



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

CARRERA INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL

**“EVALUACIÓN DE LA FACTIBILIDAD DEL USO DE
NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE BISMUTO COMO
BACTERICIDA EN MUESTRAS DE AGUAS SERVIDAS EN LA
COMUNIDAD SAN VICENTE DE LACAS, PROVINCIA DE
CHIMBORAZO”**

Trabajo de Titulación

Tipo: Proyecto de Investigación

Presentado para optar el grado académico de:

INGENIERA EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL

AUTOR: DAYANA MISHHELL ÁLVAREZ CONSTANTE

DIRECTORA: BQ. MISHHELL CAROLINA MORENO SAMANIEGO MSc.

Riobamba – Ecuador

2021

© 2021, Dayana Mishell Álvarez Constante

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

Yo, DAYANA MISHELL ÁLVAREZ CONSTANTE, declaro que el presente trabajo de titulación es de mi autoría y los resultados del mismo son auténticos. Los textos en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

Como autor asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este trabajo de titulación; el patrimonio intelectual pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Riobamba, 15 de diciembre del 2021.



Dayana Mishell Álvarez Constante

CI: 0603882416

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL

El Tribunal del Trabajo de Titulación certifica que: El Trabajo de Titulación; Tipo: Proyecto de Investigación, “**EVALUACIÓN DE LA FACTIBILIDAD DEL USO DE NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE BISMUTO COMO BACTERICIDA EN MUESTRAS DE AGUAS SERVIDAS EN LA COMUNIDAD SAN VICENTE DE LACAS, PROVINCIA DE CHIMBORAZO**”, realizado por la señorita: **DAYANA MISHELL ÁLVAREZ CONSTANTE**, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal del Trabajo de Titulación, el mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales, en tal virtud el Tribunal Autoriza su presentación.

	FIRMA	FECHA
Ing. Cristina Gabriela Calderón Tapia MSc PRESIDENTE DEL TRIBUNAL	 <small>Firmado electrónicamente por:</small> CRISTINA GABRIELA CALDERON TAPIA	15-12-2021
BQ. Mishell Carolina Moreno Samaniego MSc. DIRECTORA DE TRABAJO DE TITULACIÓN	 <small>Firmado electrónicamente por:</small> MISHELL CAROLINA MORENO SAMANIEGO	15-12-2021
Dr. Jorge Efren Silva Yumi PhD. MIEMBRO DEL TRIBUNAL	 <small>Firmado electrónicamente por:</small> JORGE EFREN SILVA YUMI	15-12-2021

TABLA DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS.....	vii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	viii
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	xix
RESUMEN.....	xix
ABSTRACT.....	xii
INTRODUCCIÓN.....	1

CAPÍTULO I

1. MARCO REFERENCIAL.....	4
1.1. Agua.....	4
1.1.1. Principales contaminantes del agua.....	4
1.1.2. Principales tipos de agua.....	6
1.1.3. Aguas servidas.....	7
1.1.4. Agua de riego.....	8
1.2. Bacterias.....	9
1.2.1. Bacterias indicadoras de contaminación del agua.....	10
1.3. Medios de cultivo.....	10
1.3.1. Clasificación de medios de cultivo según su uso.....	11
1.3.2. Siembra.....	12
1.3.3. Siembra en medios sólidos.....	12
1.4. Tinción Gram.....	14
1.4.1. Usos para caracterización morfológica de bacterias.....	15
1.5. Nanotecnología.....	15
1.5.1. Nanomaterial.....	16
1.5.2. Nanopartículas.....	16
1.5.3. Nanopartículas metálicas.....	17
1.6. Bismuto.....	18
1.6.1. Propiedades del bismuto.....	18
1.6.2. Aplicaciones del bismuto.....	18
1.7. Óxido de bismuto.....	19
1.7.1. Propiedades del óxido bismuto.....	19

1.8.	Nanopartículas de óxido de bismuto	20
1.8.1.	<i>Propiedades de oxidación fotocatalítica</i>	20
1.8.2.	<i>Principales métodos de síntesis para la obtención de nanopartículas de óxido de bismuto</i>	21
1.9.	Técnicas de caracterización de nanopartículas	24
1.9.1.	<i>Microscopio electrónico de barrido (SEM)</i>	24
1.9.2.	<i>Espectroscopia de Rayos X de energía dispersiva</i>	25
1.9.3.	<i>Espectroscopia de infrarrojo (IR)</i>	26
1.9.4.	<i>Espectroscopia de UV-Visible (UV-Vis)</i>	26

CAPÍTULO II

2.	MARCO METODOLÓGICO	28
2.1.	Localización del estudio	28
2.1.1.	<i>Población de estudio</i>	29
2.1.2.	<i>Obtención de las muestras de aguas servidas para uso de riego</i>	29
2.1.3.	<i>Técnicas de recolección de datos</i>	30
2.2.	Diseño del experimento	30
2.2.1.	<i>Hipótesis</i>	31
2.3.	Materiales y equipos.....	32
2.3.1.	<i>Materiales</i>	32
2.3.2.	<i>Equipos</i>	32
2.3.3.	<i>Reactivos</i>	33

