efectividad del proceso, estas bacterias fueron *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, el análisis fue llevado a cabo mediante la realización de siembras sucesivas en el transcurso de 30 minutos para determinar la inhibición de las mismas.

2.4.1. Activación de las cepas de *E. coli* y *S. aureus*

Las cepas bacterianas tanto de *E. coli* como de *S. aureus* fueron obtenidas del Laboratorio de Análisis Químicos y Bacteriológicos de la Facultad de Ciencias de la ESPOCH, las que para ser activadas fueron puestas en primer lugar en caldo nutritivo Mueller-Kauffman en diferentes tubos de ensayo y dejadas en incubación por 4 días a una temperatura de 25°C.

2.4.2. Determinación de la efectividad fotocatalítica

Se realizó el experimento en una cámara de seguridad biológica NUAIRE que consta en su interior una lámpara UV de 30 watts de potencia; se probó la efectividad del fotocatalizador dotado con diferentes cantidades de Fe_3O_4 (1%, 5%, 10%) en diversas muestras que contenían 25 ml de agua destilada, la misma que fue previamente contaminada con una cantidad específica de bacterias (0.5 McFarland = 1.5×10^8 UFC/ml) y colocadas en un crisol de cuarzo. Para cada tipo de fotocatalizador (1%, 5%, 10%) se agregó a la solución en diferentes concentraciones de 0.5 g/L, 1 g/L para *S.aureus* y 1.5 g/L, 2.5 g/L para *E. coli*.

Para la ejecución del ensayo se necesitaron condiciones controladas de asepsia debido a que se está trabajando con microorganismos que son potencialmente peligrosos para la salud humana, además, se colocó equipos (agitador magnético, bomba de aire) necesarios para proporcionar al medio agitación y oxigenación, dichos equipos fueron cubiertos con papel aluminio para evitar cualquier daño producido por la exposición directa a la radiación UV.

El experimento fue dividido en dos partes: la primera parte fue realizada solamente en condiciones de agitación y exposición a la radiación ultravioleta; la segunda parte fue ejecutada añadiendo oxigenación al medio acuoso donde se encontraban las bacterias.

2.4.3. Análisis de la inhibición bacteriana

Para el conteo bacteriano en placa se utilizó agar Mueller Hinton ya el mismo es muy útil para estudios de susceptibilidad bacteriana.

Cada prueba tuvo una duración total de 30 minutos, la toma de cada muestra fue realizada a tiempos determinados (1 min, 2 min, 3 min, 5 min, 10 min, 15 min, 30 min) con el fin de identificar el tiempo como la concentración adecuada de fotocatalizador a la que se da la inhibición bacteriana.

Se utilizó el método de extensión en placa; para cada concentración se tomó 1 ml de inóculo para cada tiempo (1 min, 2 min, 3 min, 5 min, 10 min, 15 min, 30 min) y las placas se incubaron por 48 horas a 25°C tanto para *E. coli* como *S. aureus*. Posteriormente se realizó el conteo de UFC presentes en cada placa por cada tiempo, concentración del fotocatalizador y microorganismo.

2.5. Separación magnética del fotocatalizador nanocomposito de $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4$

Una vez acabado el proceso de fotocátalisis se prosiguió a la recolección del fotocatalizador de $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4$, para ello se dejó a la solución contenida en el vaso de cuarzo reposar por unos minutos después de haber acabado el proceso, posteriormente se introdujo un magneto dentro de la solución para que las partículas del fotocatalizador sean atraídas su campo magnético. A continuación se pesó el fotocatalizador “atrapado” en una balanza analítica.

CAPÍTULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Preparación de las partículas de $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4$ por el método sol-gel

Primeramente se preparó la magnetita (Fe_3O_4) por el método de coprecipitación propuesto por Li (Li, 2009); en el que se la obtuvo en forma de un precipitado de color oscuro (Figura 1-3).

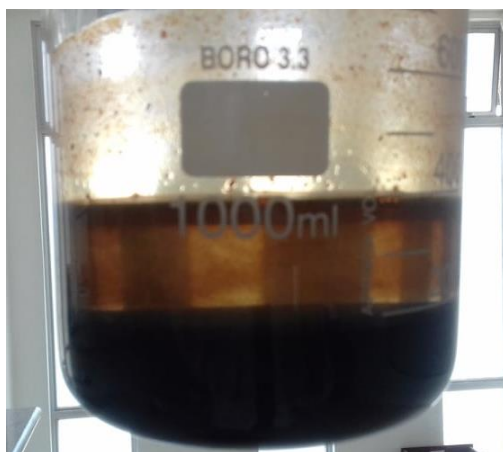


Figura 1-3: Magnetita (Fe_3O_4)

Realizado por: Urquizo; 2018

Al realizar el método de sol-gel propiamente dicho, se consiguió un gel de apariencia densa con colores que variaban entre gris y blanco (Figura 2-3).



Figura 2-3: Fotocatalizador de $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4$ en fase gel

Realizado por: Urquizo; 2018

Posteriormente se sometió al gel a secado en una estufa a 60°C por 1 hora para luego someterlo a calcinación en una mufla 450 ° C por 3 horas.



Figura 3-3: Fotocatalizadores de $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4$ (1, 5 y 10%) después de ser secado en estufa
Realizado por: Urquizo; 2018

Al haber terminado con el proceso de calcinación se obtuvieron las partículas de $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4$ que presentaron un color marrón y una consistencia parecida al de las virutas, tal como se observa en la Figura 4-3.



Figura 4-3: Fotocatalizador nanocomposito de $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4$
Realizado por: Urquizo; 2018

3.2. Caracterización físico-química del fotocatalizador compuesto de $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4$

3.2.1. Análisis del fotocatalizador en espectrofotómetro infrarrojo

Los resultados de las muestras de los fotocatalizadores proporcionados con diferentes cantidades de Fe_3O_4 (1%, 5%, 10%) en el espectrofotómetro Infrarrojo JASCO 4100 fueron:

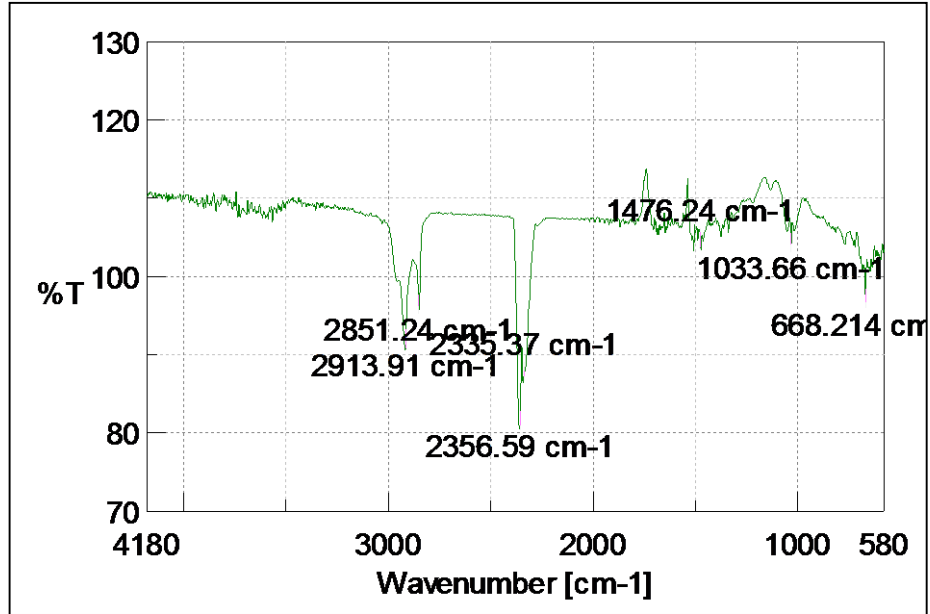


Gráfico 1-3: Espectro Infrarrojo del fotocatalizador al 1 % de Fe_3O_4

Realizado por: Urquizo; 2018

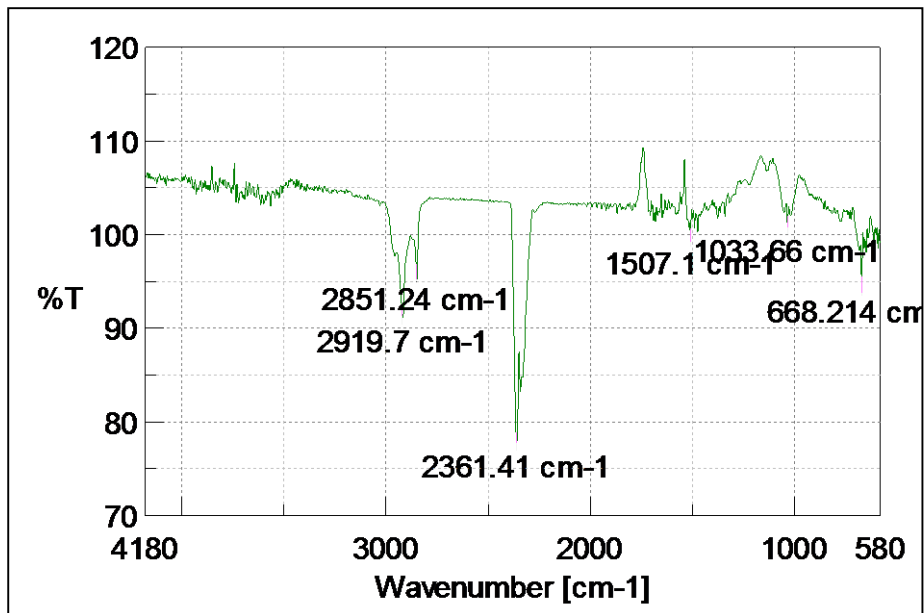


Gráfico 2-3: Espectro Infrarrojo del fotocatalizador al 5% de Fe_3O_4

Realizado por: Urquizo; 2018

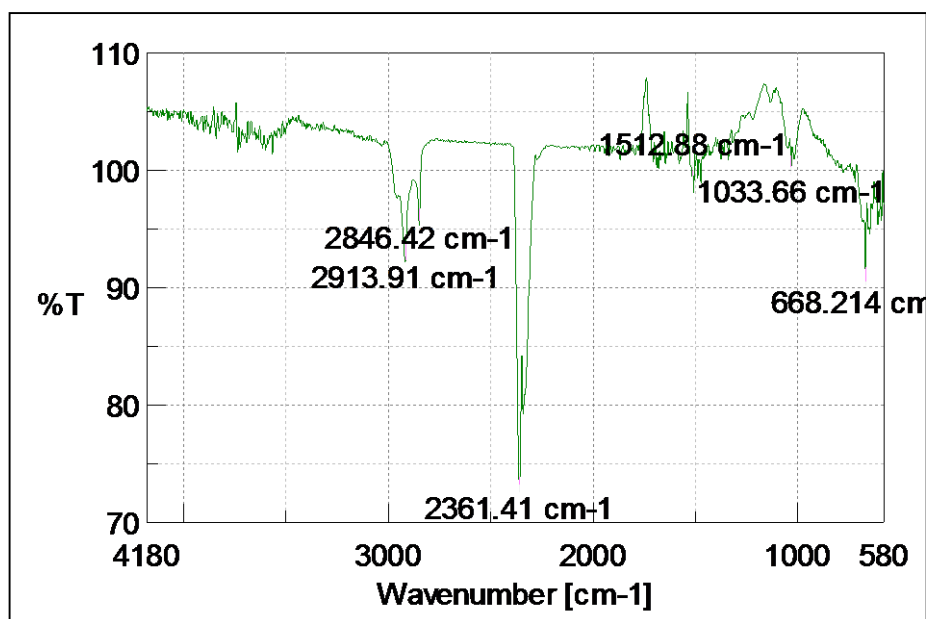


Gráfico 3-3: Espectro Infrarrojo del fotocatalizador al 10% de Fe₃O₄

Realizado por: Urquizo; 2018

En los gráfico 1-3, 2-3 y 3-3 se puede observar que existen generalmente los mismos grupos funcionales en las diferentes clases de fotocatalizadores (1%, 5%, 10%), los picos correspondientes a los valores de 2919-2913 cm⁻¹ y 2851-2846 cm⁻¹ corresponde a las vibraciones de los grupos O-H, en cambio los picos de 2361-2356 cm⁻¹ se los puede asociar con la presencia de grupos hidroxilo (OH*) del correspondientes a las partículas de Fe₃O₄ como a la presencia del CO₂ atmosférico. Las vibraciones correspondientes a los valores 1512-1476 cm⁻¹ se debe a la presencia de los enlaces Ti-O-C, por otro lado el valor de 1033 cm⁻¹ encontrado exactamente igual en las tres muestras se puede mencionar que es debido a los enlaces Ti-O-Fe presentes. En cambio los picos correspondientes a los valores 668 cm⁻¹ se los puede relacionar con el grupo funcional Ti-O.

3.2.2. Caracterización del fotocatalizador mediante Scannin Electron Microscopy (SEM)

Se sometió a las diferentes muestras del fotocatalizador composito proporcionado con diferentes cantidades de magnetita (Fe₃O₄) a un análisis en el microscopio electrónico SEM para la determinación porcentual de su composición química como el tamaño de partícula, los resultados fueron:

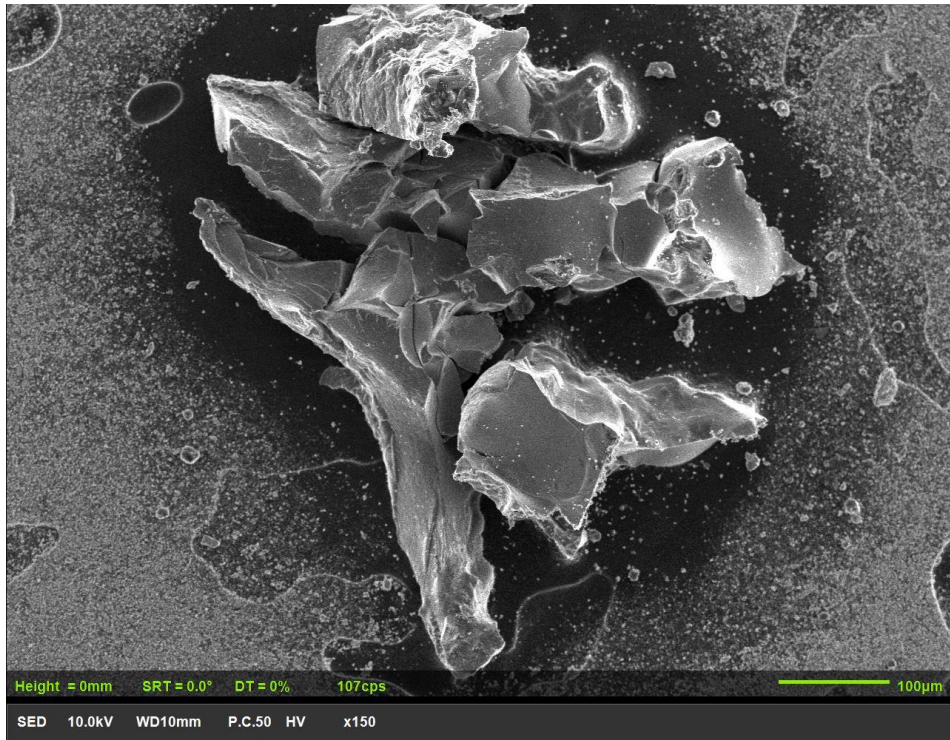


Figura 5-3: Cristal de fotocatalizador compuesto de $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4$ al 1%

Realizado por: Urquizo; 2018

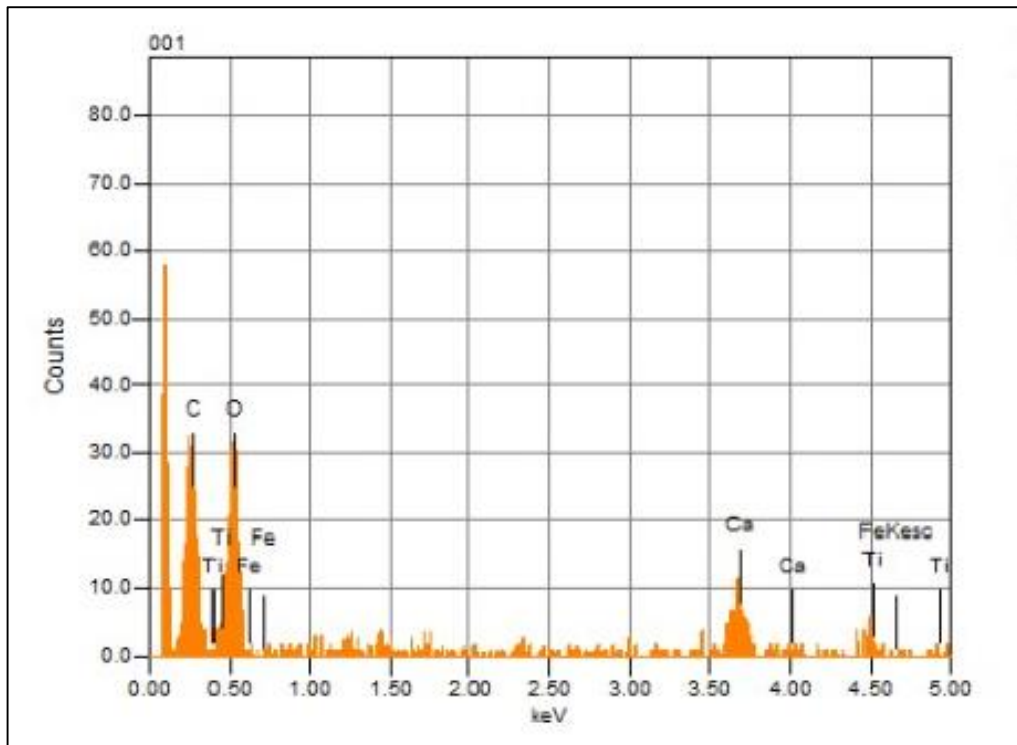


Gráfico 4-3: Composición química del fotocatalizador al 1% de Fe_3O_4

Realizado por: Urquizo; 2018

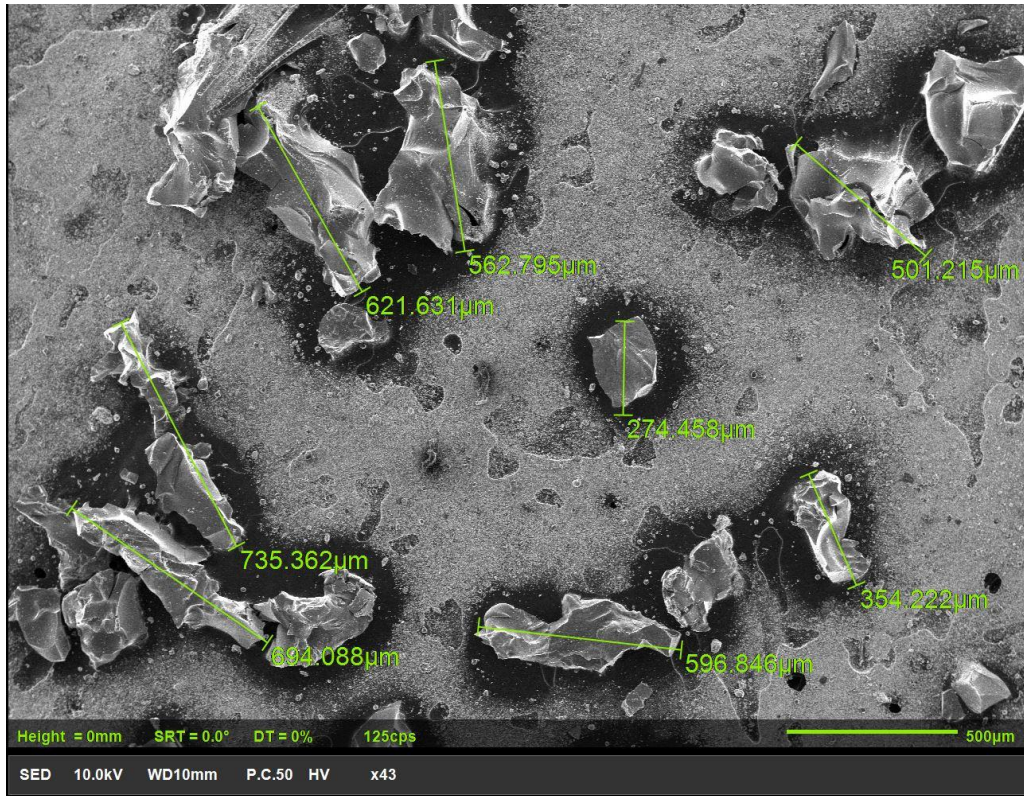


Figura 6-3: Cristales de fotocatalizador compuesto de TiO₂/Fe₃O₄ al 5%
 Realizado por: Urquizo; 2018