CAPÍTULO III

3.	ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	34
3.1.	Síntesis de nanopartículas de óxido de bismuto.....	34
3.1.1.	<i>Síntesis verde de nanopartículas de óxido de bismuto</i>	34
3.1.2.	<i>Obtención de nanopartículas de óxido de bismuto</i>	35
3.2.	Caracterización de nanopartículas de óxido de bismuto sintetizadas	37
3.2.1.	<i>Análisis por microscopia electrónica de barrido (SEM)</i>	37
3.2.2.	<i>Espectroscopia de Rayos X de energía dispersiva</i>	37
3.2.3.	<i>Espectroscopia de infrarrojo (IR)</i>	38

3.2.4.	<i>Espectroscopia de UV-Visible (UV-Vis)</i>	40
3.3.	Pruebas físicas en alícuotas de muestras de aguas servidas para riego	40
3.3.1.	<i>Determinación de pH</i>	40
3.3.2.	<i>Determinación de turbidez</i>	43
3.4.	Preparación de medios de cultivo e identificación de bacterias	45
3.4.1.	<i>Preparación de diluciones de las muestras de agua servida para riego</i>	46
3.4.2.	<i>Preparación de medios de cultivo</i>	47
3.4.3.	<i>Siembra en placas</i>	48
3.4.4.	<i>Aislamiento de bacterias en medios de cultivo</i>	48
3.4.5.	<i>Caracterización e identificación morfológica de bacterias a partir de Tinción Gram</i>	49
3.5.	Pruebas microbiológicas a partir de muestras de aguas servidas para riego	50
3.5.1.	<i>Determinación del número de colonias en Agar Nutritivo</i>	51
3.5.2.	<i>Determinación del número de colonias en Agar Sangre</i>	53
3.6.	Análisis del Diseño Experimental	56
3.7.	Influencia de variables	57
3.7.1.	<i>Evaluación del efecto de las nanopartículas de óxido de bismuto en bacterias</i>	57
3.7.2.	<i>Evaluación del efecto del tiempo sobre las nanopartículas de óxido de bismuto</i>	58
3.7.3.	<i>Evaluación del efecto de la luz solar sobre las alícuotas de agua servida con nanopartículas de óxido de bismuto</i>	58
	CONCLUSIONES	59
	RECOMENDACIONES	60
	GLOSARIO	
	BIBLIOGRAFIA	
	ANEXOS	

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-2.	Coordenadas geográficas de la comunidad San Vicente de Lacas	28
Tabla 2-2.	VARIABLES INDEPENDIENTES	31
Tabla 1-3.	Evaluación de pH en alícuotas expuestas a las nanopartículas de Bi ₂ O ₃ en ausencia de luz solar.....	42
Tabla 2-3.	Evaluación de pH en alícuotas expuestas a las nanopartículas de Bi ₂ O ₃ en presencia de luz solar.....	43
Tabla 3-3.	Evaluación de turbidez en alícuotas expuestas a las nanopartículas de Bi ₂ O ₃ en ausencia de luz solar	44
Tabla 4-3.	Evaluación de turbidez en alícuotas expuestas a las nanopartículas de Bi ₂ O ₃ en presencia de luz solar	45
Tabla 5-3.	Número de colonias con nanopartículas de Bi ₂ O ₃ en Agar Nutritivo	52
Tabla 6-3.	Número de colonias con nanopartículas de Bi ₂ O ₃ en Agar Nutritivo	52
Tabla 7-3.	Número de colonias con y sin nanopartículas de Bi ₂ O ₃ en Agar Nutritivo.....	53
Tabla 8-3.	Número de colonias con nanopartículas de Bi ₂ O ₃ en Agar Sangre	54
Tabla 9-3.	Número de colonias con nanopartículas de Bi ₂ O ₃ en Agar Sangre.....	55
Tabla 10-3.	Número de colonias con y sin nanopartículas de Bi ₂ O ₃ en Agar Nutritivo.....	55
Tabla 11-3.	Coefficiente de Correlación de Pearson para los resultados en Agar Nutritivo	56
Tabla 12-3.	Coefficiente de Correlación de Pearson para los resultados en Agar Sangre.....	57