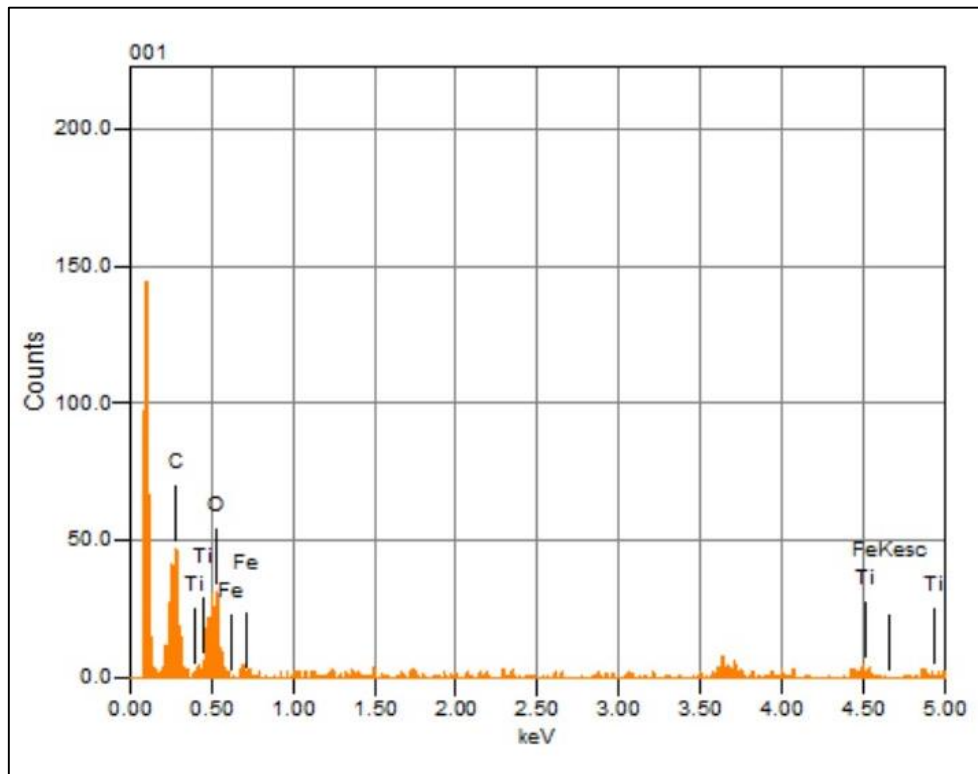


Gráfico 5-3: Composición química del fotocatalizador al 5% de Fe₃O₄
 Realizado por: Urquizo; 2018

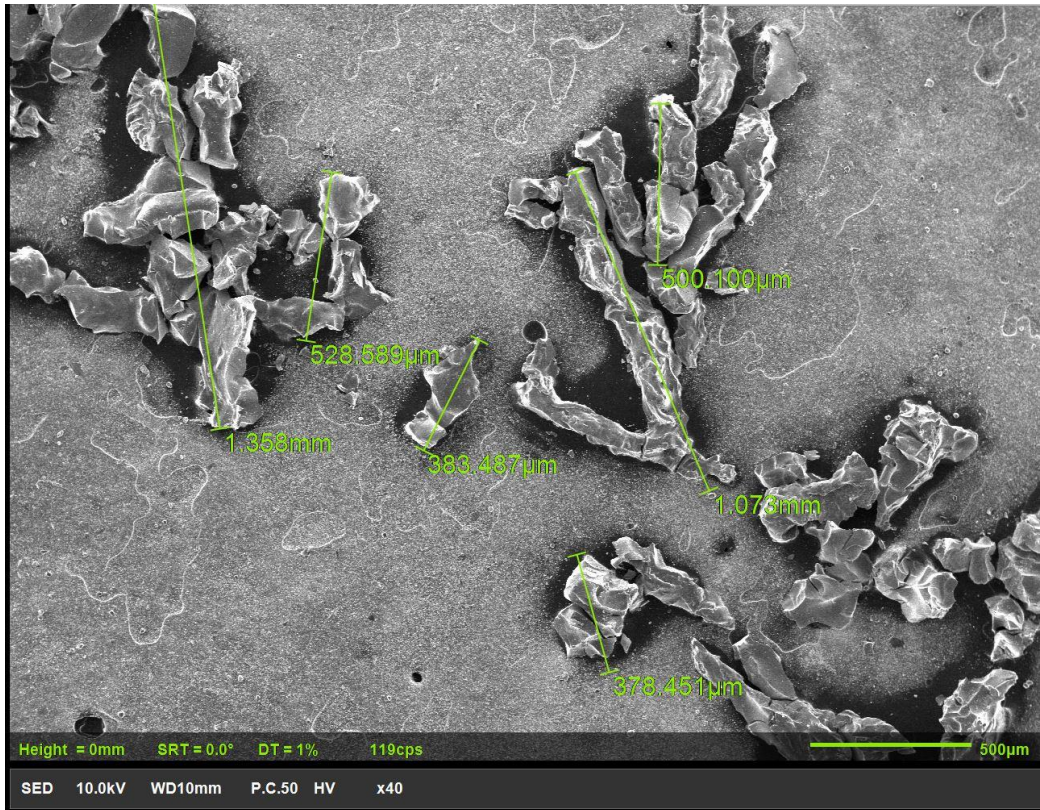


Figura 7-3: Cristales de fotocatalizador compuesto de $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4$ al 10%

Realizado por: Urquizo; 2018

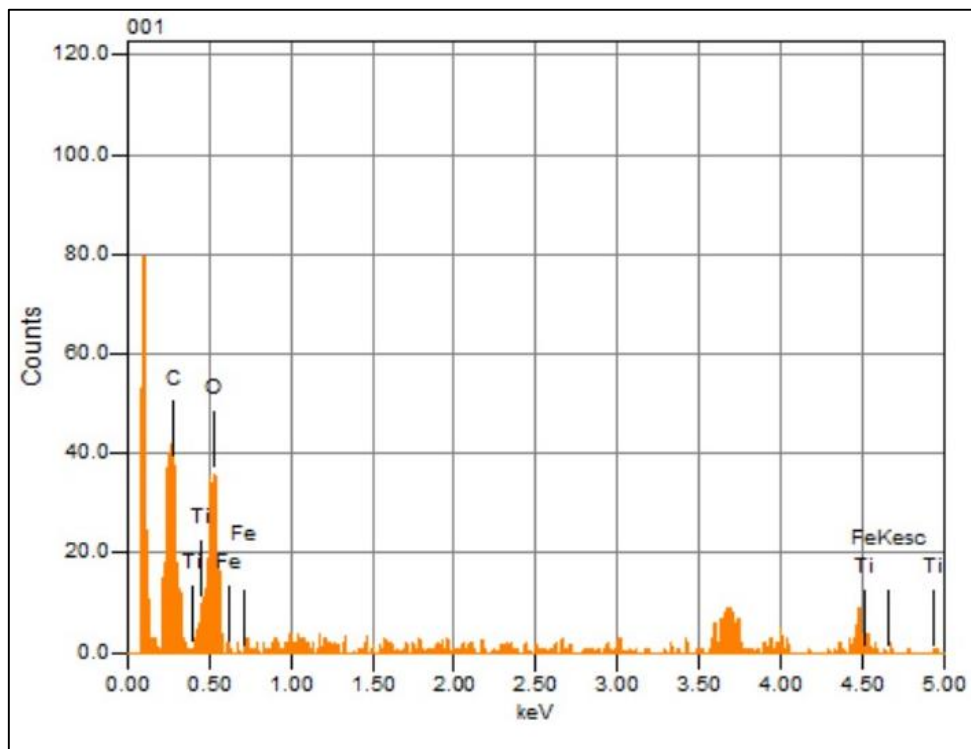


Gráfico 6-3: Composición química del fotocatalizador al 10% de Fe_3O_4

Realizado por: Urquizo; 2018

En las diferentes muestras del fotocatalizador nanocomposito de $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4$ mediante el análisis en el microscopio electrónico SEM con una energía de fotón (HV) de 10 KV, se encontró un porcentaje en masa de 0.12 de Ti y 0.10 de Fe para la muestra del fotocatalizador de $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4$ al 1%, en cambio para la muestra de compuesta por el fotocatalizador de $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4$ al 5% su porcentaje de masa fue de 0.20 de Ti y 0.14 de Fe, y por ultimo para la muestra del fotocatalizador de $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4$ al 10% su porcentaje en masa fue de 0.22 de Ti y 0.17 de Fe. También se halló en la primera muestra (fotocatalizador al 1%) la presencia de Ca, esto se debe a una contaminación relacionada a una muestra de suelo que fue analizada previamente. En tanto el C encontrado en todas las muestras se relaciona con la banda sobre en la que se deposita la muestra en cuestión.

En cuanto al tamaño de los cristales, se obtuvieron cristales demasiado grandes, este crecimiento se debe a que cuándo se realizó el gel propiamente, el periodo de envejecimiento de las partículas fue muy prolongado lo que ocasionó al momento de la calcinación que los cristales crecieran más de lo que se suponía, pero cabe decir que esta particularidad no afecta en nada a la efectividad del fotocatalizador.

3.3. Determinación de la efectividad fotocatalítica

Para determinar la efectividad del fotocatalizador de $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4$ se decidió probarlo en diferentes muestras que contenían 25 ml de agua expuesta a una lámpara UV de 30 watts de potencia la misma que fue previamente contaminada con una cantidad específica de bacterias (0.5 McFarland $\equiv 1.5 \times 10^8$ UFC/ml) y colocadas en un crisol de cuarzo. Para cada tipo de fotocatalizador (1%, 5%, 10%) se agregó a la solución en diferentes concentraciones de 0.5 g/L, 1 g/L para *S.aureus* y 1.5 g/L, 2.5 g/L para *E. coli*, dando los siguientes resultados:

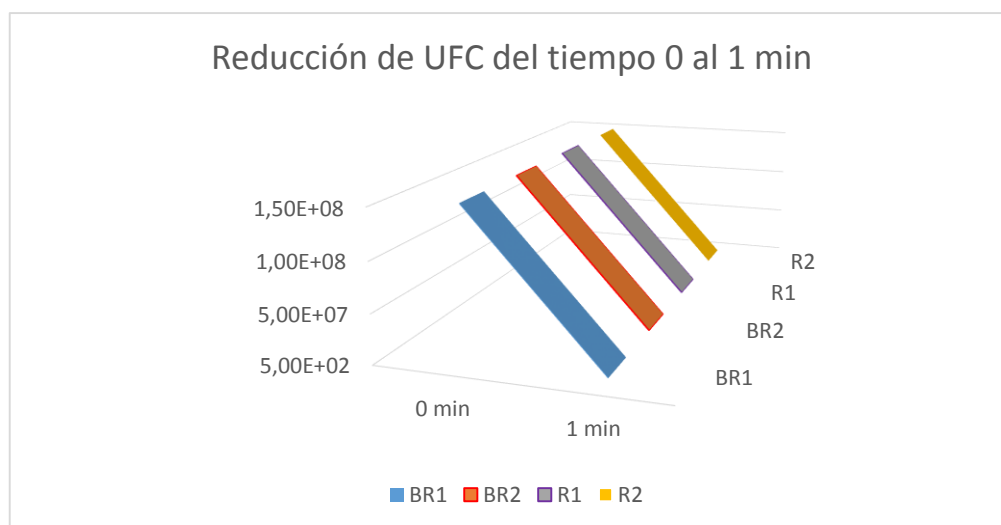


Gráfico 7-3: Reducción de las colonias bacterianas del tiempo 0 a 1 min

Realizado por: Urquizo; 2018

El Gráfico 7-3 muestra la reducción de las colonias bacterianas desde 0 min, es decir desde antes que se realice el proceso de fotocatalisis, hasta 1 minuto de haber transcurrido el experimento. Todas las muestras fueron inoculadas siguiendo la escala de turbidez McFarland (0.5 McFarland) conociendo que las muestras madres contenían 1.5×10^8 UFC/ml, valor que decayó drásticamente.

Tabla 1-3: UFC de *S. aureus* después de la fotocatalisis al 1% sin aireación

Tiempo	Blanco		1%			
			0.5 g/L		1 g/L	
1 min	563	557	412	419	365	362
2 min	528	521	261	247	283	298
3 min	489	493	111	98	26	28
5 min	424	429	21	34	23	19
10 min	331	327	26	23	18	16
15 min	262	254	14	17	15	11
30 min	146	151	7	3	4	5

Realizado por: Urquizo; 2018

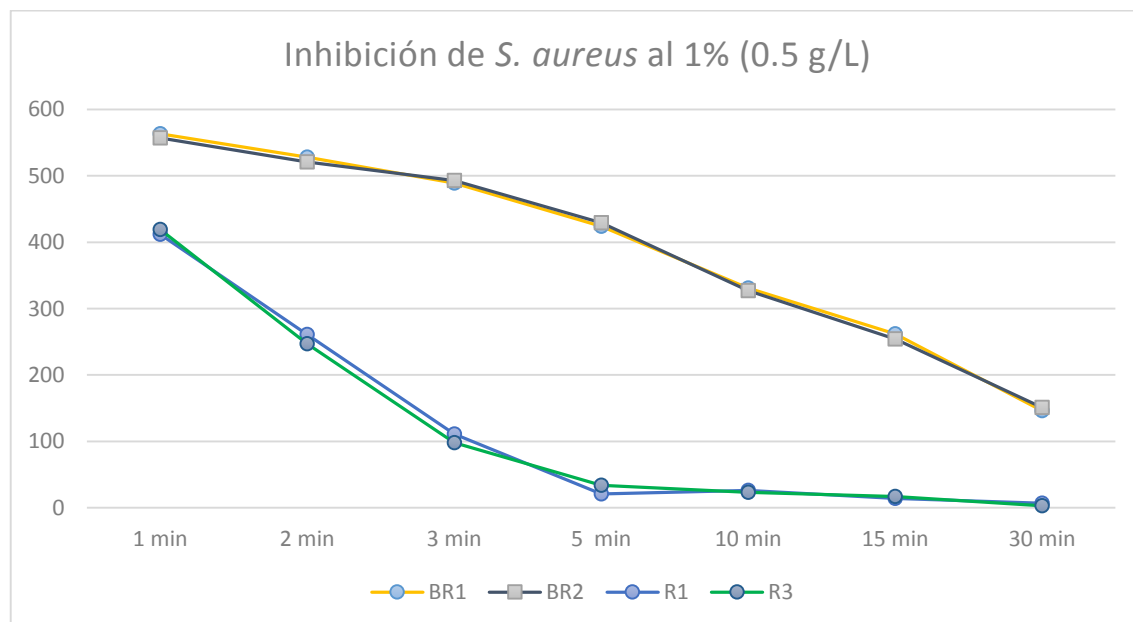


Gráfico 8-3: Inhibición de *S. aureus*: tiempo vs UFC con el fotocatalizador al 1% (0.5 g/L)

Realizado por: Urquizo; 2018

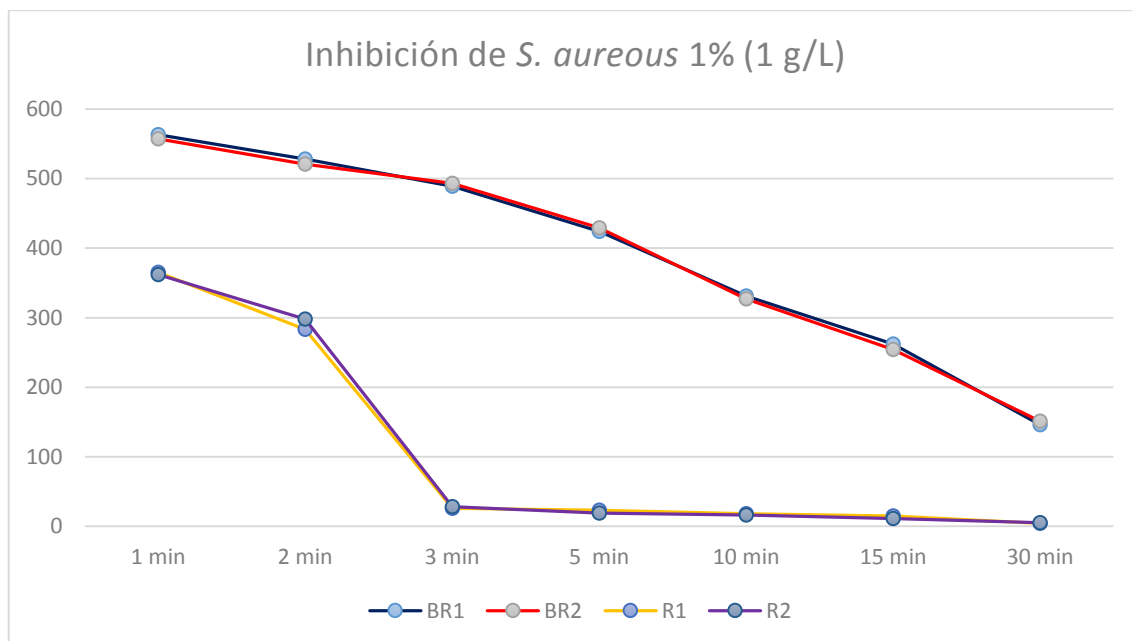


Gráfico 9-3: Inhibición de *S. aureus*: tiempo vs UFC con el fotocatalizador al 1% (1 g/L)

Realizado por: Urquizo; 2018

Los gráficos 8-3 y 9-3 muestran el proceso de inhibición de *S. aureus* cuando fueron sometidos al fotocatalizador de $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4$ (1%); como se puede observar en este caso los blancos (BR1 y BR2) tuvieron mayor concentración de UFC que las repeticiones sometidas al proceso de fotocatalisis. Tal como se esperaba, el proceso de fotocatalisis va inhibiendo la actividad microbiana al pasar el tiempo, pero a las concentraciones de 0.5 g/L y 1 g/L fueron insuficientes para inhibir totalmente a *S. aureus* en un periodo de exposición de 30 minutos aunque el proceso con el fotocatalizador resultó ser más efectivo en comparación con los blancos que fueron expuestos solamente a las luz UV.

Tabla 2-3: UFC de *S. aureus* después de la fotocatalisis al 5% sin aireación

Tiempo	Blanco		5%			
			0.5 g/L		1 g/L	
1 min	563	557	647	653	619	634
2 min	528	521	518	524	210	223
3 min	489	493	439	431	177	161
5 min	424	429	334	328	74	67
10 min	331	327	1	3	11	14
15 min	262	254	0	0	6	4
30 min	146	151	0	0	0	0

Realizado por: Urquizo; 2018

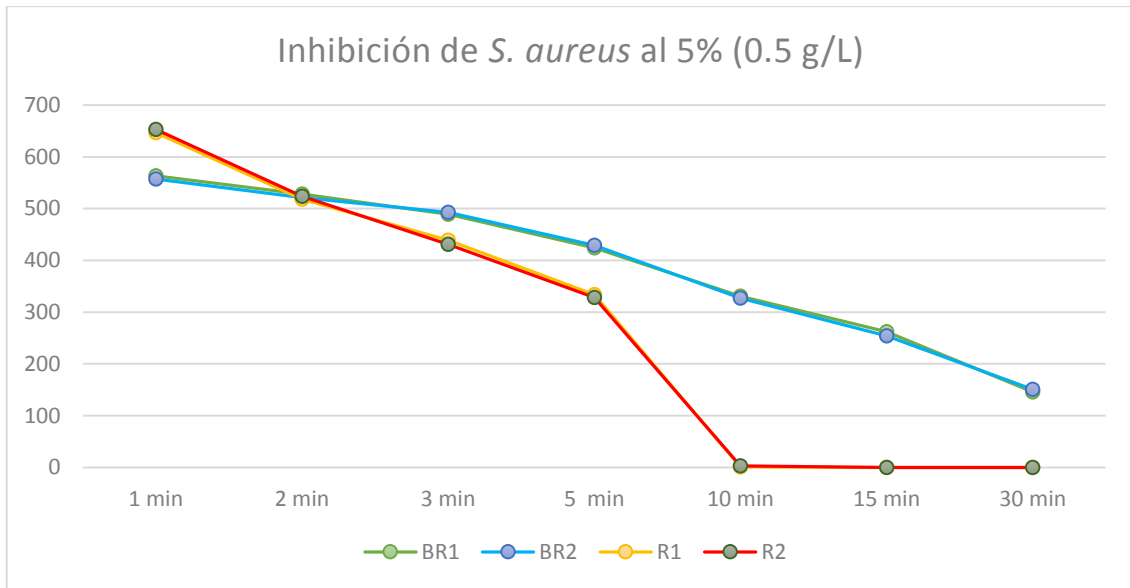


Gráfico 10-3: Inhibición de *S. aureus*: tiempo vs UFC con el fotocatalizador al 5% (0.5 g/L)

Realizado por: Urquizo; 2018

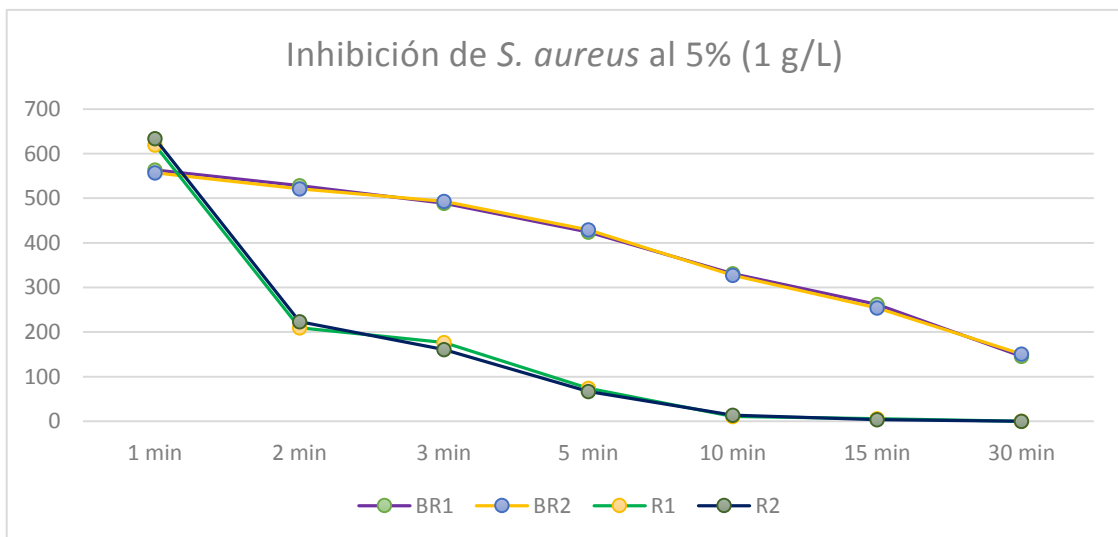


Gráfico 11-3: Inhibición de *S. aureus*: tiempo vs UFC con el fotocatalizador al 5% (1 g/L)

Realizado por: Urquizo; 2018

Como se puede observar en los gráficos 10-3 y 11-3 el proceso de inhibición de las muestras de *S. aureus* al ser sometidas al fotocatalizador de $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4$ con 5% de Fe_3O_4 ; en este caso las UFC pertenecientes a los blancos (BR1 y BR2) fueron menores en comparación con las UFC al iniciar el experimento propiamente dicho (R1 y R2), esto se debe a que en algunos casos las colonias no pudieron ser distribuidas tan uniformemente en la solución madre, pero igualmente este contratiempo no afectó el proceso; se pudo evidenciar inhibición casi total en el experimento a la concentración de 0.5 g/L desde el minuto 10 y en ambos experimentos se dio inhibición total al llegar al tiempo límite de los 30 minutos.

Tabla 3-3: UFC de *S. aureus* después de la fotocatalisis al 10% sin aireación

Tiempo	Blanco		10%			
			0.5 g/L		1 g/L	
1 min	563	557	159	151	178	188
2 min	528	521	163	169	124	127
3 min	489	493	137	129	66	63
5 min	424	429	80	87	41	38
10 min	331	327	26	27	11	13
15 min	262	254	4	3	9	8
30 min	146	151	0	0	0	0

Realizado por: Urquizo; 2018

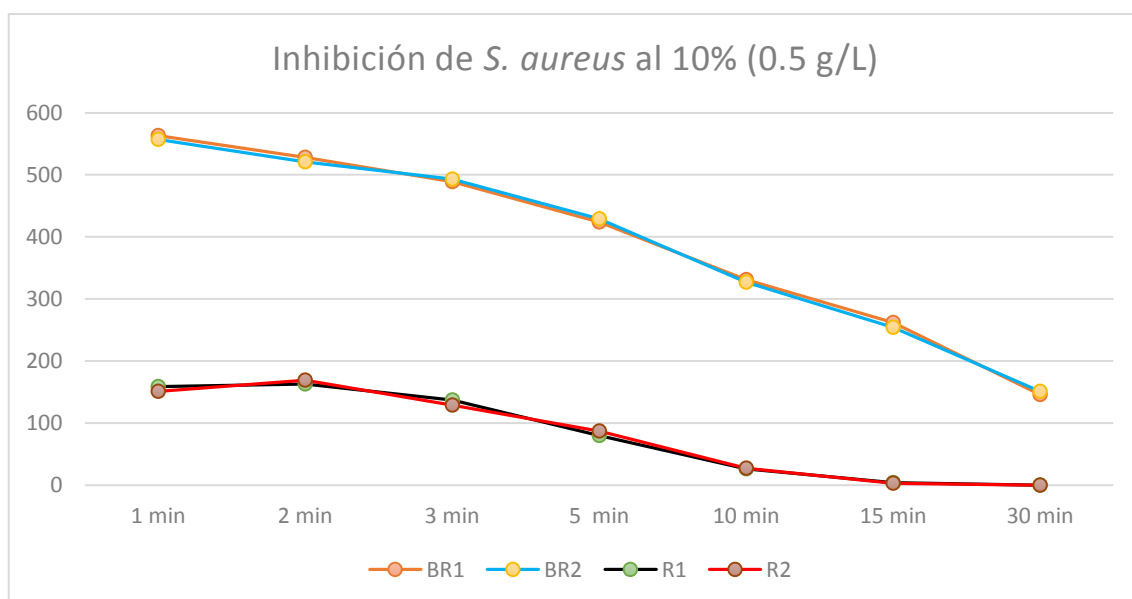


Gráfico 12-3: Inhibición de *S. aureus*: tiempo vs UFC con el fotocatalizador al 10% (0.5 g/L)

Realizado por: Urquizo; 2018

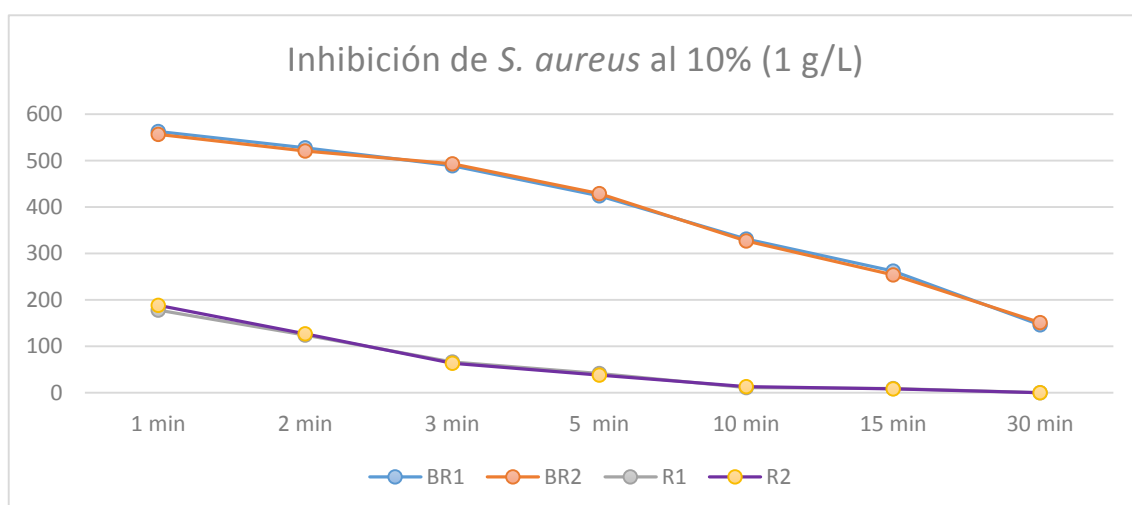


Gráfico 13-3: Inhibición de *S. aureus*: tiempo vs UFC con el fotocatalizador al 10% (1 g/L)

Realizado por: Urquizo; 2018

Los gráficos 12-3 y 13-3 muestran el proceso de inhibición de las muestras de *S. aureus* al ser sometidas al fotocatalizador de $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4$ con 10% de Fe_3O_4 ; este experimento presentó en ambos casos (R1 y R2) UFC mucho más bajas en relación a los blancos, esto se debe a que la muestra inicial de bacterias al ser inoculada en la solución madre (agua estéril) fue más homogénea que la muestra del experimento anterior, en este caso en ambos experimentos se pudo evidenciar inhibición bacteriana ya llegado a los 30 minutos.

Tabla 4-3: UFC de *E.coli* después de la fotocátalisis al 1% sin aireación

Tiempo	Blanco		1%			
			1.5 g/L		2.5 g/L	
1 min	646	651	128	121	115	113
2 min	574	577	113	116	88	85
3 min	518	525	97	94	55	51
5 min	457	453	77	75	27	25
10 min	371	377	34	30	13	16
15 min	286	282	11	14	7	9
30 min	171	168	3	5	0	0

Realizado por: Urquizo; 2018

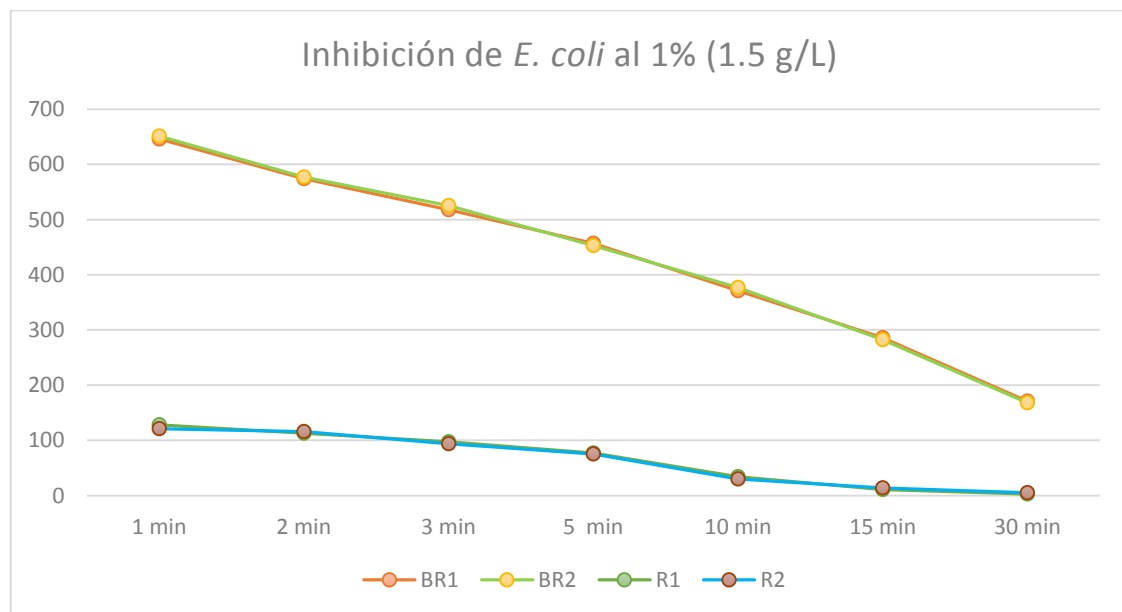


Gráfico 14-3: Inhibición de *E.coli*: tiempo vs UFC con el fotocatalizador al 1% (1.5 g/L)

Realizado por: Urquizo; 2018

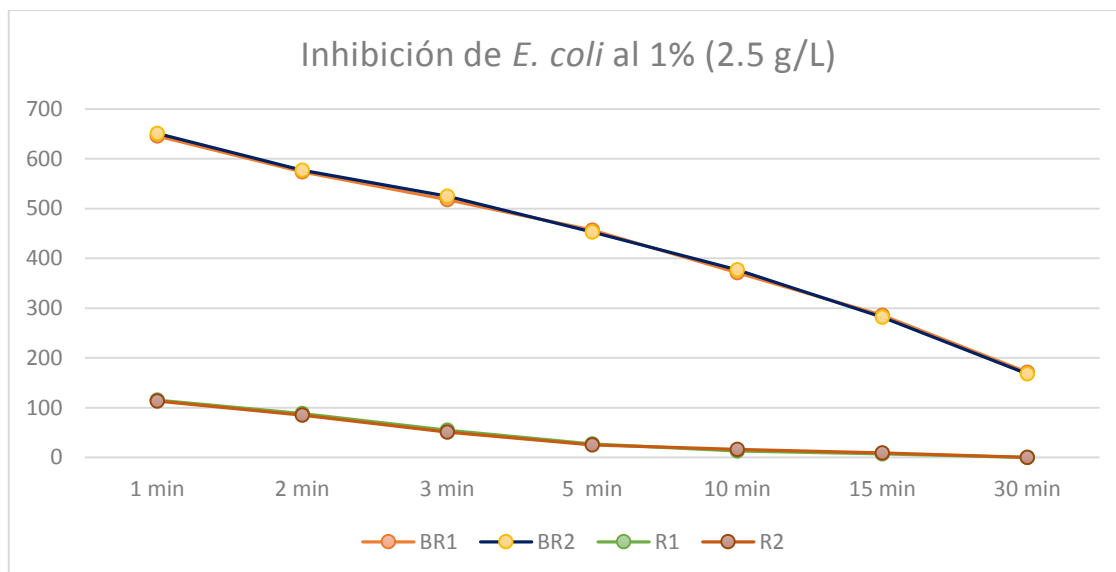


Gráfico 15-3: Inhibición de *E. coli*: tiempo vs UFC con el fotocatalizador al 1% (2.5 g/L)

Realizado por: Urquizo; 2018

Los gráficos 14-3 y 15-3 muestran el proceso de inhibición de las muestras de *E. coli* al ser sometidas al fotocatalizador de TiO_2/Fe_3O_4 con 1% de Fe_3O_4 ; este experimento presentó en ambos casos (R1 y R2) UFC mucho más bajas en relación a los blancos, esto se debe, como a los casos anteriores, a que la muestra inicial de bacterias (BR1 y BR2) al ser inoculada en la solución madre (agua estéril) no fue tan homogénea como se dio el caso es el caso de las repeticiones R1 y R2. En el caso de *E. coli* se decidió trabajar con las mayores concentraciones, es decir 1.5 y 2.5 g/L, debido a que *E. coli* se encuentra mayormente distribuida en aguas contaminadas y ocasiona mayores problemas a la salud humana que *S. aureus*. En este caso se pudo evidenciar que al utilizar la concentración de 1.5 g/L y al 1% de Fe_3O_4 no es suficiente para inhibir totalmente el crecimiento de *E. coli* en un periodo de 30 minutos, pero al utilizar la concentración de 2.5 g/L se dio inhibición total de la bacteria.

Tabla 5-3: UFC de *E. coli* después de la fotocatalisis al 5% sin aireación

Tiempo	Blanco		5%			
			1.5 g/L		2.5 g/L	
1 min	646	651	334	331	119	116
2 min	574	577	219	221	101	104
3 min	518	525	198	187	86	81
5 min	457	453	91	98	66	69
10 min	371	377	53	65	41	37
15 min	286	282	23	20	14	18
30 min	171	168	0	0	0	0

Realizado por: Urquizo; 2018

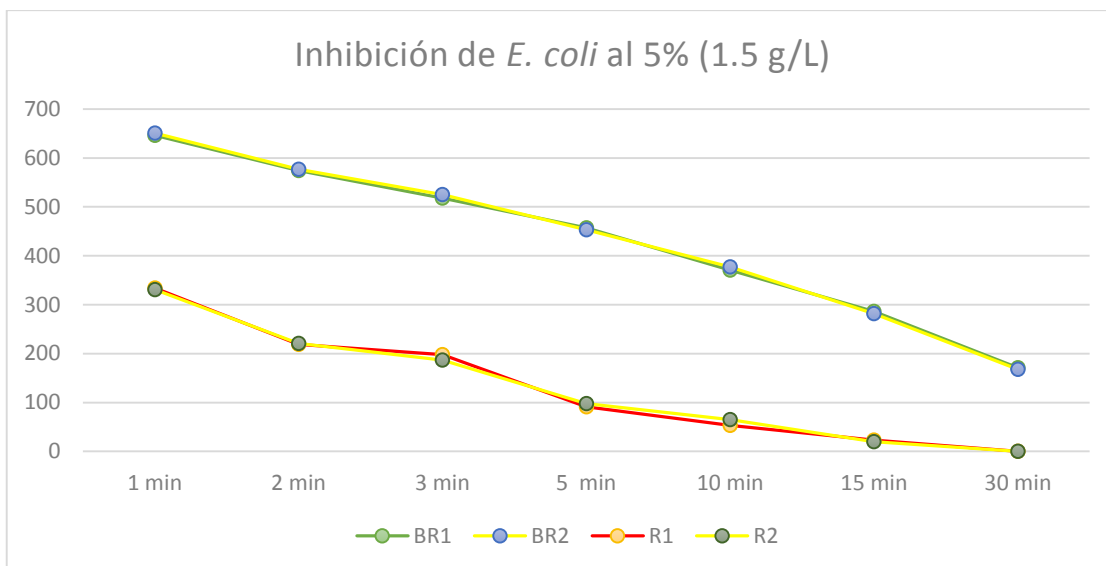


Gráfico 16-3: Inhibición de *E.coli*: tiempo vs UFC con el fotocatalizador al 5% (1.5 g/L)

Realizado por: Urquizo; 2018

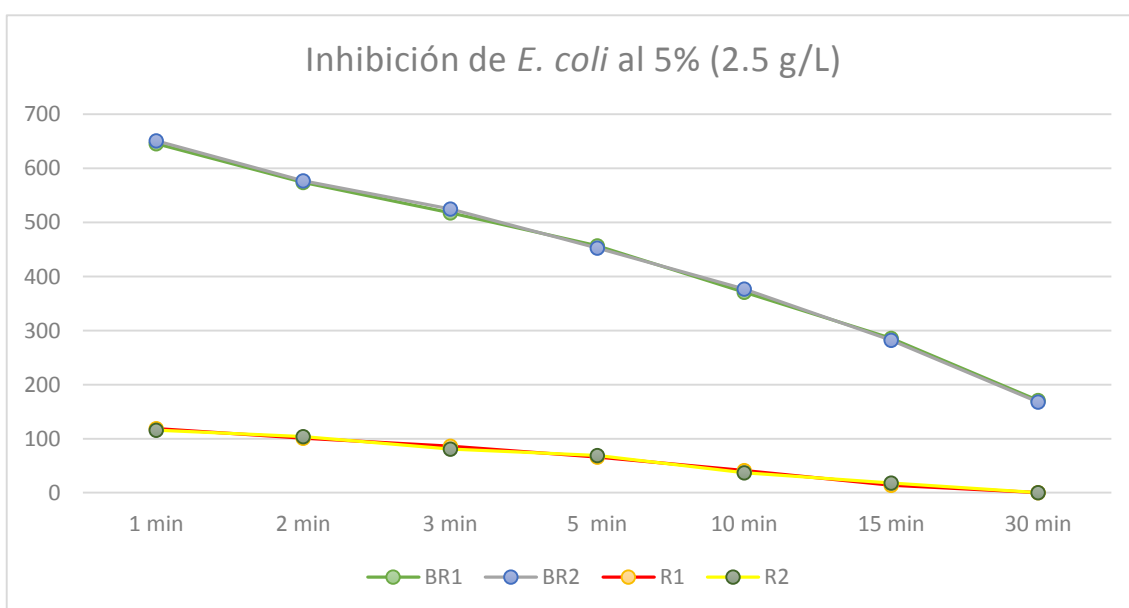


Gráfico 17-3: Inhibición de *E.coli*: tiempo vs UFC con el fotocatalizador al 5% (2.5 g/L)

Realizado por: Urquizo; 2018

Los gráficos 16-3 y 17-3 muestran el proceso de inhibición de las muestras de *E. coli* al ser sometidas al fotocatalizador de $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4$ con 5% de Fe_3O_4 ; este experimento presentó diferentes conteos de UFC en las concentraciones de 1.5 g/L y 2.5 g/L, esto se debe, como es explicado anteriormente, al grado de homogenización de las colonias en la solución madre, el caso es igual con relación a la muestras BR1 y BR2 de ambos experimentos. Igualmente este experimento resultó ser exitoso debido a que las cepas de *E. coli* fueron inhibidas a los 30 minutos.

Tabla 6-3: UFC de *E.coli* después de la fotocatalisis al 10% sin aireación

Tiempo	Blanco		10%			
			1.5 g/L		2.5 g/L	
1 min	646	651	618	621	672	679
2 min	574	577	579	585	634	626
3 min	518	525	174	168	118	123
5 min	457	453	63	68	20	24
10 min	371	377	17	15	7	10
15 min	286	282	10	7	3	1
30 min	171	168	0	0	0	0

Realizado por: Urquizo; 2018

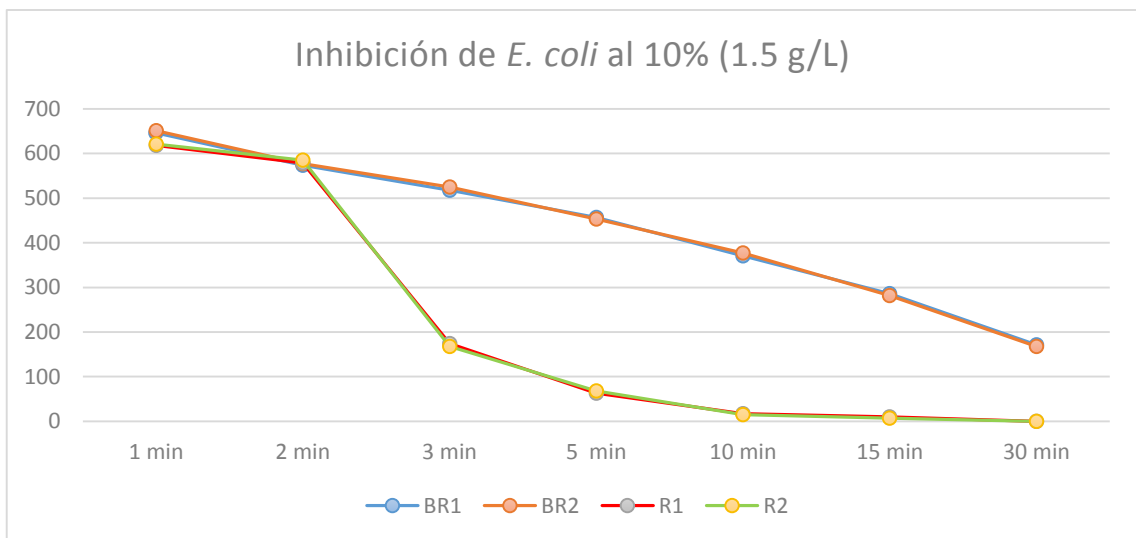


Gráfico 18-3: Inhibición de *E.coli*: tiempo vs UFC con el fotocatalizador al 10% (1.5 g/L)

Realizado por: Urquizo; 2018

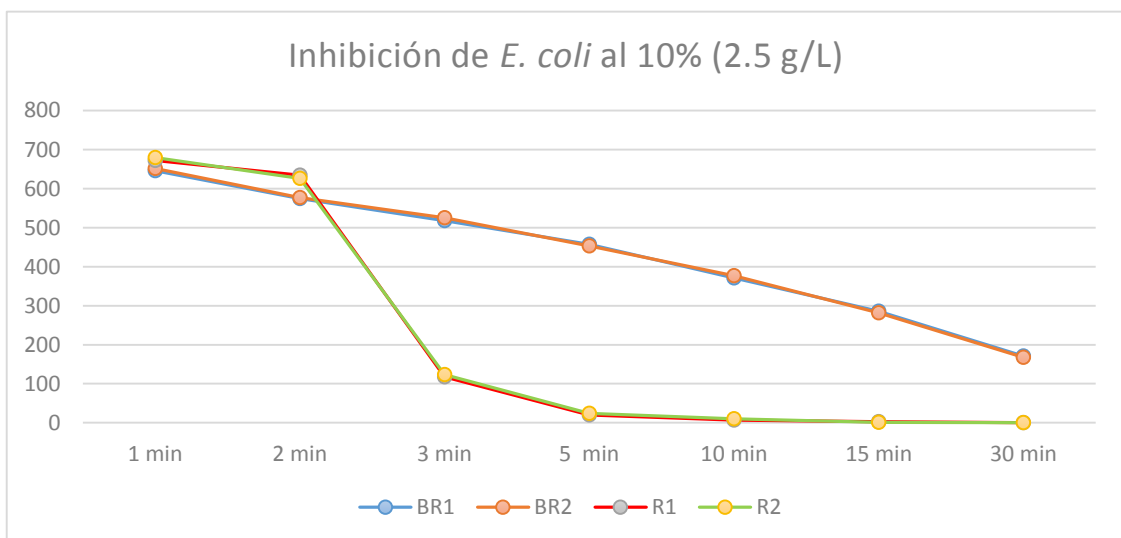


Gráfico 19-3: Inhibición de *E.coli*: tiempo vs UFC con el fotocatalizador al 10% (2.5 g/L)

Realizado por: Urquizo; 2018

Los gráficos 18-3 y 19-3 muestran el proceso de inhibición de las muestras de *E.coli* al ser sometidas al fotocatalizador con 10% de Fe_3O_4 ; en este caso las muestras iniciales en ambos experimentos presentaron cierta correlación con los blancos al empezar el proceso de fotocátalisis y así mismo se evidenció una disminución rápida en el crecimiento de *E.coli*, como se puede observar en los gráficos, el decrecimiento de UFC más significativo ocurrió a partir de los 3 minutos en ambos procesos hasta que el conteo de UFC de la bacteria en cuestión fue nulo.