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1-1. Bacteria patógena E. coli a nivel microscópico	5
Figura 2-1. Aguas servidas en la comunidad San Vicente de Lacas.....	7
Figura 3-1. Análisis de pH en aguas servidas para uso de riego.....	9
Figura 4-1. Medios de cultivo sólido Agar Nutritivo.....	11
Figura 5-1. Medio de cultivo selectivo diferencial Agar Sangre	12
Figura 6-1. Siembra por estrías.....	14
Figura 7-1. Tinción Gram de cocobacilos Gram positivos en microscopía (100x)	14
Figura 8-1. Identificación de cocos Gram positivos con tinción Gram	15
Figura 9-1. Dimensiones posibles de los nanomateriales	16
Figura 10-1. Microscopia electrónica de barrido de nanopartículas de dióxido de titanio	17
Figura 11-1. Microscopia electrónica de barrido de nanopartículas metálicas de plata.....	17
Figura 12-1. Estructura cristalina del bismuto	18
Figura 13-1. Difractograma de rayos X y estructura cristalina del óxido de bismuto	19
Figura 14-1. Aglomeración de nanopartículas óxido de bismuto	20
Figura 15-1. Mecanismo de inhibición microbiana por acción de la oxidación fotocatalítica en nanopartículas metálicas.....	21
Figura 16-1. Esquema del proceso de ablación laser	23
Figura 17-1. Síntesis verde de nanopartículas de plata.....	24
Figura 18-1. Nanomaterial de óxido de bismuto visto por Microscopio Electrónico de Barrido	25
Figura 19-1. Esquema de funcionamiento del Microscopio Electrónico de Barrido	25
Figura 20-1. Espectros de cemento seco obtenido por Infrarrojo	26
Figura 21-1. Esquema de funcionamiento del Uv-Visible.....	27
Figura 1-2. Tanque donde llegan las aguas servidas prefiltradas.....	30
Figura 2-2. Recolección de muestras de agua tomadas directamente del tanque.....	30
Figura 1-3. Hojas de Mentha arvensis en buen estado.....	34
Figura 2-3. Hojas de Mentha arvensis secas y cortadas.....	35
Figura 3-3. Extracto de Mentha arvensis	35
Figura 4-3. Solución de extracto de menta y nitrato de bismuto con agua destilada	36
Figura 5-3. Nanopartículas de óxido de bismuto en estado sólido obtenidas	36
Figura 6-3. Microscopia Electrónica de Barrido de nanopartículas de Bi ₂ O ₃	37
Figura 7-3. Espectroscopia de Rayos X de energía dispersiva de nanopartículas Bi ₂ O ₃	38
Figura 8-3. Microscopio Eléctrico de Barrido (SEM)	38

Figura 9-3. Espectroscopia de Infrarrojo de nanopartículas Bi_2O_3	39
Figura 10-3. Espectrofotómetro de Infrarrojo.....	39
Figura 11-3. Espectroscopia de UV-Visible de nanopartículas Bi_2O_3	40
Figura 12-3. Medición de pH de las muestras.....	41
Figura 13-3. Medición de pH inicial	41
Figura 14-3. Medición de turbidez.....	43
Figura 15-3. Medición de turbidez inicial.....	44
Figura 16-3. Caracterización morfológica de bacterias mediante Tinción Gram	46
Figura 17-3. Diluciones de las muestras de aguas servidas	46
Figura 18-3. Preparación de medios de cultivo.....	48
Figura 19-3. Colonias encontradas en la siembra por extensión.....	49
Figura 20-3. Cepa pura aislada	49
Figura 21-3. Bacterias vistas luego de realizar Tinción Gram.....	50
Figura 22-3. Microscopio binocular.....	50
Figura 23-3. Colonias obtenidas de la muestra inicial en Agar Nutritivo.....	51
Figura 24-3. Colonias obtenidas de la muestra inicial en Agar Sangre	54
Figura 25-4. Resultados de la correlación de Pearson en Excel.....	56

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1-2. Proceso de recolección de muestras simples	29
Gráfico 1-3. Procedimiento para preparar diluciones de la muestra de aguas servidas	47
Gráfico 2-3. Proceso para la reparación de medios de cultivo	47

RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue evaluar la factibilidad del uso de nanopartículas de óxido de bismuto (Bi_2O_3) como bactericida en muestras de aguas servidas en la comunidad San Vicente de Lacas, provincia de Chimborazo; para lo cual se realizaron tanto pruebas físicas de pH y turbidez como pruebas microbiológicas, en las que se determinó el número de colonias bacterianas presentes en distintos medios de cultivo. Se realizó como primera parte, una síntesis verde para obtener las nanopartículas a partir de extracto de *Mentha arvensis*, estas nanopartículas sintetizadas posteriormente se utilizaron para determinar su capacidad bactericida, para lo cual se realizaron pruebas con siembras cada 1, 2, 4 y 6 horas con y sin la aplicación de nanopartículas de óxido de bismuto mostrando una reducción de 15 a 0 colonias en Agar Nutritivo y de 5 a 0 colonias en Agar Sangre. Para el análisis estadístico se utilizó la Correlación de Pearson, con lo cual se estableció una correlación inversa entre el número de colonias y el tiempo de exposición de las muestras de aguas servidas de riego a las nanopartículas de óxido de bismuto. Se concluye que el uso de nanopartículas de óxido de bismuto como bactericida es bastante eficiente por su capacidad de disminuir la carga bacteriana en las muestras utilizadas. Se recomienda hacer pruebas con otros tipos de contaminantes para evaluar el comportamiento de las nanopartículas de óxido de bismuto.