Tabla 7-3: UFC de *S.aureus* después de la fotocátalisis al 1% con aireación

Tiempo	Blanco		1%			
			0.5 g/L		1 g/L	
1 min	628	623	638	645	538	546
2 min	598	591	619	617	471	468
3 min	553	555	548	546	424	415
5 min	511	507	492	504	203	211
10 min	478	481	331	327	144	147
15 min	395	387	267	263	116	119
30 min	214	209	134	139	83	81

Realizado por: Urquizo; 2018

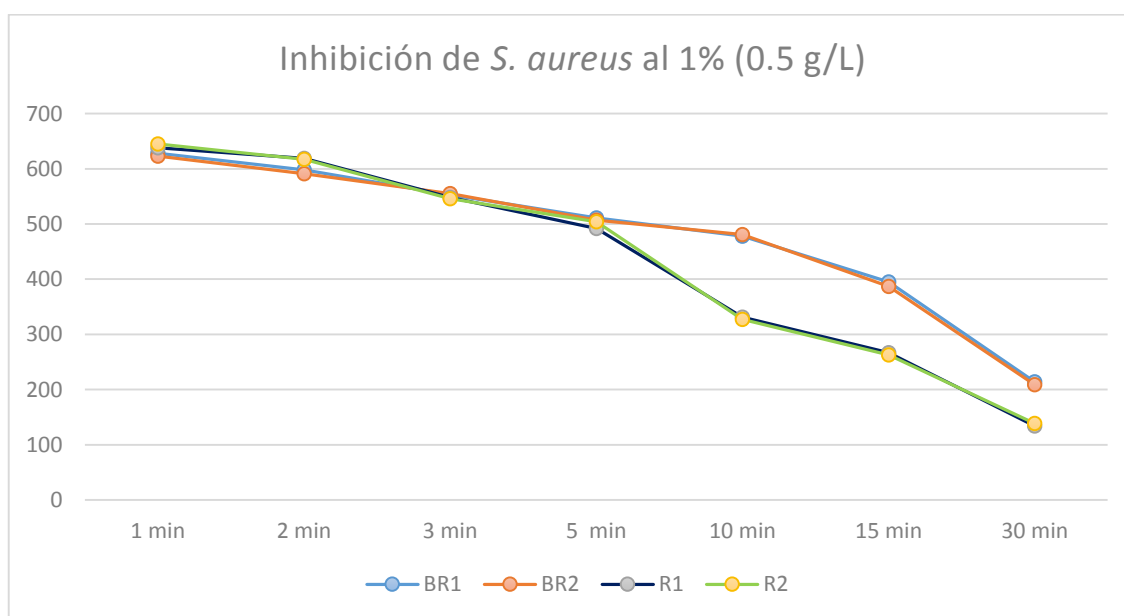


Gráfico 20-3: Inhibición de *S. aureus*: tiempo vs UFC con el fotocatalizador al 1% (0.5 g/L) al suministrar aireación.

Realizado por: Urquizo; 2018

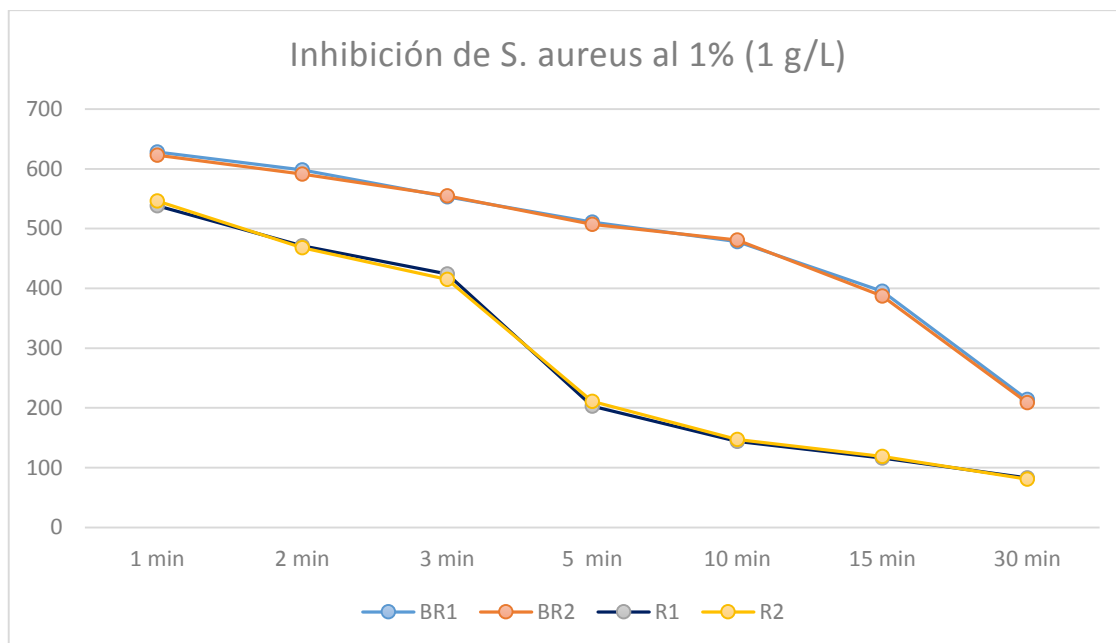


Gráfico 21-3: Inhibición de *S. aureus*: tiempo vs UFC con el fotocatalizador al 1% (1 g/L) al suministrar aireación.

Realizado por: Urquizo; 2018

Los gráficos 20-3 y 21-3 muestran el proceso de inhibición de las muestras de *S. aureus* al ser sometidas al fotocatalizador de $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4$ con 1% de Fe_3O_4 con aireación; en relación a la uniformidad del número de colonias pertenecientes a los blancos (BR1 y BR2) con las repeticiones al comienzo del experimento fueron muy parecidas, evidenciándose en los dos experimentos decrecimientos de UFC, pero a diferencia de su contraparte sin aireación, no se pudo evidenciar una gran disminución de UFC en los 30 minutos del proceso de fotocatalisis, siendo el porcentaje de inhibición para la concentración de 0.5 g/L de R1: 95.6% y R2: 95.43%, y para la concentración de 1 g/L de R1: 95.8% y R2: 95.9%; este patrón se repite en la totalidad de los experimentos como se muestra a continuación.

Tabla 8-3: UFC de *S. aureus* después de la fotocatalisis al 5% con aireación

Tiempo	Blanco		5%			
			0.5 g/L		1 g/L	
1 min	628	623	461	463	184	186
2 min	598	591	427	421	173	171
3 min	553	555	379	382	177	181
5 min	511	507	221	226	126	122
10 min	478	481	114	111	81	84
15 min	395	387	84	89	68	61
30 min	214	209	24	29	26	21

Realizado por: Urquizo; 2018

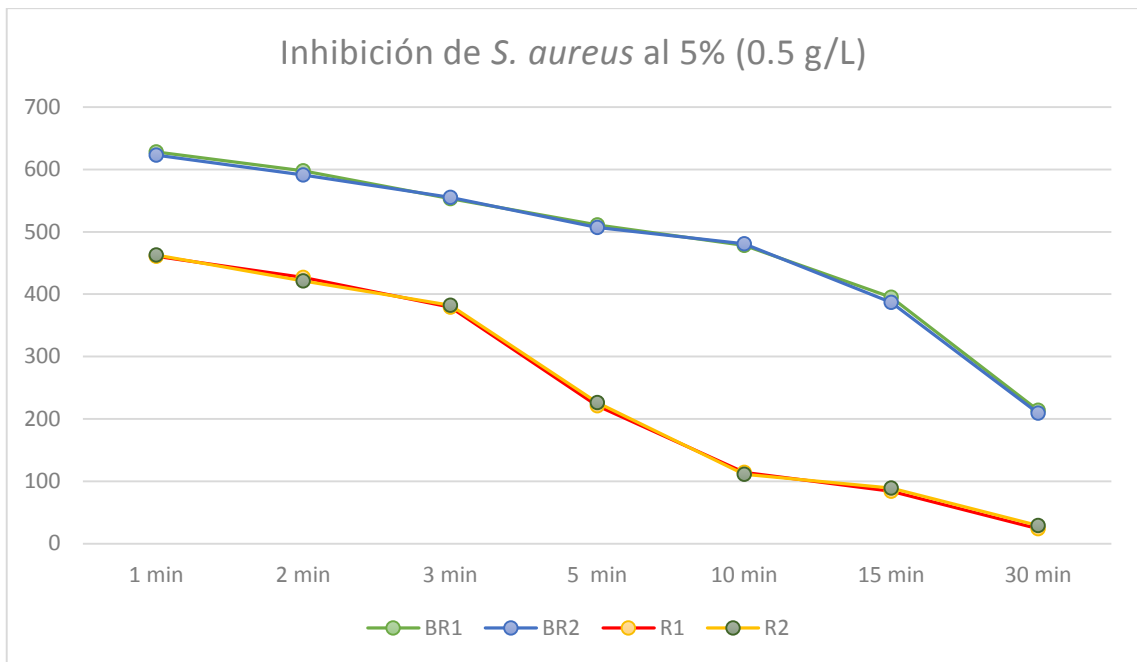


Gráfico 22-3: Inhibición de *S. aureus*: tiempo vs UFC con el fotocatalizador al 5% (0.5 g/L) al suministrar aireación.

Realizado por: Urquizo; 2018

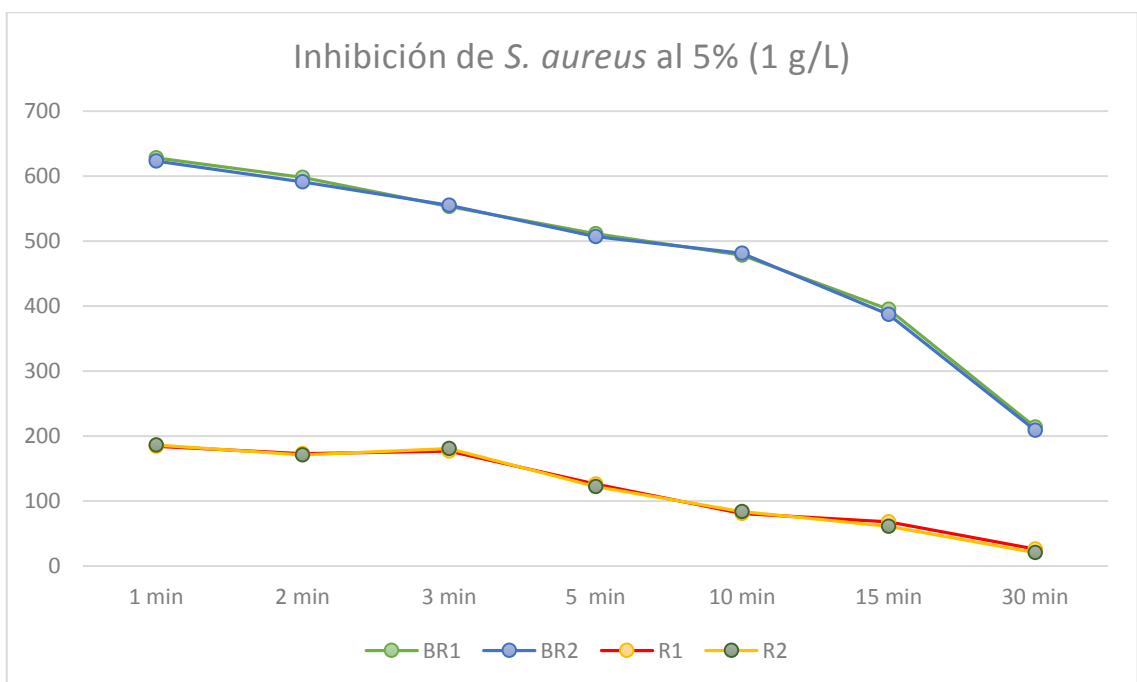


Gráfico 23-3: Inhibición de *S. aureus*: tiempo vs UFC con el fotocatalizador al 5% (1 g/L) al suministrar aireación.

Realizado por: Urquizo; 2018

Los gráficos 22-3 y 23-3 muestran el proceso de inhibición de las muestras de *S. aureus* al ser sometidas al fotocatalizador de $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4$ con 5% de Fe_3O_4 con aireación; en este caso las UFC pertenecientes a las repeticiones R1 y R2 son menores en comparación a las UFC de los blancos BR1 y BR2 debido a que en ambos casos, en especial la muestra sometida a la concentración de 0.5 g/L, fueron distribuidas en la solución madre más homogéneamente que los blancos. Al observar los gráficos se puede determinar que existió una disminución significativa en el crecimiento de *S.aureus* en el minuto 10 pero al llegar el minuto 30 el crecimiento no cesó por completo, siendo el porcentaje de inhibición para la concentración de 0.5 g/L de R1: 98.6% y R2: 98.3%, y para la concentración de 1 g/L de R1: 96.89% y R2: 97.46%.

Tabla 9-3: UFC de *S. aureus* después de la fotocatalisis al 10% con aireación

Tiempo	Blanco		10%			
			0.5 g/L		1 g/L	
1 min	628	623	193	196	181	188
2 min	598	591	176	171	162	158
3 min	553	555	165	163	142	148
5 min	511	507	122	126	113	117
10 min	478	481	78	83	65	61
15 min	395	387	33	27	26	22
30 min	214	209	13	15	11	10

Realizado por: Urquizo; 2018

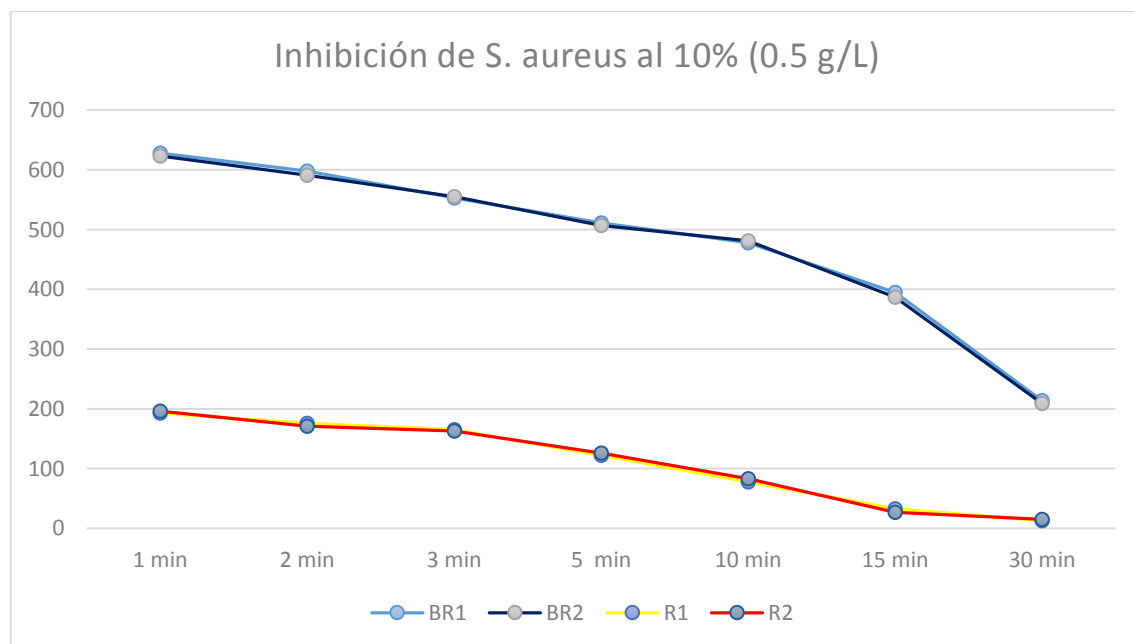


Gráfico 24-3: Inhibición de *S. aureus*: tiempo vs UFC con el fotocatalizador al 10% (0.5 g/L) al suministrar aireación.

Realizado por: Urquizo; 2018

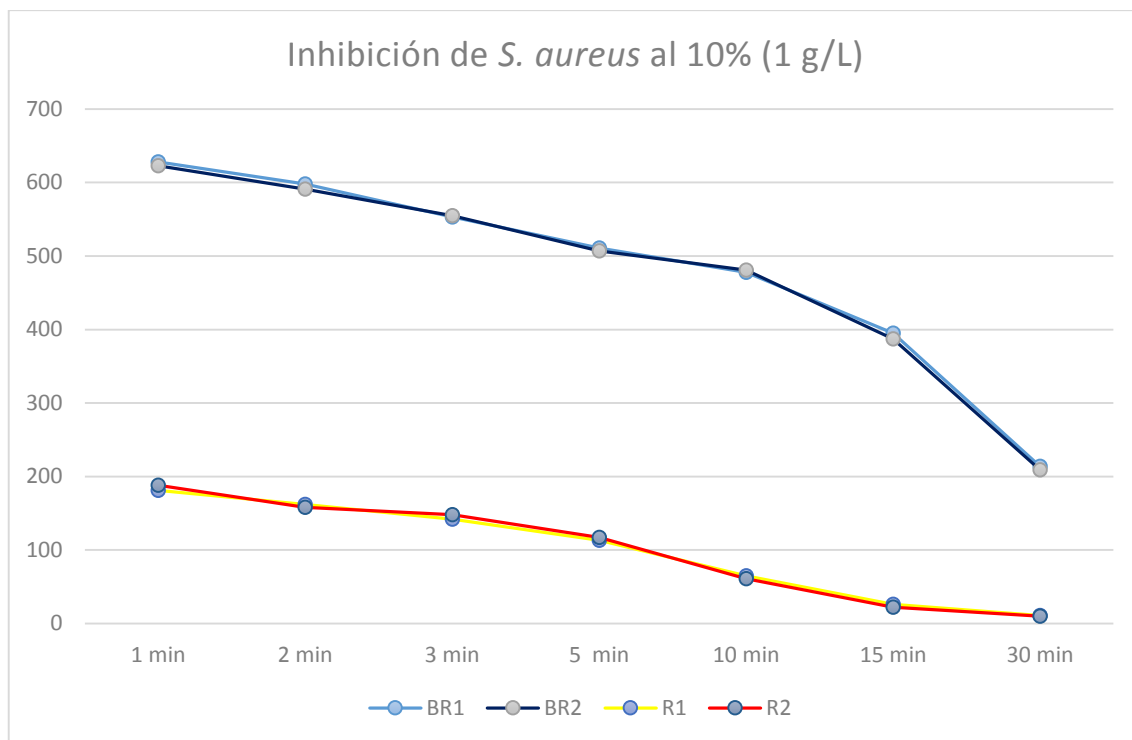


Gráfico 25-3: Inhibición de *S. aureus*: tiempo vs UFC con el fotocatalizador al 10% (1 g/L) al suministrar aireación.

Realizado por: Urquizo; 2018

Los gráficos 24-3 y 25-3 muestran el proceso de inhibición de las muestras de *S. aureus* al ser sometidas al fotocatalizador de $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4$ con 10% de Fe_3O_4 con aireación; igualmente como el caso anterior las UFC iniciales de ambos experimentos indican que la muestra inicial de la bacteria en cuestión fue distribuida más homogéneamente que las muestra inicial utilizada para el blanco; en este caso se podría decir que casi se logra la inhibición completa de *S. aureus*, siendo el porcentaje de inhibición para la concentración de 0.5 g/L de R1: 98.33% y R2: 98.08%, y para la concentración de 1 g/L de R1: 98.43% y R2: 98.58%, pero en casos de agua potable es preferible que la presencia de esta bacteria sea nula debido a los diferentes problemas que puede ocasionar a la salud humana.

En cualquier caso los resultados de la experimentación de la fotocatalisis al aplicar aireación no fueron los esperados, a pesar de que en el experimento sin oxigenación no se dio una inhibición completa con el fotocatalizador al 1%, pero en todos los experimentos realizados posteriormente tampoco se evidencia una inhibición total; se sabe con certeza que la aireación es un proceso que ayuda a mejorar la calidad de las aguas y en el proceso de fotocatalisis el oxígeno actúa como aceptor de electrones generándose el radical superóxido, promotor de más radicales hidroxilos responsables de la inhibición bacteriana, por otro lado, una aireación controlada permite la continua suspensión del catalizador en la disolución lo que favorece a una degradación más

homogénea (Garcés, et al., 2004), dicho esto se podría decir que el proceso en estos casos no fue muy favorable debido a una simple observación que fue notada en el transcurso de la fotocatalisis, el recipiente que contenía la solución madre no era lo suficientemente grande; el momento de la realización del experimento se presentaron diversas dificultades con respecto a la turbulencia generada en la solución madre tanto por la agitación como por la aireación suministrada al medio, lo que originó que la mayor parte del fotocatalizador se asentara en la parte baja sin espacio suficiente para moverse libremente por el sustrato afectando el proceso de fotocatalisis.

Tabla 10-3: UFC de *E. coli* después de la fotocatalisis al 1% con aireación

Tiempo	Blanco		1%			
			1.5 g/L		2.5 g/L	
1 min	557	561	619	608	657	651
2 min	514	519	596	594	621	627
3 min	498	495	563	568	544	552
5 min	457	453	498	505	476	472
10 min	382	385	214	217	379	386
15 min	291	288	107	112	94	88
30 min	184	179	58	55	33	35

Realizado por: Urquizo; 2018

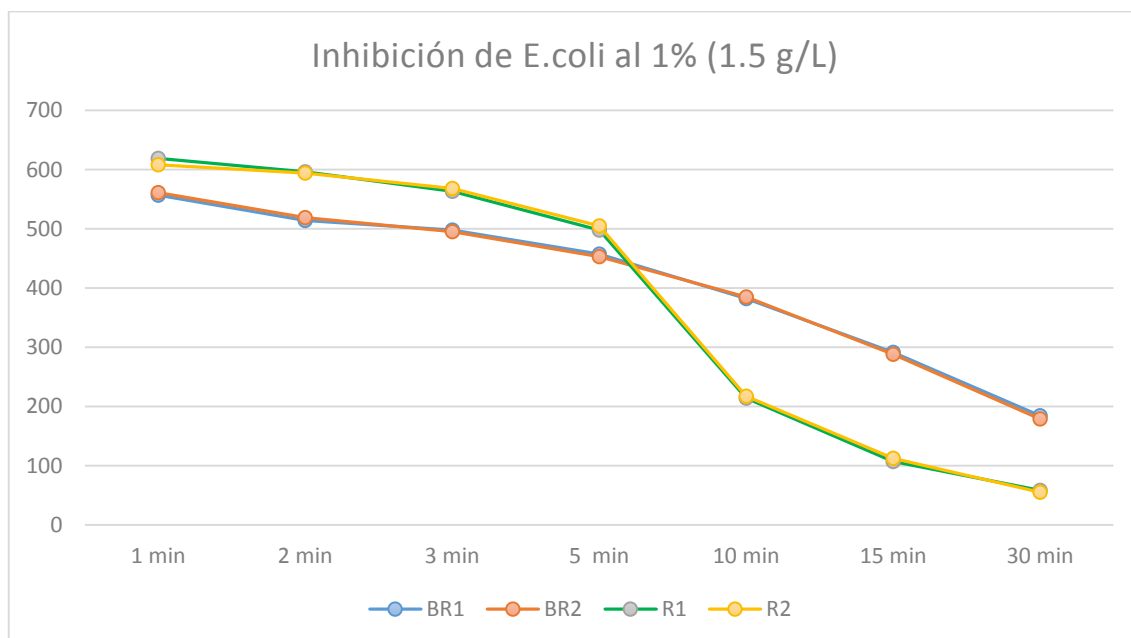


Gráfico 26-3: Inhibición de *E. coli*: tiempo vs UFC con el fotocatalizador al 1% (1.5 g/L) al suministrar aireación.

Realizado por: Urquizo; 2018

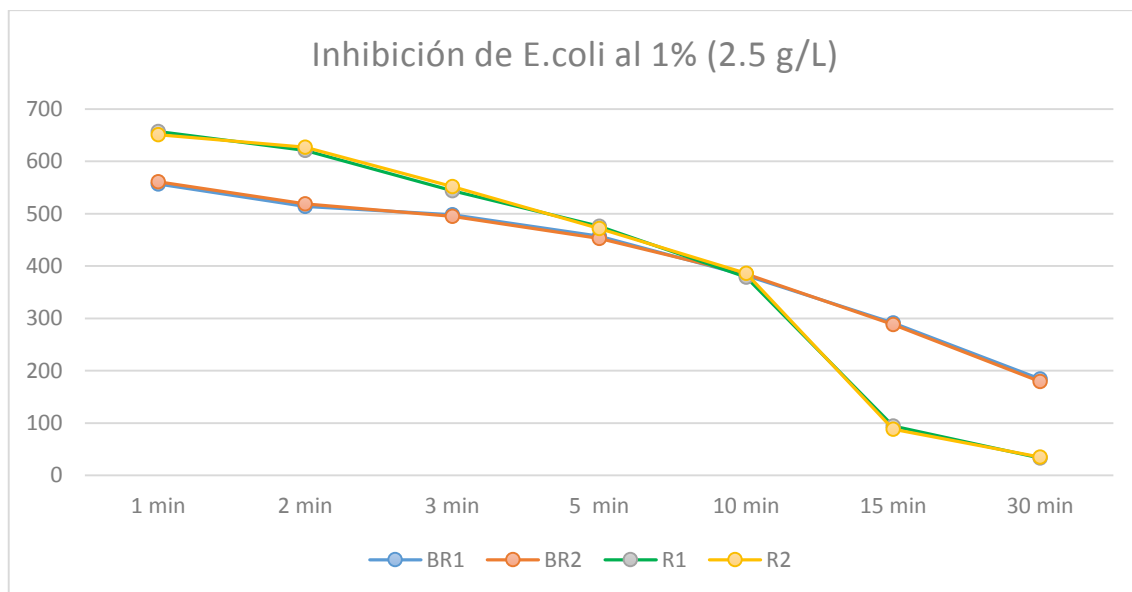


Gráfico 27-3: Inhibición de *E.coli*: tiempo vs UFC con el fotocatalizador al 1% (2.5 g/L) al suministrar aireación.

Realizado por: Urquizo; 2018

Los gráficos 26-3 y 27-3 muestran el proceso de inhibición de las muestras de *E.coli* al ser sometidas al fotocatalizador de $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4$ con 1% de Fe_3O_4 con aireación; en este caso se evidenció que las UFC pertenecientes a las repeticiones en ambos experimentos (R1 y R2) fueron mayores con respecto a los blancos (BR1 y BR2), esto se debe al igual que los experimentos anteriores a que la muestra de bacterias inoculada en la solución madre no fue distribuida tan homogéneamente; también se puede observar claramente que a pesar de haber cierta inhibición en el crecimiento de la bacteria el proceso falló en este caso a inhibirla completamente debido a las razones expuestas anteriormente. Siendo el porcentaje de inhibición para la concentración de 1.5 g/L de R1: 97.8% y R2: 98.93%, y para la concentración de 2.5 g/L de R1: 98.8% y R2: 98.8%.

Tabla 11-3: UFC de *E. coli* después de la fotocatalisis al 5% con aireación

Tiempo	Blanco		5%			
			1.5 g/L		2.5 g/L	
1 min	557	561	631	635	554	551
2 min	514	519	511	513	473	478
3 min	498	495	426	432	419	423
5 min	457	453	265	261	238	232
10 min	382	385	123	125	194	197
15 min	291	288	47	43	157	161
30 min	184	179	22	25	18	16

Realizado por: Urquizo; 2018

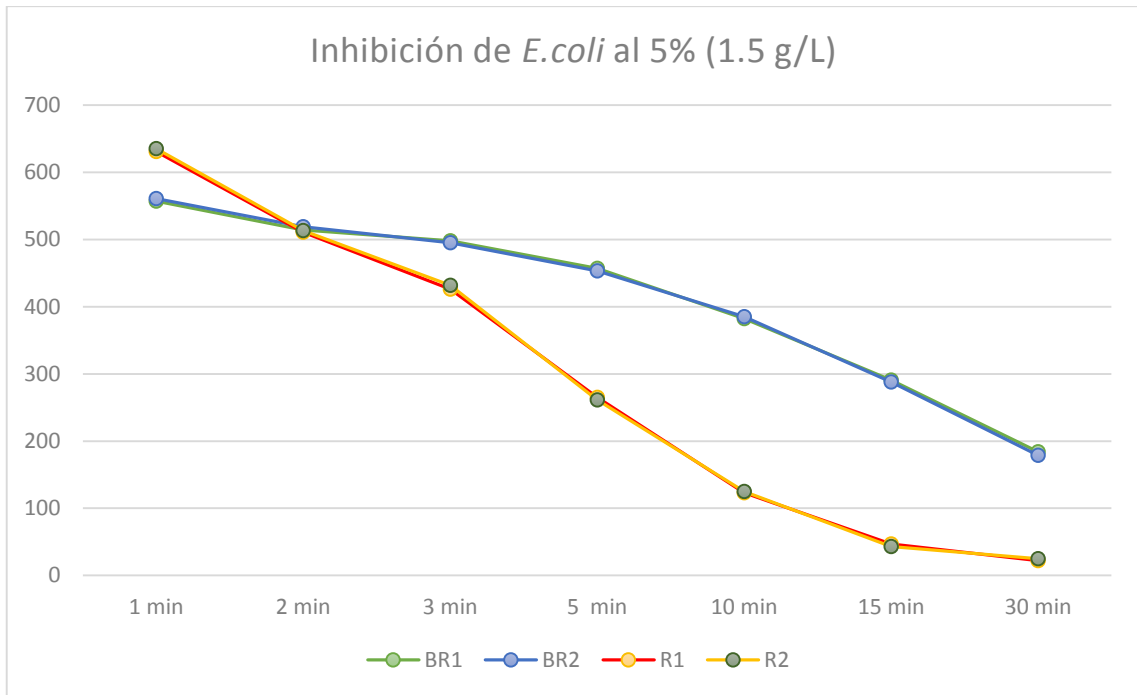


Gráfico 28-3: Inhibición de *E.coli*: tiempo vs UFC con el fotocatalizador al 5% (1.5 g/L) al suministrar aireación.

Realizado por: Urquizo; 2018

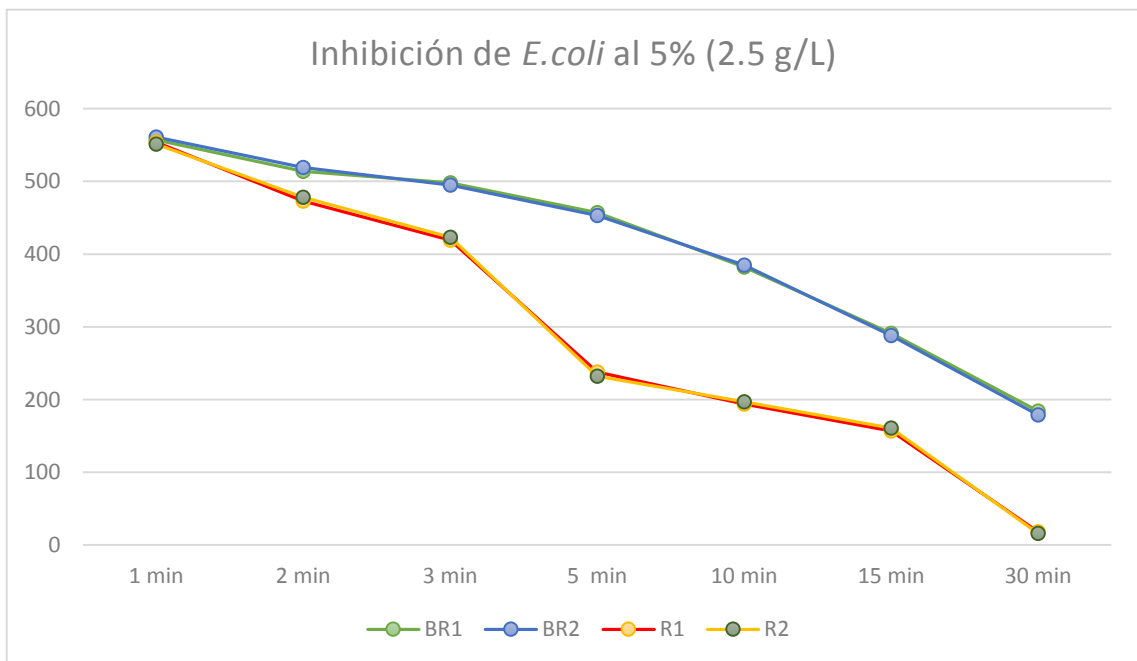


Gráfico 29-3: Inhibición de *E.coli*: tiempo vs UFC con el fotocatalizador al 5% (2.5 g/L) al suministrar aireación.

Realizado por: Urquizo; 2018

Los gráficos 28-3 y 29-3 muestran el proceso de inhibición de las muestras de *E.coli* al ser sometidas al fotocatalizador de TiO_2/Fe_3O_4 con 5% de Fe_3O_4 con aireación; en el caso de las repeticiones a la concentración de 1.5 g/L fueron mayores a los blancos, igualmente se debe a que la muestra inicial de *E. coli* no fue distribuida tan homogéneamente, el caso contrario ocurre para las repeticiones realizadas a la concentración de 2.5 g/L. En los dos experimentos se evidenció un alto grado de inhibición del crecimiento bacteriano pero no se logró una inhibición completa. Siendo el porcentaje de inhibición para la concentración de 1.5 g/L de R1: 98.9% y R2: 98.8%, y para la concentración de 2.5 g/L de R1: 99.12% y R2: 99.22%.

Tabla 12-3: UFC de *E. coli* después de la fotocátalisis al 10% con aireación

Tiempo	Blanco		10%			
			1.5 g/L		2.5 g/L	
1 min	557	561	178	184	319	323
2 min	514	519	144	141	152	159
3 min	498	495	107	112	128	121
5 min	457	453	76	79	47	53
10 min	382	385	43	48	26	24
15 min	291	288	17	14	12	18
30 min	184	179	9	7	3	6

Realizado por: Urquizo; 2018

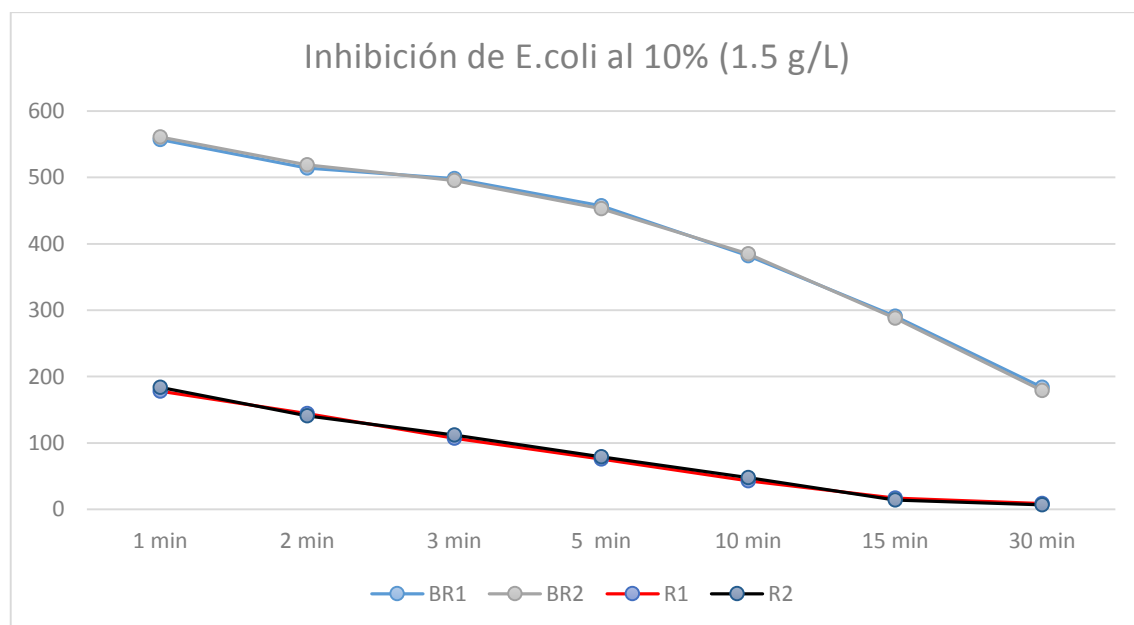


Gráfico 30-3: Inhibición de *E.coli*: tiempo vs UFC con el fotocatalizador al 10% (1.5 g/L) al suministrar aireación.

Realizado por: Urquizo; 2018

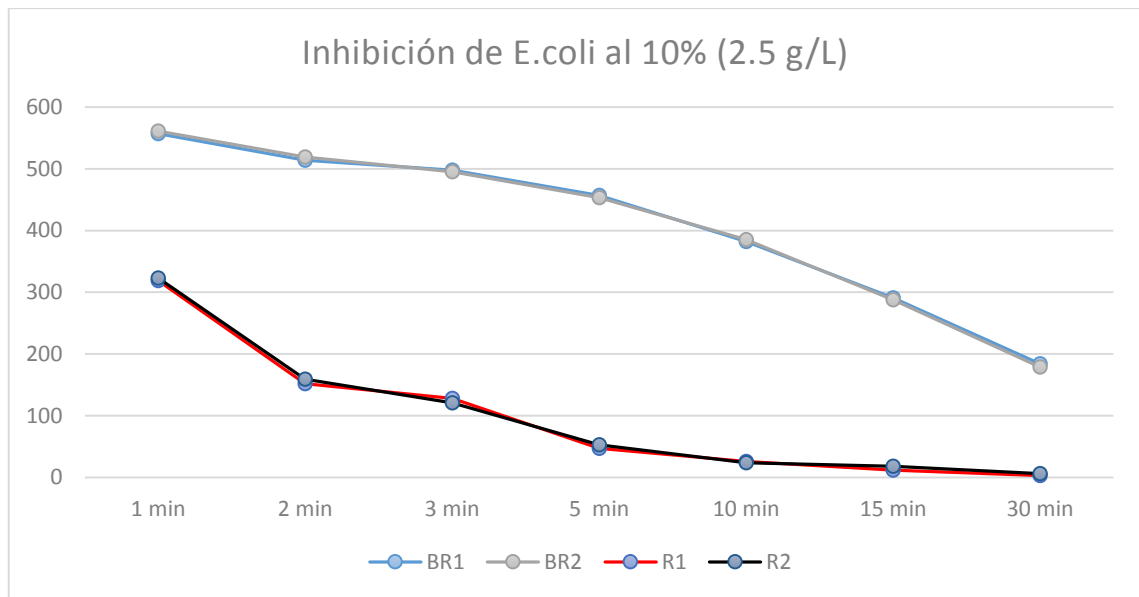


Gráfico 31-3: Inhibición de *E. coli*: tiempo vs UFC con el fotocatalizador al 10% (2.5 g/L) al suministrar aireación.

Realizado por: Urquizo; 2018

Los gráficos 30-3 y 31-3 muestran el proceso de inhibición de las muestras de *E. coli* al ser sometidas al fotocatalizador de $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4$ con 10% de Fe_3O_4 con aireación; se puede observar claramente que las repeticiones a ambas concentraciones poseen valores menores que sus blancos, obviamente se homogenizó mejor la muestra de bacterias en la solución madre. A pesar de que en estos experimentos fueron tratados al mayor porcentaje como a las mayores concentraciones, no se dio una inhibición total del crecimiento bacteriano. Siendo el porcentaje de inhibición para la concentración de 1.5 g/L de R1: 98.43% y R2: 98.8%, y para la concentración de 2.5 g/L de R1: 99.56% y R2: 99.15%.

- **Discusión final de los resultados procedentes de la inhibición bacteriana**

Aunque el proceso de la fotocatalisis en la parte final de la experimentación arrojó resultados favorables, no fue el más óptimo debido a que las cepas bacterianas en cuestión no fueron inhibidas en su totalidad lo que a su vez significa que el agua en cuestión no es apta para su consumo ya que en el caso de *E. coli* puede provocar patologías gastrointestinales graves, como diarreas sanguinolentas acompañadas de dolores abdominales, seguidos de fiebre (ELIKA, 2005), en cambio *S. aureus* es igual de peligroso y además es muy difícil de tratar con antibióticos ya que esta cepa bacteriana ha desarrollado resistencia a los mismos, las patologías que puede causar son muy variadas y van desde infecciones cutáneas hasta intoxicaciones alimentarias. Se obtuvo un porcentaje de inhibición medio para *S. aureus* : 95% (0.5 y 1 g/L al 1%), 98% (0.5 g/L al 5%), 97 % (1 g/L al 5%) y 98% (0.5 y 1 g/L al 10%), en cambio para *E. coli* el porcentaje de inhibición

fue de: 98% (1.5 y 2.5 g/L al 1%), 99% (1.5 y 2.5 g/L al 5%), 98% (1.5 g/L al 10%) y 99% (2.5 g/L al 10%). Según las recomendaciones de la EPA *S.aureus* como *E.coli* no debe encontrarse en aguas que sean destinadas para el consumo humano.

Estos resultados son además respaldados por los análisis de la demanda bioquímica de oxígeno DBO₅ que fueron sometidos a las muestras que presentaron inhibición bacteriana total y que a su vez se les sometió a las concentraciones más altas del fotocatalizador composito es decir a la concentración de 1 g/L para *S.aureus* y 2.5 g/L para *E.coli* al 10% con respecto a la cantidad de magnetita presente, obteniéndose los valores de 370 mg/L para *S.aureus* y 1080 mg/L para *E.coli* en las muestras previo al proceso de fotocátalisis; luego de haber realizado el proceso se obtuvo 0 mg/L para ambos casos, corroborando así los resultados obtenidos mediante el conteo de las unidades formadoras de colonia o UFC.

La inactivación bacteriana se puede decir que es el resultado de la unión de las partículas del fotocatalizador a la membrana celular de las bacterias mediante una interacción electrostática, la que puede comprometer su integridad mediante la inducción del estrés oxidativo por la formación de radicales libres es decir, los ROS (Reactive Oxygen Species) o especies reactivas al oxígeno, después de que se administra el composito (Hajipour, et al., 2012).

Además el contacto de las bacterias con la luz UV es de gran importancia debido a que la pirimidina del ADN absorbe esta luz y forma dímeros de pirimidina, cambiando así la estructura del ADN lo que interrumpe su duplicación y puede causar la muerte de la bacteria (Li et al., 2008).