Palabras clave: <BIOTECNOLOGÍA>, <SÍNTESIS VERDE>, <NANOPARTÍCULAS>, <ÓXIDO DE BISMUTO (Bi_2O_3) >, <BACTERICIDA>, <AGUAS SERVIDAS>, <COLONIAS BACTERIANAS>, <CHIMBORAZO (PROVINCIA)>.

LEONARDO
FABIO MEDINA
NUSTE

Firmado digitalmente por LEONARDO
FABIO MEDINA NUSTE
Nombre de reconocimiento (DN): c=EC,
o=BANCO CENTRAL DEL ECUADOR,
ou=ENTIDAD DE CERTIFICACION DE
INFORMACION-ECIBCE, l=QUITO,
serialNumber=0000621485,
cn=LEONARDO FABIO MEDINA NUSTE
Fecha: 2022.01.03 17:50:09 -05'00'



0005-DBRA-UTP-2022

ABSTRACT

The aim of the current research was to evaluate the feasibility of bismuth oxide nanoparticles (Bi_2O_3) used as a bactericide for wastewater samples in San Vicente de Lacas community, located in Chimborazo province; for this, physical pH and turbidity tests as well as microbiological tests were carried out, which determined the number of bacterial colonies present in different culture media. First of all, a green synthesis was carried out to obtain the nanoparticles from *Mentha arvensis* extract, these synthesized nanoparticles were used to determine their bactericidal capacity, for which seeding tests every 1, 2, 4 and 6 hours were carried out with and without the use of bismuth oxide nanoparticles showing a decrease from 15 to 0 colonies in Nutrient Agar and from 5 to 0 colonies in Blood Agar. For the statistical analysis, Pearson Correlation was used, which established an inverse correlation between the number of colonies and the exposure time of the irrigation wastewater samples to bismuth oxide nanoparticles. It is concluded that the use of bismuth oxide nanoparticles as a bactericide is quite efficient due to its ability to reduce the bacterial load in the samples used. Testing with other types of contaminants is recommended to assess the behavior of bismuth oxide nanoparticles.

Keywords: <BIOTECHNOLOGY>, <GREEN SYNTHESIS>, <NANOPARTICLES>, <BISMUTH OXIDE (Bi_2O_3)>, <BACTERICIDE>, <WASTEWATER>, <BACTERIAL COLONIES>, <CHIMBORAZO (PROVINCE)>.



Firmado electrónicamente por:
**PAUL ROLANDO
ARMAS PESANTEZ**

INTRODUCCIÓN

A nivel mundial la nanotecnología ha logrado captar la atención de la comunidad científica debido al sin número de aplicaciones que tiene en diversos campos. En especial el uso de nanopartículas para tratamientos específicamente del recurso agua ha sido valioso, ya que producen efectos grandes a pesar de que los tamaños son nanométricos (Motakef Kazemi y Yaqoubi, 2019, p2). En Ecuador son pocos los estudios que se han realizado sobre la capacidad bactericida de las nanopartículas metálicas, sin embargo, han sido de gran ayuda, lo cual permite la evaluación de diversos puntos de vista para la elección de un tratamiento adecuado de acuerdo con el sitio donde se esté realizando la investigación. En la provincia de Chimborazo la principal actividad económica es la agricultura, donde el agua de riego empleada para las actividades agrícolas del sector toma un papel importante, la cual al estar contaminada no solo representa un problema a la comunidad, sino también a toda la línea de producción que sucesivamente irá consumiendo la población. La comunidad San Vicente de Lacas es un claro ejemplo del nivel de contaminación del recurso agua debido a que las aguas servidas que se encuentran en la localidad presentar a simple vista un grave problema de contaminación. Esta comunidad se encuentra ubicada a 2850 m.s.n.m. y cuenta con alrededor de 1540 habitantes, los cuales dedican su vida a la agricultura y comercialización de productos agrícolas (Castro, 2020 p. 10). En la actualidad, el desarrollo de tecnologías innovadoras y eficientes para su posterior uso como tratamiento de aguas con alta carga contaminante se ha convertido en una prioridad (Deza Martí 2017 p. 14). El objetivo de este trabajo es asegurar la conservación del ambiente, así como precautelar el cuidado del agua y su calidad a nivel microbiológico. El empleo de nanopartículas en tratamientos ambientales está tomando un papel protagónico al ser uno de los más efectivos en la mejora de la calidad de efluentes y amplia remoción de contaminantes (Chávez-Lizárraga, 2018, p. 53). El interés por el uso de nanopartículas ha ido en aumento debido a sus propiedades y reducido tamaño. El óxido de bismuto da paso a la fotocatalisis y la fotooxidación las cuales se han convertido en dos alternativas atractivas para el tratamiento de aguas (Vargas-Hernández et al. 2016 p. 27). Se constituye como un óxido estable y a la vez inocuo, permitiendo su aplicación en remediación ambiental, principalmente en el tratamiento de agua (Mosquera et al. 2015, p. 7). El presente trabajo aportará una solución a la problemática de contaminación del agua en la comunidad San Vicente de Lacas, mediante de la aplicación de nanopartículas de óxido de bismuto como tratamiento microbiológico, mismas que cuentan con procesos fotoquímicos y fotocatalíticas que poseen un gran potencial para convertirse en alternativas viables de tratamiento de aguas. Estas permiten la conversión de contaminantes orgánicos a sustancias menos tóxicas, asegurando la salud de los moradores de la comunidad San Vicente de Lacas y garantizando un nivel de vida digno.