3.4. Separación magnética del fotocatalizador composito de TiO₂/Fe₃O₄

Los resultados de la separación del composito resultante después de haber finalizado el proceso de fotocátalisis son:

Tabla 13-3: Gramos recuperados del fotocatalizador de $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4$ después del proceso de fotocátalisis

Sin oxigenación		Inicio (g)	Recuperado		
			1% (g)	5% (g)	10% (g)
<i>S. aureus</i>	0.5 g/L	0.00125	0.00103	0.00101	0.01078
	1 g/L	0.02500	0.01947	0.01897	0.01828
<i>E.coli</i>	1.5 g/L	0.03750	0.02788	0.02312	0.03117
	2.5 g/L	0.06250	0.04432	0.04937	0.04237
Oxigenado		Inicio	1% (g)	5% (g)	10% (g)
<i>S. aureus</i>	0.5 g/L	0.00125	0.00078	0.00081	0.00096
	1 g/L	0.02500	0.01731	0.01843	0.01796
<i>E.coli</i>	1.5 g/L	0.03750	0.02437	0.02962	0.02724
	2.5 g/L	0.06250	0.04739	0.04186	0.04620

Realizado por: Urquizo; 2018

Tabla 14-3: Porcentaje recuperado del fotocatalizador de $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4$ después del proceso de fotocátalisis

Sin oxigenación		Porcentaje Recuperado		
		1%	5%	10%
<i>S. aureus</i>	0.5 g/L	82.70	80.98	86.25
	1 g/L	77.88	75.88	73.12
<i>E.coli</i>	1.5 g/L	74.34	61.67	83.12
	2.5 g/L	70.92	78.99	67.79
Oxigenado		1%	5%	10%
<i>S. aureus</i>	0.5 g/L	62.66	64.92	77.18
	1 g/L	69.24	73.72	71.86
<i>E.coli</i>	1.5 g/L	64.98	79.02	72.64
	2.5 g/L	75.83	66.98	73.93

Realizado por: Urquizo; 2018

El proceso de separación del fotocatalizador fue llevado a cabo mediante el uso de un magneto con una fuerza de 0.82 mT; fue introducido directamente en la solución después de haber acabado el proceso de fotocátalisis; las partículas de $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4$ fueron separadas del magneto con mucho cuidado y fueron pesadas en una balanza analítica, dando los resultados que se muestran en la Tabla 12-3. Analizando propiamente el porcentaje recuperado del fotocatalizador (Tabla 13-3) se determinó que se pudo rescatar una media durante el proceso sin oxigenación de 83.31% (0.5 g/L) y 75.62% (1 g/L) para *S.aureus*; 73.03% (1.5 g/L) y 72.56% (2.5 g/L) para *E.coli*. En cambio para los procesos en los que fue aplicada la oxigenación se pudo rescatar una media de 68.25% (0.5 g/L) y 71.60% (1 g/L) para *S.aureus*; 72.21% (1.5 g/L) y 72.24% (2.5 g/L) para *E.coli*.

El porcentaje de fotocatalizador recuperado debe ser reutilizado ya que no puede ser emitido al medio ambiente y además sus características inhibitoras no se ven afectadas después de haber sido utilizado previamente.

3.5. Análisis Estadístico

El análisis estadístico de los resultados fue llevado a cabo mediante el uso del software “Minitab” tomando en cuenta los datos de las concentraciones a las que fue aplicado el fotocatalizador en cada caso como la efectividad entre los dos experimentos (con oxigenación y sin oxigenación). Para el análisis de la hipótesis se decidió utilizar el análisis ANOVA de un factor seguido por la prueba de Tukey.

3.5.1. Análisis estadístico entre concentraciones de un mismo experimento

- Análisis perteneciente a los resultados de las concentraciones de 0.5 y 1 g/L al 1% sin aplicar oxigenación (*S.aureus*).

H_0 : La media de la inactivación bacteriana a 0.5 y 1 g/L a 1% es igual.

H_A : La media de la inactivación de bacteriana a 0.5 y 1 g/L a 1% no es igual.

Tabla 15-3: Análisis ANOVA de las concentraciones de 0.5 y 1 g/L al 1% sin aplicar oxigenación (*S.aureus*).

Fuente	GL	SC	CM	F	P
Factor	3	1739	580	0,02	0,995
Error	24	576461	24019		
Total	27	578200			

Realizado por: Urquizo; 2018

El valor de P es mayor a 0.05 por lo que en este caso aceptamos la hipótesis nula y rechazamos la hipótesis alternativa.

Tabla 16-3: Prueba Tukey para las concentraciones de 0.5 y 1 g/L al 1% sin aplicar oxigenación (*S.aureus*).

Concentraciones	N	Media	Agrupación
0.5 g/L	7	121,7	A
0.5 g/L_1	7	120,1	A
1 g/L_1	7	105,6	A
1 g/L	7	104,9	A

Realizado por: Urquizo; 2018

Al aplicar la prueba de Tukey se determina que las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes, en este caso las concentraciones analizadas presenta letras iguales, por lo que se deduce que las medias de ambos experimentos no son significativamente diferentes.

- **Análisis perteneciente a los resultados de las concentraciones de 0.5 y 1 g/L al 5% sin aplicar oxigenación (*S.aureus*).**

H₀: La media de la inactivación bacteriana a 0.5 y 1 g/L a 5% es igual.

H_A: La media de la inactivación de bacteriana a 0.5 y 1 g/L a 5% no es igual.

Tabla 17-3: Análisis ANOVA de las concentraciones de 0.5 y 1 g/L al 5% sin aplicar oxigenación (*S.aureus*).

Fuente	GL	SC	CM	F	P
Factor	3	100563	33521	0,53	0,665
Error	24	1512157	63007		
Total	27	1612720			

Realizado por: Urquizo; 2018

El valor de P es mayor a 0.05 por lo que en este caso aceptamos la hipótesis nula y rechazamos la hipótesis alternativa.

Tabla 18-3: Prueba Tukey para las concentraciones de 0.5 y 1 g/L al 5% sin aplicar oxigenación (*S.aureus*).

Concentraciones	N	Media	Agrupación
0.5 g/L	7	277,0	A
0.5 g/L_1	7	277,0	A
1 g/L_1	7	157,6	A
1 g/L	7	156,7	A

Realizado por: Urquizo; 2018

Al aplicar la prueba de Tukey se determina que las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes, en este caso las concentraciones analizadas presenta letras iguales, por lo que se deduce que las medias de ambos experimentos no son significativamente diferentes.

- **Análisis perteneciente a los resultados de las concentraciones de 0.5 y 1 g/L al 10% sin aplicar oxigenación (*S.aureus*).**

H₀: La media de la inactivación bacteriana a 0.5 y 1 g/L a 10% es igual.

H_A: La media de la inactivación de bacteriana a 0.5 y 1 g/L a 10% no es igual.

Tabla 19-3: Análisis ANOVA de las concentraciones de 0.5 y 1 g/L al 10% sin aplicar oxigenación (*S.aureus*).

Fuente	GL	SC	CM	F	P
Factor	3	2590	863	0,17	0,913
Error	24	118849	4952		
Total	27	121439			

Realizado por: Urquizo; 2018

El valor de P es mayor a 0.05 por lo que en este caso aceptamos la hipótesis nula y rechazamos la hipótesis alternativa.

Tabla 20-3: Prueba Tukey para las concentraciones de 0.5 y 1 g/L al 10% sin aplicar oxigenación (*S.aureus*).

Concentraciones	N	Media	Agrupación
0.5 g/L	7	81,29	A
0.5 g/L_1	7	80,86	A
1 g/L_1	7	62,43	A
1 g/L	7	61,29	A

Realizado por: Urquizo; 2018

Al aplicar la prueba de Tukey se determina que las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes, en este caso las concentraciones analizadas presenta letras iguales, por lo que se deduce que las medias de ambos experimentos no son significativamente diferentes.

- **Análisis perteneciente a los resultados de las concentraciones de 1.5 y 2.5 g/L al 1% sin aplicar oxigenación (*E.coli*).**

H₀: La media de la inactivación bacteriana a 1.5 y 2.5 g/L a 1% es igual.

H_A: La media de la inactivación de bacteriana a 1.5 y 2.5 g/L a 1% no es igual.

Tabla 21-3: Análisis ANOVA de las concentraciones de 1.5 y 2.5 g/L al 1% sin aplicar oxigenación (*E.coli*).

Fuente	GL	SC	CM	F	P
Factor	3	3528	1176	0,55	0,656
Error	24	51694	2154		
Total	27	55222			

Realizado por: Urquizo; 2018

El valor de P es mayor a 0.05 por lo que en este caso aceptamos la hipótesis nula y rechazamos la hipótesis alternativa.

Tabla 22-3: Prueba Tukey para las concentraciones de 1.5 y 2.5 g/L al 1% sin aplicar oxigenación (*E.coli*).

Concentraciones	N	Media	Agrupación
1.5 g/L	7	66,14	A
1.5 g/L_1	7	65,00	A
2.5 g/L_1	7	43,57	A
2.5 g/L	7	42,71	A

Realizado por: Urquizo; 2018

Al aplicar la prueba de Tukey se determina que las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes, en este caso las concentraciones analizadas presenta letras iguales, por lo que se deduce que las medias de ambos experimentos no son significativamente diferentes.

- **Análisis perteneciente a los resultados de las concentraciones de 1.5 y 2.5 g/L al 5% sin aplicar oxigenación (*E.coli*).**

H₀: La media de la inactivación bacteriana a 1.5 y 2.5 g/L a 5% es igual.

H_A: La media de la inactivación de bacteriana a 1.5 y 2.5 g/L a 5% no es igual.

Tabla 23-3: Análisis ANOVA de las concentraciones de 1.5 y 2.5 g/L al 5% sin aplicar oxigenación (*E.coli*).

Fuente	GL	SC	CM	F	P
Factor	3	34864	11621	1,40	0,268
Error	24	199538	8314		
Total	27	234401			

Realizado por: Urquizo; 2018

El valor de P es mayor a 0.05 por lo que en este caso aceptamos la hipótesis nula y rechazamos la hipótesis alternativa.

Tabla 24-3: Prueba Tukey para las concentraciones de 1.5 y 2.5 g/L al 5% sin aplicar oxigenación (*E.coli*).

Concentraciones	N	Media	Agrupación
1.5 g/L	7	131,71	A
1.5 g/L_1	7	131,14	A
2.5 g/L_1	7	61,00	A
2.5 g/L	7	60,71	A

Realizado por: Urquizo; 2018

Al aplicar la prueba de Tukey se determina que las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes, en este caso las concentraciones analizadas presenta letras iguales, por lo que se deduce que las medias de ambos experimentos no son significativamente diferentes.

- **Análisis perteneciente a los resultados de las concentraciones de 1.5 y 2.5 g/L al 10% sin aplicar oxigenación (*E.coli*).**

H₀: La media de la inactivación bacteriana a 1.5 y 2.5 g/L a 10% es igual.

H_A: La media de la inactivación de bacteriana a 1.5 y 2.5 g/L a 10% no es igual.

Tabla 25-3: Análisis ANOVA de las concentraciones de 1.5 y 2.5 g/L al 10% sin aplicar oxigenación (*E.coli*).

	GL	SC	CM	F	P
Factor	3	9	3	0,00	1,000
Error	24	2030532	84605		
Total	27	2030540			

Realizado por: Urquizo; 2018

El valor de P es mayor a 0.05 por lo que en este caso aceptamos la hipótesis nula y rechazamos la hipótesis alternativa.

Tabla 26-3: Prueba Tukey para las concentraciones de 1.5 y 2.5 g/L al 10% sin aplicar oxigenación (*E.coli*).

Concentraciones	N	Media	Agrupación
1.5 g/L	7	209,1	A
1.5 g/L_1	7	209,0	A
2.5 g/L_1	7	208,7	A
2.5 g/L	7	207,7	A

Realizado por: Urquizo; 2018

Al aplicar la prueba de Tukey se determina que las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes, en este caso las concentraciones analizadas presenta letras iguales, por lo que se deduce que las medias de ambos experimentos no son significativamente diferentes.

- **Análisis perteneciente a los resultados de las concentraciones de 0.5 y 1 g/L al 1% al aplicar oxigenación (*S.aureus*).**

H₀: La media de la inactivación bacteriana a 0.5 y 1 g/L a 1% es igual.

H_A: La media de la inactivación de bacteriana a 0.5 y 1 g/L a 1% no es igual.

Tabla 27-3: Análisis ANOVA de las concentraciones de 0.5 y 1 g/L al 1% al aplicar oxigenación (*S.aureus*).

Fuente	GL	SC	CM	F	P
Factor	3	158115	52705	1,45	0,252
Error	24	869907	36246		
Total	27	1028023			

Realizado por: Urquizo; 2018

El valor de P es mayor a 0.05 por lo que en este caso aceptamos la hipótesis nula y rechazamos la hipótesis alternativa

Tabla 28-3: Prueba Tukey para las concentraciones de 0.5 y 1 g/L al 1% al aplicar oxigenación (*S.aureus*).

Concentraciones	N	Media	Agrupación
0.5 g/L	7	434,4	A
0.5 g/L_1	7	432,7	A
1 g/L_1	7	283,9	A
1 g/L	7	282,7	A

Realizado por: Urquizo; 2018

Al aplicar la prueba de Tukey se determina que las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes, en este caso las concentraciones analizadas presenta letras iguales, por lo que se deduce que las medias de ambos experimentos no son significativamente diferentes.

- **Análisis perteneciente a los resultados de las concentraciones de 0.5 y 1 g/L al 5% al aplicar oxigenación (*S.aureus*).**

H₀: La media de la inactivación bacteriana a 0.5 y 1 g/L a 5% es igual.

H_A: La media de la inactivación de bacteriana a 0.5 y 1 g/L a 5% no es igual.

Tabla 29-3: Análisis ANOVA de las concentraciones de 0.5 y 1 g/L al 5% al aplicar oxigenación (*S.aureus*).

Fuente	GL	SC	CM	F	P
Factor	3	111904	37301	2,11	0,126
Error	24	425284	17720		
Total	27	537187			

Realizado por: Urquizo; 2018

El valor de P es mayor a 0.05 por lo que en este caso aceptamos la hipótesis nula y rechazamos la hipótesis alternativa.

Tabla 30-3: Prueba Tukey para las concentraciones de 0.5 y 1 g/L al 5% al aplicar oxigenación (*S.aureus*).

Concentraciones	N	Media	Agrupación
0.5 g/L	7	244,3	A
0.5 g/L_1	7	245,9	A
1 g/L_1	7	119,3	A
1 g/L	7	118,0	A

Realizado por: Urquizo; 2018

Al aplicar la prueba de Tukey se determina que las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes, en este caso las concentraciones analizadas presenta letras iguales, por lo que se deduce que las medias de ambos experimentos no son significativamente diferentes.

- **Análisis perteneciente a los resultados de las concentraciones de 0.5 y 1 g/L al 10% al aplicar oxigenación (*S.aureus*).**

H₀: La media de la inactivación bacteriana a 0.5 y 1 g/L a 10% es igual.

H_A: La media de la inactivación de bacteriana a 0.5 y 1 g/L a 10% no es igual.

Tabla 31-3: Análisis ANOVA de las concentraciones de 0.5 y 1 g/L al 10% al aplicar oxigenación (*S.aureus*).

Fuente	GL	SC	CM	F	P
Factor	3	882	294	0,06	0,980
Error	24	117933	4914		
Total	27	118815			

Realizado por: Urquizo; 2018

El valor de P es mayor a 0.05 por lo que en este caso aceptamos la hipótesis nula y rechazamos la hipótesis alternativa.

Tabla 32-3: Prueba Tukey para las concentraciones de 0.5 y 1 g/L al 10% al aplicar oxigenación (*S.aureus*).

Concentraciones	N	Media	Agrupación
0.5 g/L	7	111,43	A
0.5 g/L_1	7	111,57	A
1 g/L_1	7	100,57	A
1 g/L	7	100,00	A

Realizado por: Urquizo; 2018

Al aplicar la prueba de Tukey se determina que las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes, en este caso las concentraciones analizadas presenta letras iguales, por lo que se deduce que las medias de ambos experimentos no son significativamente diferentes.

- **Análisis perteneciente a los resultados de las concentraciones de 1.5 y 2.5 g/L al 1% al aplicar oxigenación (*E.coli*).**

H₀: La media de la inactivación bacteriana a 1.5 y 2.5 g/L a 1% es igual.

H_A: La media de la inactivación de bacteriana a 1.5 y 2.5 g/L a 1% no es igual.

Tabla 33-3: Análisis ANOVA de las concentraciones de 1.5 y 2.5 g/L al 1% al aplicar oxigenación (*E.coli*).

Fuente	GL	SC	CM	F	P
Factor	3	3240	1080	0,02	0,997
Error	24	1453454	60561		
Total	27	1456694			

Realizado por: Urquizo; 2018

El valor de P es mayor a 0.05 por lo que en este caso aceptamos la hipótesis nula y rechazamos la hipótesis alternativa.

Tabla 34-3: Prueba Tukey para las concentraciones de 1.5 y 2.5 g/L al 1% al aplicar oxigenación (*E.coli*).

Concentraciones	N	Media	Agrupación
1.5 g/L	7	379,3	A
1.5 g/L_1	7	379,9	A
2.5 g/L_1	7	401,6	A
2.5 g/L	7	400,6	A

Realizado por: Urquizo; 2018

Al aplicar la prueba de Tukey se determina que las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes, en este caso las concentraciones analizadas presenta letras iguales, por lo que se deduce que las medias de ambos experimentos no son significativamente diferentes.

- **Análisis perteneciente a los resultados de las concentraciones de 1.5 y 2.5 g/L al 5% al aplicar oxigenación (*E.coli*).**

H₀: La media de la inactivación bacteriana a 1.5 y 2.5 g/L a 5% es igual.

H_A: La media de la inactivación de bacteriana a 1.5 y 2.5 g/L a 5% no es igual.

Tabla 35-3: Análisis ANOVA de las concentraciones de 1.5 y 2.5 g/L al 5% al aplicar oxigenación (*E.coli*).

Fuente	GL	SC	CM	F	P
Factor	3	104	35	0,00	1,00
Error	24	1139333	47472		
Total	27	1139437			

Realizado por: Urquizo; 2018

El valor de P es mayor a 0.05 por lo que en este caso aceptamos la hipótesis nula y rechazamos la hipótesis alternativa.

Tabla 36-3: Prueba Tukey para las concentraciones de 1.5 y 2.5 g/L al 5% al aplicar oxigenación (*E.coli*).

Concentraciones	N	Media	Agrupación
1.5 g/L	7	289,3	A
1.5 g/L_1	7	290,6	A
2.5 g/L_1	7	293,3	A
2.5 g/L	7	294,0	A

Realizado por: Urquizo; 2018

Al aplicar la prueba de Tukey se determina que las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes, en este caso las concentraciones analizadas presenta letras iguales, por lo que se deduce que las medias de ambos experimentos no son significativamente diferentes.

- **Análisis perteneciente a los resultados de las concentraciones de 1.5 y 2.5 g/L al 10% al aplicar oxigenación (*E.coli*).**

H₀: La media de la inactivación bacteriana a 1.5 y 2.5 g/L a 10% es igual.

H_A: La media de la inactivación de bacteriana a 1.5 y 2.5 g/L a 10% no es igual.

Tabla 37-3: Análisis ANOVA de las concentraciones de 1.5 y 2.5 g/L al 10% al aplicar oxigenación (*E.coli*).

Fuente	GL	SC	CM	F	P
Factor	3	1952	651	0,08	0,97
Error	24	205034	8543		
Total	27	206986			

Realizado por: Urquizo; 2018

El valor de P es mayor a 0.05 por lo que en este caso aceptamos la hipótesis nula y rechazamos la hipótesis alternativa.

Tabla 38-3: Prueba Tukey para las concentraciones de 1.5 y 2.5 g/L al 5% al aplicar oxigenación (*E.coli*).

Concentraciones	N	Media	Agrupación
1.5 g/L	7	82,00	A
1.5 g/L_1	7	83,57	A
2.5 g/L_1	7	100,57	A
2.5 g/L	7	98,14	A

Realizado por: Urquizo; 2018

Al aplicar la prueba de Tukey se determina que las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes, en este caso las concentraciones analizadas presenta letras iguales, por lo que se deduce que las medias de ambos experimentos no son significativamente diferentes.

3.5.2. Análisis estadístico entre diferentes experimentos a concentraciones iguales

- Análisis perteneciente a los resultados de la concentración de 0.5 g/L al 1% con y sin la aplicación de aireación (*S.aureus*).

H_0 : La media de la inactivación bacteriana a 0.5 g/L al 1% con y sin la aplicación de aireación es igual.

H_A : La media de la inactivación de bacteriana a 0.5 g/L al 1% con y sin la aplicación de aireación no es igual.

Tabla 39-3: Análisis ANOVA de la concentración de 0.5 g/L al 1% con y sin la aplicación aireación (*S.aureus*).

Fuente	GL	SC	CM	F	P
Factor	3	684238	228079	7,410	0,001
Error	24	738819	30784		
Total	27	1423057			

Realizado por: Urquizo; 2018

El valor de P es menor a 0.05 por lo que en este caso aceptamos la hipótesis alternativa y rechazamos la hipótesis nula.

Tabla 40-3: Prueba Tukey para la concentración de 0.5 g/L al 1% con y sin la aplicación aireación (*S.aureus*).

Concentraciones	N	Media	Agrupación
0.5 g/L _SO	7	121,7	B
0.5 g/L _1SO	7	120,1	B
0.5 g/L _O	7	432,7	A
0.5 g/L _1O	7	434,4	A

Realizado por: Urquizo; 2018

Al aplicar la prueba de Tukey se determina que las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes, en este caso se puede observar letras diferentes lo que quiere decir que la agrupación A (con aireación) es significativamente diferente de la agrupación B (sin aireación), obteniéndose una media menor en la agrupación B.

- **Análisis perteneciente a los resultados de la concentración de 1 g/L al 1% con y sin la aplicación de oxigenación (*S.aureus*).**

H₀: La media de la inactivación bacteriana a 1 g/L al 1% con y sin la aplicación de aireación es igual.

H_A: La media de la inactivación de bacteriana a 1 g/L al 1% con y sin la aplicación de aireación no es igual.

Tabla 41-3: Análisis ANOVA de la concentración de 1 g/L al 1% con y sin la aplicación aireación (*S.aureus*).

Fuente	GL	SC	CM	F	P
Factor	3	221972	73991	2,510	0,083
Error	24	707549	29481		
Total	27	929521			

Realizado por: Urquizo; 2018

El valor de P es mayor a 0.05 por lo que en este caso aceptamos la hipótesis nula y rechazamos la hipótesis alternativa.

Tabla 42-3: Prueba Tukey para la concentración de 1 g/L al 1% con y sin la aplicación aireación (*S.aureus*).

Concentraciones	N	Media	Agrupación
1 g/L _SO	7	104,9	A
1 g/L _ISO	7	105,6	A
1 g/L _O	7	282,7	A
1 g/L _O1	7	283,9	A

Realizado por: Urquizo; 2018

Al aplicar la prueba de Tukey se determina que las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes, en este caso las concentraciones analizadas presenta letras iguales, por lo que se deduce que las medias de ambos experimentos no son significativamente diferentes.

- **Análisis perteneciente a los resultados de la concentración de 0.5 g/L al 5 % con y sin la aplicación de oxigenación (*S.aureus*).**

H₀: La media de la inactivación bacteriana a 0.5 g/L al 5% con y sin la aplicación de aireación es igual.

H_A: La media de la inactivación de bacteriana a 0.5 g/L al 5% con y sin la aplicación de aireación no es igual.

Tabla 43-3: Análisis ANOVA de la concentración de 0.5 g/L al 5% con y sin la aplicación aireación (*S.aureus*).

Fuente	GL	SC	CM	F	P
Factor	3	7145	2382	0,04	0,987
Error	24	1288148	53673		
Total	27	1295293			

Realizado por: Urquizo; 2018

El valor de P es mayor a 0.05 por lo que en este caso aceptamos la hipótesis nula y rechazamos la hipótesis alternativa.

Tabla 44-3: Prueba Tukey para la concentración de 0.5 g/L al 5 % con y sin la aplicación aireación (*S.aureus*).

Concentraciones	N	Media	Agrupación
0.5 g/L _SO	7	277,0	A
0.5 g/L _ISO	7	277,0	A
0.5 g/L _O	7	244,3	A
0.5 g/L _O1	7	245,9	A

Realizado por: Urquizo; 2018

Al aplicar la prueba de Tukey se determina que las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes, en este caso las concentraciones analizadas presenta letras iguales, por lo que se deduce que las medias de ambos experimentos no son significativamente diferentes.

- **Análisis perteneciente a los resultados de la concentración de 1 g/L al 5 % con y sin la aplicación de oxigenación (*S.aureus*).**

H₀: La media de la inactivación bacteriana a 1 g/L al 5% con y sin la aplicación de aireación es igual.

H_A: La media de la inactivación de bacteriana a 1 g/L al 5% con y sin la aplicación de aireación no es igual.

Tabla 45-3: Análisis ANOVA de la concentración de 1 g/L al 5% con y sin la aplicación aireación (*S.aureus*).

Fuente	GL	SC	CM	F	P
Factor	3	10384	3461	0,130	0,943
Error	24	649293	27054		
Total	27	659677			

Realizado por: Urquizo; 2018

El valor de P es mayor a 0.05 por lo que en este caso aceptamos la hipótesis nula y rechazamos la hipótesis alternativa.

Tabla 46-3: Prueba Tukey para la concentración de 1 g/L al 5 % con y sin la aplicación aireación (*S.aureus*).

Concentraciones	N	Media	Agrupación
1 g/L _SO	7	156,7	A
1 g/L _ISO	7	157,6	A
1 g/L _O	7	119,3	A
1 g/L _O1	7	118,0	A

Realizado por: Urquizo; 2018

Al aplicar la prueba de Tukey se determina que las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes, en este caso las concentraciones analizadas presenta letras iguales, por lo que se deduce que las medias de ambos experimentos no son significativamente diferentes.

- **Análisis perteneciente a los resultados de la concentración de 0.5 g/L al 10 % con y sin la aplicación de oxigenación (*S.aureus*).**

H₀: La media de la inactivación bacteriana a 0.5 g/L al 10% con y sin la aplicación de aireación es igual.

H_A: La media de la inactivación de bacteriana a 0.5 g/L al 10% con y sin la aplicación de aireación no es igual.

Tabla 47-3: Análisis ANOVA de la concentración de 0.5 g/L al 10% con y sin la aplicación aireación (*S.aureus*).

Fuente	GL	SC	CM	F	P
Factor	3	6482	2161	0,420	0,741
Error	24	123574	5149		
Total	27	130056			

Realizado por: Urquizo; 2018

El valor de P es mayor a 0.05 por lo que en este caso aceptamos la hipótesis nula y rechazamos la hipótesis alternativa.

Tabla 48-3: Prueba Tukey para la concentración de 0.5 g/L al 10 % con y sin la aplicación aireación (*S.aureus*).

Concentraciones	N	Media	Agrupación
0.5 g/L _SO	7	81,29	A
0.5 g/L _1SO	7	80,86	A
0.5 g/L _O	7	111,43	A
0.5 g/L _O1	7	111,57	A

Realizado por: Urquizo; 2018

Al aplicar la prueba de Tukey se determina que las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes, en este caso las concentraciones analizadas presenta letras iguales, por lo que se deduce que las medias de ambos experimentos no son significativamente diferentes.

- **Análisis perteneciente a los resultados de la concentración de 1 g/L al 10 % con y sin la aplicación de oxigenación (*S.aureus*).**

H₀: La media de la inactivación bacteriana a 1 g/L al 10% con y sin la aplicación de aireación es igual.

H_A: La media de la inactivación de bacteriana a 1 g/L al 10% con y sin la aplicación de aireación no es igual.

Tabla 49-3: Análisis ANOVA de la concentración de 1 g/L al 10% con y sin la aplicación aireación (*S.aureus*).

Fuente	GL	SC	CM	F	P
Factor	3	10343	3448	0,73	0,544
Error	24	113209	4717		
Total	27	123552			

Realizado por: Urquizo; 2018

El valor de P es mayor a 0.05 por lo que en este caso aceptamos la hipótesis nula y rechazamos la hipótesis alternativa.

Tabla 50-3: Prueba Tukey para la concentración de 1 g/L al 10 % con y sin la aplicación aireación (*S.aureus*).

Concentraciones	N	Media	Agrupación
1 g/L _SO	7	100,00	A
1 g/L _1SO	7	100,57	A
1 g/L _O	7	61,29	A
1 g/L _O1	7	62,43	A

Realizado por: Urquizo; 2018

Al aplicar la prueba de Tukey se determina que las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes, en este caso las concentraciones analizadas presenta letras iguales, por lo que se deduce que las medias de ambos experimentos no son significativamente diferentes.

- **Análisis perteneciente a los resultados de la concentración de 1.5 g/L al 1 % con y sin la aplicación de oxigenación (*E.coli*).**

H₀: La media de la inactivación bacteriana a 1.5 g/L al 1% con y sin la aplicación de aireación es igual.

H_A: La media de la inactivación de bacteriana a 1.5 g/L al 1% con y sin la aplicación de aireación no es igual.

Tabla 51-3: Análisis ANOVA de la concentración de 1.5 g/L al 1% con y sin la aplicación aireación (*E.coli*).

Fuente	GL	SC	CM	F	P
Factor	3	690178	230059	7,47	0,001
Error	24	738979	30791		
Total	27	1429157			

Realizado por: Urquizo; 2018

El valor de P es menor a 0.05 por lo que en este caso aceptamos la hipótesis alternativa y rechazamos la hipótesis nula.

Tabla 52-3: Prueba Tukey para la concentración de 1.5 g/L al 1 % con y sin la aplicación aireación (*E.coli*).

Concentraciones	N	Media	Agrupación
1.5 g/L _SO	7	66,1	B
1.5 g/L _1SO	7	65,0	B
1.5 g/L _O	7	379,3	A
1.5 g/L _O1	7	379,9	A

Realizado por: Urquizo; 2018

Al aplicar la prueba de Tukey se determina que las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes, en este caso se puede observar letras diferentes lo que quiere decir que la agrupación A (con aireación) es significativamente diferente de la agrupación B (sin aireación), obteniéndose una media menor en la agrupación B.

- **Análisis perteneciente a los resultados de la concentración de 2. 5 g/L al 1 % con y sin la aplicación de oxigenación (*E.coli*).**

H₀: La media de la inactivación bacteriana a 2.5 g/L al 1% con y sin la aplicación de aireación es igual.

H_A: La media de la inactivación de bacteriana a 2.5 g/L al 1% con y sin la aplicación de aireación no es igual.

Tabla 53-3: Análisis ANOVA de la concentración de 2.5 g/L al 1% con y sin la aplicación aireación (*E.coli*).

Fuente	GL	SC	CM	F	P
Factor	3	896796	298932	9,360	0,001
Error	24	766169	31924		
Total	27	1662965			

Realizado por: Urquizo; 2018

El valor de P es menor a 0.05 por lo que en este caso aceptamos la hipótesis alternativa y rechazamos la hipótesis nula

Tabla 54-3: Prueba Tukey para la concentración de 2.5 g/L al 1 % con y sin la aplicación aireación (*E.coli*).

Concentraciones	N	Media	Agrupación
1.5 g/L_SO	7	43,6	B
1.5 g/L_1SO	7	42,7	B
1.5 g/L_O	7	400,6	A
1.5 g/L_O1	7	401,6	A

Realizado por: Urquizo; 2018

Al aplicar la prueba de Tukey se determina que las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes, en este caso se puede observar letras diferentes lo que quiere decir que la agrupación A (con aireación) es significativamente diferente de la agrupación B (sin aireación), obteniéndose una media menor en la agrupación B.

- **Análisis perteneciente a los resultados de la concentración de 1.5 g/L al 5 % con y sin la aplicación de oxigenación (*E.coli*).**

H₀: La media de la inactivación bacteriana a 1.5 g/L al 5% con y sin la aplicación de aireación es igual.

H_A: La media de la inactivación de bacteriana a 1.5 g/L al 5% con y sin la aplicación de aireación no es igual.

Tabla 55-3: Análisis ANOVA de la concentración de 1.5 g/L al 5% con y sin la aplicación aireación (*E.coli*).

Fuente	GL	SC	CM	F	P
Factor	3	175863	58621	1,620	0,210
Error	24	867327	36139		
Total	27	1043190			

Realizado por: Urquizo; 2018

El valor de P es mayor a 0.05 por lo que en este caso aceptamos la hipótesis nula y rechazamos la hipótesis alternativa.

Tabla 56-3: Prueba Tukey para la concentración de 1.5 g/L al 5 % con y sin la aplicación aireación (*E.coli*).

Concentraciones	N	Media	Agrupación
1 g/L _SO	7	131,1	A
1 g/L _ISO	7	131,7	A
1 g/L _O	7	289,3	A
1 g/L _OI	7	290,6	A

Realizado por: Urquizo; 2018

Al aplicar la prueba de Tukey se determina que las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes, en este caso las concentraciones analizadas presenta letras iguales, por lo que se deduce que las medias de ambos experimentos no son significativamente diferentes.

- **Análisis perteneciente a los resultados de la concentración de 2.5 g/L al 5 % con y sin la aplicación de oxigenación (*E.coli*).**

H₀: La media de la inactivación bacteriana a 2.5 g/L al 5% con y sin la aplicación de aireación es igual.

H_A: La media de la inactivación de bacteriana a 2.5 g/L al 5% con y sin la aplicación de aireación no es igual.

Tabla 57-3: Análisis ANOVA de la concentración de 2.5 g/L al 5% con y sin la aplicación aireación (*E.coli*).

Fuente	GL	SC	CM	F	P
Factor	3	379326	126442	6,440	0,002
Error	24	471543	19648		
Total	27	850869			

Realizado por: Urquizo; 2018

El valor de P es menor a 0.05 por lo que en este caso aceptamos la hipótesis alternativa y rechazamos la hipótesis nula.

Tabla 58-3: Prueba Tukey para la concentración de 2.5 g/L al 5 % con y sin la aplicación aireación (*E.coli*).

Concentraciones	N	Media	Agrupación
1 g/L _SO	7	61,0	B
1 g/L _ISO	7	60,7	B
1 g/L _O	7	293,3	A
1 g/L _OI	7	294,0	A

Realizado por: Urquizo; 2018

Al aplicar la prueba de Tukey se determina que las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes, en este caso se puede observar letras diferentes lo que quiere decir que la agrupación A (con aireación) es significativamente diferente de la agrupación B (sin aireación), obteniéndose una media menor en la agrupación B.

- **Análisis perteneciente a los resultados de la concentración de 1.5 g/L al 10 % con y sin la aplicación de oxigenación (*E.coli*).**

H₀: La media de la inactivación bacteriana a 1.5 g/L al 10% con y sin la aplicación de aireación es igual.

H_A: La media de la inactivación de bacteriana a 1.5 g/L al 10% con y sin la aplicación de aireación no es igual.

Tabla 59-3: Análisis ANOVA de la concentración de 1.5 g/L al 10% con y sin la aplicación aireación (*E.coli*).

Fuente	GL	SC	CM	F	P
Factor	3	111393	37131	0,940	0,439
Error	24	952648	39694		
Total	27	1064041			

Realizado por: Urquizo; 2018

El valor de P es mayor a 0.05 por lo que en este caso aceptamos la hipótesis nula y rechazamos la hipótesis alternativa.

Tabla 60-3: Prueba Tukey para la concentración de 1.5 g/L al 10 % con y sin la aplicación aireación (*E.coli*).

Concentraciones	N	Media	Agrupación
1 g/L _SO	7	208,7	A
1 g/L _ISO	7	209,1	A
1 g/L _O	7	82,0	A
1 g/L _O1	7	83,6	A

Realizado por: Urquizo; 2018

Al aplicar la prueba de Tukey se determina que las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes, en este caso las concentraciones analizadas presenta letras iguales, por lo que se deduce que las medias de ambos experimentos no son significativamente diferentes.

- **Análisis perteneciente a los resultados de la concentración de 2.5 g/L al 10 % con y sin la aplicación de oxigenación (*E.coli*).**

H₀: La media de la inactivación bacteriana a 2.5 g/L al 10% con y sin la aplicación de aireación es igual.

H_A: La media de la inactivación de bacteriana a 2.5 g/L al 10% con y sin la aplicación de aireación no es igual.

Tabla 61-3: Análisis ANOVA de la concentración de 2.5 g/L al 10% con y sin la aplicación aireación (*E.coli*).

Fuente	GL	SC	CM	F	P
Factor	3	83193	27731	0,520	0,673
Error	24	1282918	53455		
Total	27	1366111			

Realizado por: Urquizo; 2018

El valor de P es mayor a 0.05 por lo que en este caso aceptamos la hipótesis nula y rechazamos la hipótesis alternativa.

Tabla 62-3: Prueba Tukey para la concentración de 2.5 g/L al 10 % con y sin la aplicación aireación (*E.coli*).

Concentraciones	N	Media	Agrupación
1 g/L _SO	7	207,7	A
1 g/L _ISO	7	209,0	A
1 g/L _O	7	98,1	A
1 g/L _O1	7	100,6	A

Realizado por: Urquizo; 2018

Al aplicar la prueba de Tukey se determina que las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes, en este caso las concentraciones analizadas presenta letras iguales, por lo que se deduce que las medias de ambos experimentos no son significativamente diferentes.

CONCLUSIONES

- Se sintetizaron tres formulaciones de un fotocatalizador compuesto de dióxido de titanio-magnetita ($\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4$) mediante el método sol-gel al 1, 5 y 10% de magnetita; en este caso los cristales formados fueron más grandes de los esperados debido a que el periodo de envejecimiento de las partículas en la fase de gel fue muy prolongado, pero esta particularidad no tuvo repercusiones en el proceso de fotocatalisis propiamente dicho.
- La inhibición de las cepas tanto de *E. coli* (con 0.5 y 1 g/L de fotocatalizador de $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4$) como *S. aureus* (con 1.5, 2.5 g/L de fotocatalizador de $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4$) fue realizada en dos partes, con y sin oxigenación, al añadir diferentes concentraciones de las partículas del fotocatalizador de $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4$ en la solución. El proceso de inhibición fue exitoso en todos los casos, pero el proceso que no fue sometido a aireación fue el mejor debido a que la inhibición bacteriana fue total a los 30 minutos de haber comenzado cada experimento, exceptuando a las concentraciones de 0.5 g/L al 1% que no logró un 99% de inhibición; en cambio su contraparte con aireación, aunque se evidenció una baja significativa en el crecimiento bacteriano, no pudo inhibir totalmente a los microorganismos presentes en la solución debido a que la turbulencia no permitió la correcta difusión del fotocatalizador por la solución, obteniéndose un porcentaje de inhibición para *S.aureus* : 95% (0.5 y 1 g/L al 1%), 98% (0.5 g/L al 5%), 97 % (1 g/L al 5%) y 98% (0.5 y 1 g/L al 10%), en cambio para *E.coli* el porcentaje de inhibición fue de: 98% (1.5 y 2.5 g/L al 1%), 99% (1.5 y 2.5 g/L al 5%), 98% (1.5 g/L al 10%) y 99% (2.5 g/L al 10%). Según los datos proporcionados por el análisis estadístico se comprobó que no existían diferencias significativas entre los experimentos realizados por lo que se puede decir que el experimento fue exitoso.
- La recuperación del compuesto de $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4$ se realizó exitosamente después de finalizar el proceso de fotocatalisis mediante el uso de un campo magnético (0.82 mT), se pudo rescatar una media durante el proceso sin oxigenación de 83% (0.5 g/L) y 75% (1 g/L) para *S.aureus*; 73% (1.5 g/L) y 72% (2.5 g/L) para *E.coli*. En cambio para los procesos en los que fue aplicada la oxigenación se pudo rescatar una media de 68% (0.5 g/L) y 71% (1 g/L) para *S.aureus*; 72% (1.5 g/L) y 72% (2.5 g/L) para *E.coli*. El porcentaje de fotocatalizador recuperado puede ser reutilizado.

- La composición química del fotocatalizador de $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4$ fue analizada mediante espectrofotometría infrarroja (IR) en la que se obtuvieron diferentes picos correspondientes a las vibraciones del TiO_2 y Fe_3O_4 ; el análisis realizado mediante microscopía de barrido electrónico (SEM) sirvió para determinar la composición química del fotocatalizador y además el tamaño de las partículas del composito sintetizado.

RECOMENDACIONES

- Al momento de la realización del método sol-gel usar guantes y mascarilla a todo momento debido a que los compuestos utilizados pueden resultar peligrosos si no son manejados con cuidado.
- El manejo del FeCl_2 debe ser muy rápido debido a que si se lo expone demasiado al ambiente este puede cambiar a FeCl_3 por lo que la formación de la magnetita (Fe_3O_4) ya no sería factible.
- Tener en cuenta el cambio de pH al momento de la realización de la magnetita (Fe_3O_4), no se desea que la solución resultante posea un pH superior a 9 al momento de agregar el amoníaco (NH_3).
- Los precipitados de Fe_3O_4 deben ser lavados muchas veces con agua y etanol para lograr que el pH sea cercano a 7.
- Para la realización del gel ya compuesto por $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4$ se debe tener verter en un vaso de precipitación a parte y en orden específico etanol, ácido acético y por último el tetrabutilo de titanato, este debe ser agregado a la solución muy lentamente de manera que no ocurra la oxidación del compuesto.
- La muestra de magnetita (Fe_3O_4) para cada caso debe estar disuelta apropiadamente y sometida a calentamiento para la adición de la solución gelificante de etanol, ácido acético y tetrabutilo de titanato; si no se encuentra a una temperatura de por lo menos 40°C no se logrará que la gelificación de la solución ocurra de manera inmediata.
- Las muestras de $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4$ ya en estado de gel deben ser sometidas secadas y calcinadas inmediatamente debido a que un proceso de envejecimiento prologando de las partículas ocasiona un crecimiento excesivo de los cristales.
- El secado como la calcinación de las muestras de $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4$ deben ser realizadas en un espacio abierto donde los equipos posean buena ventilación, debido a que en ambos procesos se da la emanación de gases tóxicos, por lo que también se recomienda el uso de una mascarilla industrial filtrante.

- En caso de que las muestras de $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4$ no logren gelificarse inmediatamente se las puede someter a una temperatura de 60°C por 15 min para que logren el estado de gel, se las debe dejar reposar por un momento hasta que su temperatura baje para someterlas al proceso de secado propiamente dicho.
- Con respecto al proceso de fotocátalisis, se recomienda cubrir ya sea con papel periódico o papel aluminio al agitador magnético utilizado en el experimento para que sus componentes eléctricos no sufran ninguna clase de daño por la luz UV.
- Durante el experimento no se debe ver directamente a la fuente de la luz UV ya que puede ocasionar daños irreversibles a la vista.
- Tener mucho cuidado con los derrames ocasionados por la turbulencia originada de la agitación como de la aireación suministrada al medio, en caso de que ocurran se debe parar inmediatamente el experimento y se debe proceder a limpiar el medio de trabajo con alcohol, ya que se está trabajando con microorganismos potencialmente dañinos para la salud humana.
- Para que el fotocatalizador se difunda de manera adecuada por la solución se debe contar con un recipiente de vidrio de cuarzo relativamente grande para evitar este problema, en especial cuando se añade aireación al medio.