La búsqueda de nuevos tipos de tratamientos se lleva a cabo con la finalidad de eliminar eficientemente bacterias en el recurso agua cambiando de esta manera el sistema de tratamiento a pequeña y gran escala. Este trabajo será de gran utilidad a nivel local, ya que se han realizado pocas investigaciones respecto al uso de nanopartículas como bactericida y por lo tanto nos da la oportunidad de aplicar esta tecnología en varios sitios que tienen efluentes con alta carga microbiana. Existen varios estudios que nivel mundial que han aportado durante la realización del presente trabajo, como es el caso de la Universidad Islámica de Azad la cual realizó una investigación llamada “*Inhibitory Effect of Bismuth Oxide Nanoparticles Produced by Bacillus licheniformis on Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus Strains (MRSA)*” utilizando nanoestructuras de óxido de bismuto (Bi_2O_3) donde el objetivo fue la extracción o disminución de benceno en muestras de aguas y posteriormente determinar la actividad bacteriana por gramo del óxido (Firouzi Dalvand et al. 2018, p. 280). Así como también la Universidad Al-Mustansiriyah evaluó la actividad bactericida de nanoesferas a partir de Bi_2O_3 contra bacterias, entre las cuales se encuentran: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Klebsiella spp* (Abass et al. 2014, p. 86).

OBJETIVOS

Objetivo general

- Evaluar la factibilidad del uso de nanopartículas de óxido de bismuto como bactericida en muestras de aguas servidas en la comunidad San Vicente de Lacas, provincia de Chimborazo.

Objetivos específicos

- Compilar información relevante acerca del óxido de bismuto y su acción bactericida.
- Sintetizar nanopartículas de dióxido de bismuto mediante síntesis verde.
- Evaluar según los resultados obtenidos la viabilidad del uso de nanopartículas de óxido de bismuto como bactericida.

CAPÍTULO I

1. MARCO REFERENCIAL

1.1. Agua

El agua dulce es un recurso vital, sin embargo, cada vez es más escaso. Esta escasez está producida por el crecimiento demográfico, la urbanización y la industrialización asociada a nuevas demandas potenciales sobre los recursos hídricos existentes, a lo que se suman los conflictos asociados a los cambios climáticos. Por esta razón el reúso creciente de aguas residuales para la agricultura, la acuicultura, la recarga de aguas subterráneas y otros usos se ha incrementado paulatinamente (González González y Chiroles Rubalcaba, 2011, p. 61).

1.1.1. Principales contaminantes del agua

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) un agua es considerada como contaminada cuando se alteran todas sus propiedades aptas para el uso de cualquier tipo. El agua que está contaminada presenta alteraciones tanto físicas como biológicas, las cuales pueden ser de origen natural o antropogénico, siendo este último es de mayor riesgo debido a la generación de residuos. Entre principales contaminantes del agua podemos encontrar microorganismos patógenos, desechos orgánicos, sustancias químicas y compuestos orgánicos (García, 2016, p. 11).

1.1.1.1. Microorganismos patógenos

Los microorganismos patógenos se pueden presentar de diferentes tipos ya sea en forma de bacterias, virus, protozoos u otro tipo. Muchas de las enfermedades que se producen para este tipo de microorganismos pueden llegar a provocar la muerte. Es por ello que un buen índice para medir la salubridad en las aguas es otra vez componente de los microorganismos patógenos especialmente bacterias coliformes (García 2016, p. 11).

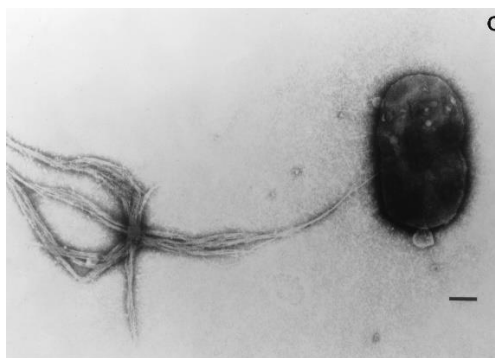


Figura 1-1. Bacteria patógena *E. coli* a nivel microscópico

Fuente: (Motakef Kazemi y Yaqoubi 2019).