BIBLIOGRAFÍA

- Bustos, J., Hamdan, A., Gutiérrez, M.** “Staphylococcus aureus: la reemergencia de un patógeno en la comunidad”. *Revista Biomédica*, vol. 17, no 4 (2006), (México) pp. 287-305.
- Candal, R., Bilmes, A., Blesa, M.** *Semiconductores con actividad fotocatalítica*. [En línea] Buenos Aires, 2001. [Consulta: 28 de Abril de 2018.] Disponible en: <http://www.psa.es/en/projects/solwater/files/CYTED01/10cap04.pdf>
- Castañeda, J.** *Fabricación de materiales amorfos y policristalinos con la ruta sol-gel* [En línea]. México, 2006. [Consulta: 07 de Mayo de 2018.] Disponible en: <http://www.smf.mx/boletin/2006/Bol-20-1/Articulos/sol-gel.htm>.
- CEPAL.** *Diagnóstico de las estadísticas del agua en el Ecuador* [En línea] Ecuador, 2011. [Consulta: 28 de Abril de 2018.] Disponible en: [http://aplicaciones.senagua.gob.ec/servicios/descargas/archivos/download/Diagnostico de las Estadísticas del Agua Producto IIIc 2012-2.pdf](http://aplicaciones.senagua.gob.ec/servicios/descargas/archivos/download/Diagnostico%20de%20las%20Estadisticas%20del%20Agua%20Producto%20IIIc%202012-2.pdf).
- Channah, R., Berenise, R.** *La Calidad del Agua, E. coli y su Salud* [En línea]. Arizona, 2014. [Consulta: 20 de Mayo de 2018.] Disponible en: <https://extension.arizona.edu/sites/extension.arizona.edu/files/pubs/az1624s.pdf>
- Díaz, F.** *Introducción a los Nanomateriales* [En línea] México, 2012. [Consulta: 28 de Abril de 2018.] Disponible en: <http://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/129987/Preparacion-y-estudio-de-propiedades-en-nanocompositos-de-caucho.pdf>
- Domínguez, R.** *Estudio de la degradación fotocatalítica de dodecibencenosulfonato (DBS) en reactores con lámpara de mercurio y con LEDS* (tesis). Universidad de Cantabria, Cantabria, España. pp. 44-47. 2012.
- Durán, C.** *Preparación y Estudio de Propiedades en Nanocompósitos de Caucho Natural con Refuerzo Híbrido de Montmorillonita y Nanotubos de Carbono de Pared Múltiple*. (tesis). Universidad de Chile, Santiago, Chile. pp. 20-24. 2014.

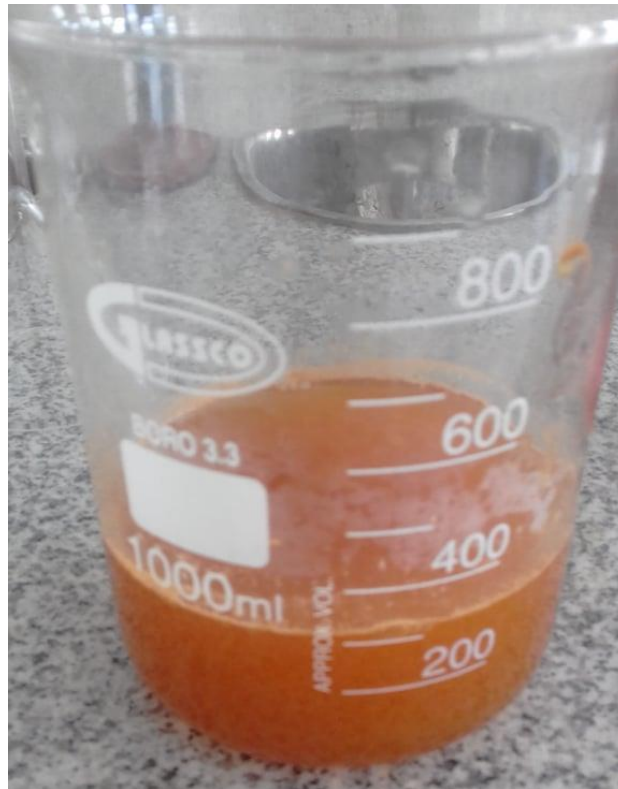
- ELIKA. PARA LA SEGURIDAD AGROALIMENTARIA (*Escherichia coli*).** [En línea]. España. 2005. [Consulta: 19 de Mayo de 2018.] Disponible en: http://www.elika.eus/datos/pdfs_agrupados/Documento84/3.Ecoli.pdf
- Escuadra, S.** *Aplicación de nano-fotocatálisis con TiO₂ como tratamiento final de agua de salida de depuradora* (tesis). Universidad de Zaragoza, Zaragoza, España, 2016. pp. 8-17.
- Gálvez, J., et al.** “Purificación de aguas por fotocatálisis heterogénea: estado del arte”. *CYTED*. vol.3, no 1 (2001), (España) pp. 51-74
- Garcés, L., Mejía, E., Santamaría, J.** “La fotocatálisis como alternativa para el tratamiento de aguas residuales”. *Revista Lasallista de investigación*, vol. 1, no 1 (2004), (Colombia) pp. 83-94.
- Giridhar, M., et al.** “Preparation of azo-dye sensitized TiO₂ photocatalyst for inhibition of E-Coli bacteria under visible light irradiation”. *Materials Today: Proceedings*, vol. 4, no 11 (2017), pp. 11671-11678.
- Guimarães, J., Nour, E.** “Tratando nossos esgotos: processos que imitam a natureza”. *Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola*, vol. 1, (2001), pp. 19-30.
- Guimarães, J., et al.** “Desinfección de agua”. *Eliminación de Contaminantes por Fotocatálisis Heterogénea*, vol.1, (2001), pp. 375-388.
- Hajipour, J., et al.** “Antibacterial properties of nanoparticles”. *Trends in biotechnology*, vol. 30, no 10 (2012), pp. 499-511.
- Hernández, M., et al.** *Síntesis de pigmentos cerámicos por métodos no convencionales: técnica Sol-Gel* (tesis). (Doctorado). Universidad Nacional de Colombia, Medellín, Colombia. 2013. pp. 11-14.
- Li, S., et al.** “Nanotoxicity of TiO₂ nanoparticles to erythrocyte in vitro”. *Food and Chemical Toxicology*, vol. 46, no 12 (2008), pp. 3626-3631.
- LI, Y., et al.** “Preparation and properties of a nano TiO₂/Fe₃O₄ composite superparamagnetic photocatalyst”. *Rare Metals*, vol. 28, no 5 (2009), pp. 423-427.

- Martínez V., Reyes, A.** *Síntesis de particularistas magnéticas modificadas con TiO₂ para la foto degradación de fenol en soluciones acuosas* (tesis). (Doctorado). Universidad de Cartagena, Cartagena, Colombia. 2013. pp. 28-41.
- Mendoza, A., et al.** “Caracterización microestructural y morfología de TiO₂ para aplicaciones termoluminiscentes”. *Revista Mexicana de Física Supplement*, vol. 50, no 1 (2014), pp. 12-16.
- Morán, M.** *Procesos de ozonación fotocatalítica para eliminar contaminantes emergentes de aguas residuales urbanas* (tesis). (Doctorado). Universidad de Extremadura. España. 2016. pp. 81-87.
- Moreno, L., et al.** “Cinética de la Desinfección Fotocatalítica de Agua contaminada con E. coli: Efecto de la Concentración del Fotocatalizador y la Potencia de Irradiación”. *Información tecnológica*, vol. 22, no 3 (2011), pp. 69-78.
- Ochoa, Y., Ortigón, Y., Páez, J.** “Síntesis de TiO₂, fase anatasa, por el método solgel: estudio del efecto de la presencia de AcacH en el sistema”. *Revista Facultad de Ingeniería*, no 52 (2013), pp. 29-40.
- Oquendo, J.** *Inactivación de bacterias presentes en aguas empleando el proceso foto-fenton homogéneo a escala de laboratorio* (tesis). (Doctorado) Universidad del Valle, Cali, Colombia. 2011. pp. 13-18.
- OMS.** *El uso de aguas residuales*. [En línea] 2017. [Consulta: 14 Abril 2018.] Disponible en: http://www.who.int/water_sanitation_health/wastewater/es/.
- Pacheco, D., Rico, J., et al.** “Estudio DFT de propiedades estructurales y electrónicas del óxido de titanio en sus fases: rutilo, anatasa y brookita”. *Revista Colombiana de Materiales*, no 5 (2014), pp. 179-185.
- Paez, C., Taborda, G.** “La fotocatalisis: aspectos fundamentales para una buena remoción de contaminantes”. *Revista Universidad de Caldas*, vol. 7, no 2 (2006), pp. 71-88.
- Portero, S.** *Radiación ultravioleta*. [En línea] España. 2004. [Consulta: 19 de Mayo de 2018.] Disponible en: <http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/rehabilitacion-fis/ultravioleta-morrillo.pdf>

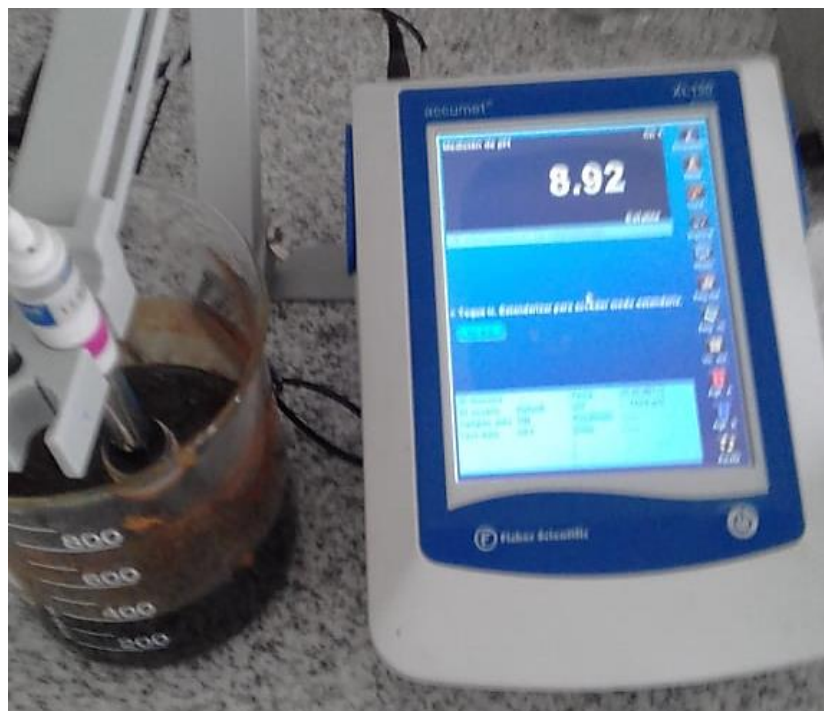
- Quiroz, G.** *Preparación y estudio de las propiedades estructurales, ópticas y morfológicas de nanotubos de TiO₂ para su aplicación en sensores ópticos* (tesis). (Doctorado). Universidad Nacional de Colombia, Colombia. 2014. pp. 34-39.
- Shurvell, H.** *Spectra–Structure Correlations in the Mid- and Far-infrared*. [En línea]. Ontario, 2002. [Consulta: 28 de Mayo de 2018.] Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/0470027320.s4101>
- Tuesta, E., Gutarra, A.** “Aplicaciones electrocrómicas y fotocatalíticas del dióxido de titanio”. *REVCUNI*, vol. 8, no 2 (2004). pp. 32-34.
- Villanueva, C.** *Fotocatálisis con TiO₂/ultravioleta y TiO₂ CuSO₄/visible como sistemas de desinfección para inactivar E. coli proveniente de agua residual doméstica* (tesis). (Maestría) Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia. 2011. pp. 22-28.
- Zendejas, G., Avalos, H., Soto, M.** “Microbiología general de Staphylococcus aureus: Generalidades, patogenicidad y métodos de identificación”. *Revista Biomédica*, vol. 25, no 3 (2014), pp. 129-143.

ANEXOS

Anexo A: Preparación de magnetita (Fe_3O_4).



Anexo B: Medición de pH de los precipitados de magnetita (Fe_3O_4).



Anexo C: Magnetita (Fe_3O_4) disuelta en una solución de agua-etanol en diferentes concentraciones (1%, 5%,10%).



Anexo D: Muestras de $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4$ al 1% y al 10% en estado de gel.



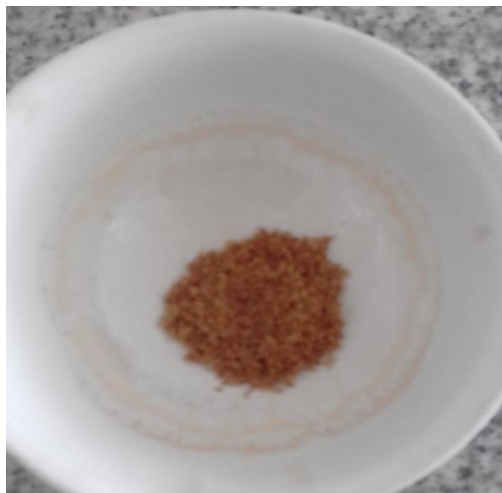
Anexo E: Muestra de $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4$ al 5% en estado de gel.



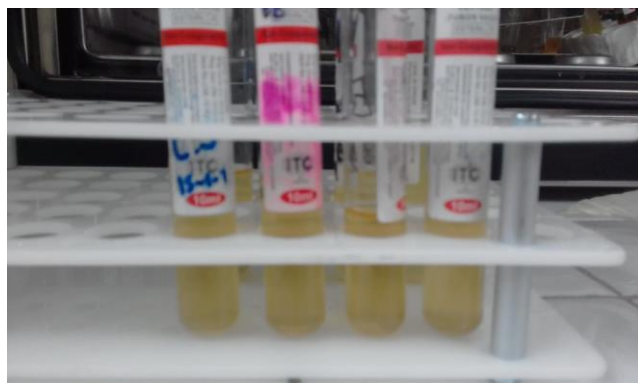
Anexo F: Muestras de $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4$ después del secado a 60 °C.



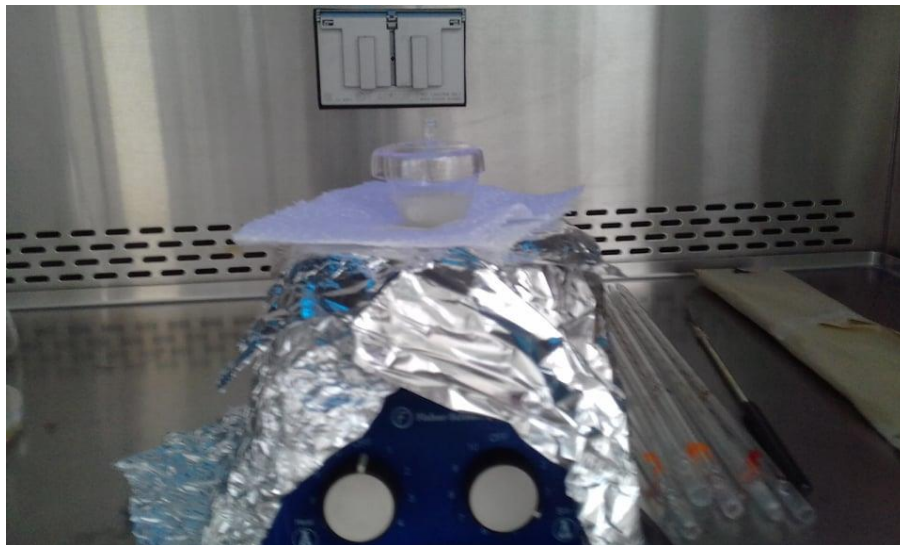
Anexo G: Muestra de $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4$ después de la calcinación a 60 °C.



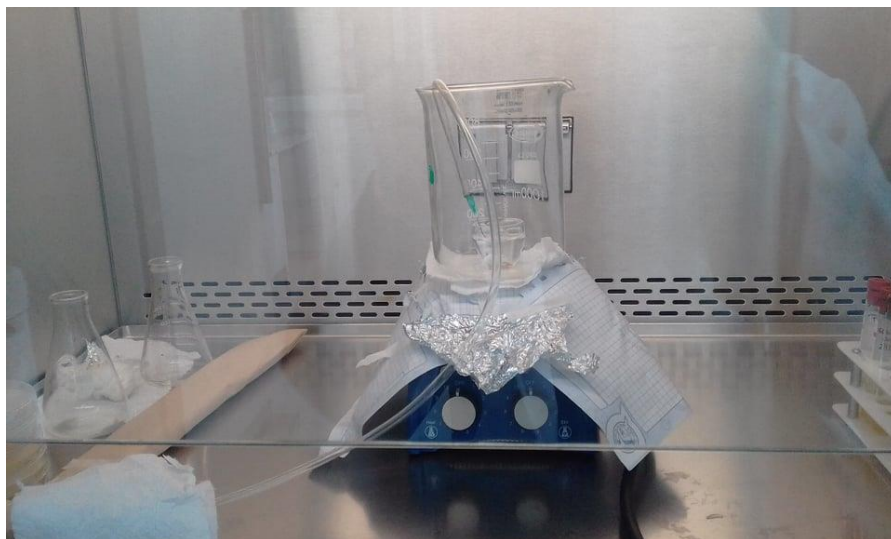
Anexo H: Muestra de *E.coli* y *S.aureus* contenidas en caldo nutritivo Mueller-Kauffman.



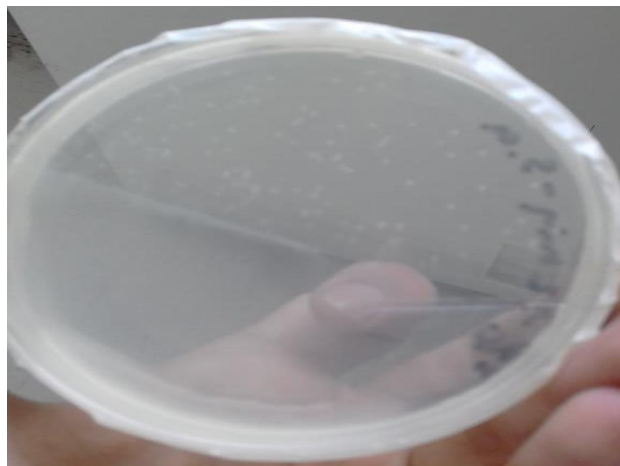
Anexo I: Proceso de fotocatalisis sin la aplicación de aireación.



Anexo J: Proceso de fotocatalisis al aplicar aireación.



Anexo K: Conteo de UFC después del proceso de fotocatalisis.



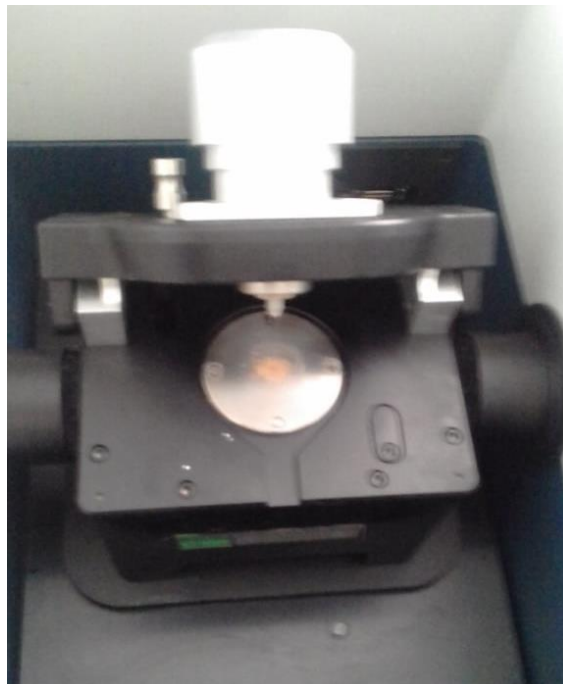
Anexo L: Medición del campo magnético



Anexo M: Recuperación del fotocatalizador de $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4$ mediante campo magnético.



Anexo N: Análisis del fotocatalizador compuesto de $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4$ en espectro IR.



Anexo O: Resultados DBO₅ de muestras de *E.coli* y *S.aureus* antes del proceso de fotocatalisis.


Servicios Analíticos Químicos y Microbiológicos

Contáctanos: 0998580374 - 032924322
Av. 11 de Noviembre y Milton Reyes Riobamba – Ecuador

INFORME DE ANÁLISIS DE AGUAS
Fecha: 27 de junio del 2018
Análisis solicitado por: Sr. Marco Urquizo
Tipo de muestras: Soluciones bacterianas
Localidad: Riobamba

Determinación de Demanda Bioquímica de Oxígeno DBO₅

Muestra	Unidades	Resultados
<i>Stafilococcus Aureus</i>	mg/L	370.0
<i>Escherichia Coli</i>	mg/L	1 080.0

Observaciones:

Atentamente,


Dra. Gina Álvarez R.
RESP. LABORATORIO


Servicio de Análisis Químicos y Microbiológicos
Dra. Gina Álvarez
Telf.: 2 924 322 // Cel.: 0998580374

Nota: El presente informe afecta solo a la muestra analizada

Anexo P: Resultados DBO₅ de muestras de *E.coli* y *S.aureus* después del proceso de fotocatalisis aplicando las concentraciones de 2.5g/l y 1g/l respectivamente (sin aireación).


Servicios Analíticos Químicos y Microbiológicos

Contáctanos: 0998580374 - 032924322
Av. 11 de Noviembre y Milton Reyes Riobamba – Ecuador

INFORME DE ANÁLISIS DE AGUAS
Fecha: 28 de junio del 2018
Análisis solicitado por: Sr. Marco Urquizo
Tipo de muestras: Soluciones bacterianas
Localidad: Riobamba

Determinación de Demanda Bioquímica de Oxígeno DBO₅

Muestra	Unidades	Resultados
<i>Stafilococcus Aureus</i> 1	mg/L	0
<i>Escherichia Coli</i> 1	mg/L	0

Observaciones:

Atentamente,


Dra. Gina Álvarez R.
RESP. LABORATORIO


Servicio de Análisis Químicos y Microbiológicos
Dra. Gina Álvarez
Telf.: 2 924 322 // Cel.: 0998580374

Nota: El presente informe afecta solo a la muestra analizada