1.1.1.2. Desechos orgánicos

Los desechos orgánicos se constituyen como un grupo de residuos orgánicos que proviene de la descomposición de residuos por medio de bacterias, generando el consumo de oxígeno por parte de las mismas. Los desechos orgánicos pueden ayudar a medir el índice de contaminación a través de la demanda biológica de oxígeno y así poder determinar qué tan buena o mala será la calidad del recurso agua (García 2016, p. 12).

1.1.1.3. Sustancias químicas

Las sustancias químicas son aquellas que pueden estar constituidas por ácidos, sales o por metales como lo es el plomo o mercurio logrando ocasionar gran daño a los seres vivos si se llegan a encontrar en diferentes tipos de agua y así mismo, llegar a perjudicar a cultivos si se usan para el riego (García 2016, p. 12).

1.1.1.4. Compuestos orgánicos

Los compuestos orgánicos tales como el petróleo, detergentes, plaguicidas o plásticos contienen moléculas que permanecen largos tiempos en el agua causando que exista una difícil degradación por parte de organismos especialmente en el agua, por lo cual son altamente contaminantes. A pesar que la normativa regula la descarga de este tipo de contaminantes no ha sido suficiente (García 2016, p. 13).

1.1.2. Principales tipos de agua

La Organización Mundial de la Salud (OMS) posee su clasificación pues existen diferentes tipos de agua en función de sus características químicas, físicas o biológicas. Los principales tipos de agua que se consideran son: agua potable, dulce, salada, salobre, y residual (Fernandez 2012, p. 213).

1.1.2.1. Agua potable

El agua potable se puede definir de acuerdo con las Guías de Calidad de la Organización Mundial de la Salud como un agua que puede utilizarse para el consumo humano y uso doméstico, así como también para la higiene personal, es un agua libre de microorganismos patógenos y de alta calidad para evitar riesgos en la salud (Robert 2014, p. 26).

1.1.2.2. Agua dulce

El agua dulce está representada tan sólo con el 2.5% del agua de toda la tierra y la mayor parte en forma de hielo o en el subsuelo. Lo que nosotros como seres humanos podemos consumir se encuentra en ríos y lagos, que es sólo una pequeña fracción de esta agua depende la agricultura la industria y todos los seres vivos (WWF, 2016).

1.1.2.3. Agua salada

El agua salada está constituida por mares y océanos. Este tipo de agua contiene alta salinidad y corresponden a las aguas territoriales en la que términos distintos región sus derechos internacionales (Ministerio del Ambiente 2017, p. 263).

1.1.2.4. Agua salobre

El agua salobre es aquel tipo de agua que posee una salinidad comprendida entre 0.5 y 30 UPS de sales. UPS es la unidad práctica de salinidad que representa la cantidad de gramos de sales disueltas por kilogramo de agua (Ministerio del Ambiente 2017, p. 263).

1.1.2.5. Agua residual

El agua residual es aquella que tiene una composición proveniente de distintos usos ya sea industrial, doméstico, agrícola, entre otros (Ministerio del Ambiente 2017, p. 263).

1.1.3. Aguas servidas

Las aguas servidas son aquellas que se producen a través del alcantarillado desde las viviendas hasta los cursos de agua de un lago o el mar. La cantidad de agua servida que se produzca en cada domicilio va a depender de la población y de diversos factores, ese tipo de aguas está constituida por una pequeña porción de sólidos suspendidos que ejerce una acción muy importante en sus efectos a corto y largo plazo. Generalmente tienen un olor desagradable y contienen compuestos químicos inorgánicos que hace que se conviertan en un problema de contaminación (Astudillo Godoy 1986, p. 4).



Figura 2-1. Aguas servidas en la comunidad San Vicente de Lacas

Fuente: Álvarez, 2021.

1.1.3.1. Efectos contaminantes de aguas servidas

Los principales efectos contaminantes de las aguas servidas son los malos olores a consecuencia de las sustancias y compuestos que existen en constante descomposición generando gases tóxicos. Por otro lado, la contaminación ambiental originada por este tipo de aguas se convierte en un problema de salud comunitaria debido a las enfermedades que pueden adquirir los moradores de estas localidades. La modificación física o estética por la constante de descarga de efluentes y la polución

térmica dada por residuos líquidos industriales ha hecho que se convierta en un foco constante de contaminación (Rodríguez Pimentel 2017).

1.1.3.2. Tratamiento de aguas servidas

El tratamiento de aguas servidas tiene como objetivo eliminar las sustancias nocivas contaminantes y posteriormente devolver este tipo de aguas al ciclo normal, ya sea por el desagüe al mar o por reutilización directa. Entre las sustancias que se pueden llegar a eliminar están aceites, harinas, sólidos sedimentables y compuestos como amoníaco y fosfatos. Existen varios tratamientos para tratar las aguas servidas, los cuales ayudan a mejorar el estado y calidad de esas aguas como lo son los tratamientos físicos que implican una separación física de sólidos de distintos tamaños; los tratamientos químicos que constituyen una serie de procesos químicos que ayudan a la eliminación o reducción de sustancias nocivas como nitratos o fosfatos; y tratamientos biológicos que eliminan contaminantes coloidales a través de microorganismos por procesos aeróbicos o anaeróbicos (Rodríguez 2020).

1.1.4. Agua de riego

El agua de riego es aquella que se utiliza para el riego de cultivos dentro del sector agrícola. La calidad de esta agua depende de su disponibilidad y las necesidades que tengan cada uno de los sembríos. Cabe recalcar que un agua tiene la capacidad de utilizarse para riego cuando garantice un rendimiento óptimo y no produzca efectos perjudiciales tanto el suelo como las personas que los consumen (Quinteros Carabalí et al. 2019, p. 47).

1.1.4.1. Importancia del agua de riego

El agua de riego es muy importante dentro del sector agrícola debido a que es el recurso determinante dentro del crecimiento y el rendimiento de los sembríos que el agricultor lleva a cabo. Una mala calidad en el agua de riego o una mala elección dentro del sistema de riego provocaría la pérdida de cultivos y a su vez del agricultor a nivel económico (García 2019).

1.1.4.2. Análisis para agua de riego

Un análisis para el agua de riego es fundamental dado que nos permite conocer las características de la misma y nos aporta información que permitirá conocer el estado de los cultivos y el suelo. De esta manera podemos garantizar que exista un rendimiento óptimo en todo tipo de cultivo sin que produzca efectos perjudiciales en los suelos (Garcia 2019).

1.1.4.3. Principales parámetros de análisis

Entre los principales parámetros de análisis que existen para el agua de riego están aquellos que nos permitirán conocer cómo se llevará el crecimiento y la productividad de los cultivos. En el caso del pH, nos va a dar a conocer si el aporte del agua ayudará a mejorar la disponibilidad de nutrientes. En cuanto a la turbidez, este parámetro dará a conocer la cantidad de sólidos que existen dentro del agua de riego en el caso de proceder de aguas residuales reutilizables (Garcia 2019).



Figura 3-1. Análisis de pH en aguas servidas para uso de riego

Fuente: Álvarez, 2021.

1.2. Bacterias

Las bacterias son aquellos microorganismos de tipo unicelulares que tienen un tipo de reproducción binaria, es decir, un tipo de reproducción asexual resulta de la división de las células en dos a partir de una célula madre. Poseen mecanismos productores de energía y material genético que son

necesarios para su crecimiento las bacterias integran el reino procariota, tienen estructuras como membrana celular, ribosomas y ácido desoxirribonucleico que es el portador de la información genética de cada microorganismo (Vargas-Flores y Kuno-Vargas 2015, p. 2594).

1.2.1. Bacterias indicadoras de contaminación del agua

La calidad biológica dentro de las aguas es muy importante debido al valor ambiental que se adquiere de modo que las bacterias indicadoras son de gran valor cuando se trata de determinar la contaminación del recurso agua. Las bacterias más utilizadas para este tipo evaluación son las bacterias heterotróficas y las bacterias coliformes (Larrea, et al., 2013 p. 24).

1.2.1.1. Bacterias Heterotróficas

Las bacterias heterotróficas son aquellas bacterias presentes en diversos cuerpos de agua y que se constituye como bacterias ambientales por a su amplia distribución. Son muy importantes ya que indican la eficacia del proceso de tratamiento de desinfección (Marchand, 2002 p. 7).

1.2.1.2. Bacterias coliformes

Las bacterias coliformes están integradas por cinco géneros los cuales son *Klebsiella*, *Escherichia*, *Enterobacteria*, *Citrobacter* y *Serratía*. Se constituyen como bacterias indicadoras de contaminación del agua debido a que no deben por ningún motivo estar presentes en el almacenamiento o distribución del agua, en el caso de que fueran encontradas demostraría un indicio de que el tratamiento de agua o el agua que se está utilizando es inadecuada para su uso (Marchand, 2002 p. 7).

1.3. Medios de cultivo

Muchos microorganismos con las que se realizan investigaciones de laboratorio necesitan tener las condiciones químicas y físicas apropiadas para su crecimiento, por lo que se crean medios de cultivo que van a proporcionar a los diferentes microorganismos todas las características que puedan simular una condición normal. Los medios de cultivo se formulan de acuerdo con las exigencias del microorganismo, con el fin de conseguir su crecimiento y multiplicación (Gómez, et al., 2006 p. 17).

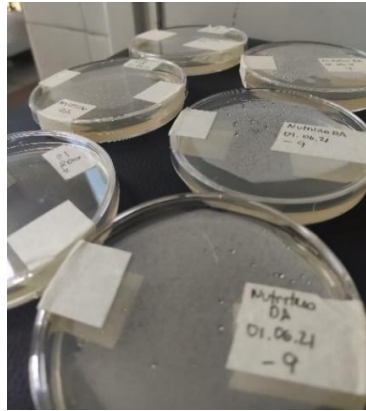


Figura 4-1. Medios de cultivo sólido Agar Nutritivo

Fuente: Álvarez, 2021.

1.3.1. Clasificación de medios de cultivo según su uso

Debemos tener en cuenta que, dependiendo de los requerimientos de los microorganismos, tendremos diferentes tipos de medios de cultivo como los selectivos, diferenciales o generales (Gómez, et al., 2006 p. 17).

1.3.1.1. Medios de cultivo generales

Los medios generales en los que se puede cultivar cualquier clase de microorganismos ya sean hongos, bacterias o protozoos. Un ejemplo de este tipo de medios de cultivo sólidos, es el Agar PDA o papa dextrosa (Mondino, 2009).

1.3.1.2. Medios de cultivo selectivos

Los medios de cultivo selectivos son que ellos que dentro de su preparación se debe incorporar alguna sustancia que impida el crecimiento de otro tipo de microorganismos, es decir, si queremos el crecimiento de bacterias se aplicará alguna sustancia para evitar el crecimiento de cualquier otro microorganismo que no corresponda a una bacteria (Mondino, 2009).

1.3.1.3. Medios de cultivo diferenciales

Los medios de cultivo diferenciales son aquellos que facilitan la discriminación de microorganismos a través de la mezcla de sus propiedades diferenciales de crecimiento (Mondino, 2009).

1.3.1.4. Medios de cultivos selectivos diferenciales

Los medios de cultivo selectivos diferenciales se crean a partir de la mezcla de las características de los cultivos selectivos y los cultivos diferenciales en donde el crecimiento específico de un microorganismo se dará de forma inmediata sin que exista la presencia de una población microbiana distinta. Un ejemplo de este tipo de medios de cultivo sólidos, es el Agar Sangre (Mondino, 2009).

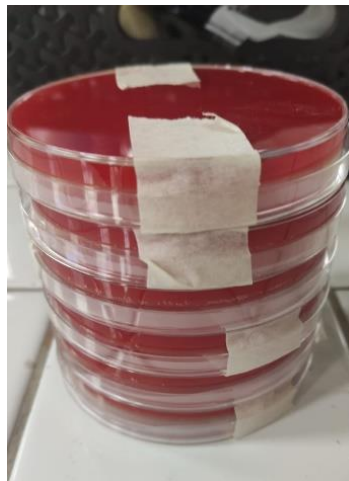


Figura 5-1. Medio de cultivo selectivo diferencial Agar Sangre

Fuente: Álvarez, 2021.

1.3.2. Siembra

La siembra o también denominado inoculación consiste en la introducción de una porción de microorganismo o también llamado inóculo de manera voluntaria en un medio adecuado con el fin de iniciar un cultivo con un crecimiento y desarrollo apropiado. Cada microorganismo requiere de una temperatura y condiciones distintas (Santambrosio, Eduardo; Blacio 2009, p. 2).

1.3.3. Siembra en medios sólidos

Existen diferentes tipos de siembra en medios sólidos. Lo fundamental a tener en cuenta es que siempre que se realicen siembras debemos contar con un espacio escéptico, materiales esterilizados, equipos de protección personal y en lo posible trabajar con flujos laminares o mecheros que permitan

la ausencia completa de microorganismos externos. Los principales grupos de siembra son por inmersión, de doble capa, en superficie y en estría (Santambrosio, Eduardo; Blacio 2009, p. 2).

1.3.3.1. Siembra por inmersión

La siembra por inmersión involucra la colocación de parte del microorganismo en la caja Petri y sobre el mismo se verá el medio previamente fundido por lo cual es ideal para microorganismos aerobios (Santambrosio, Eduardo; Blacio 2009, p. 2).

1.3.3.2. Siembra en doble capa

La siembra en doble capa es muy similar a la siembra por inmersión con la diferencia de que el medio ya se encuentra en estado sólido y se agrega una cantidad extraída del medio para cubrir una capa anterior, una vez que se ha colocado el inóculo. Es ideal para organismos anaerobios o anaerobios facultativos (Santambrosio, Eduardo; Blacio 2009, p. 2).

1.3.3.3. Siembra en superficie

La siembra en superficie consiste en colocar directamente sobre la caja Petri un medio de cultivo fundido y una vez que se encuentre en estado sólido se coloca sobre la superficie el inóculo. Este tipo de siembra es perfecto para microorganismos aerobios estrictos (Santambrosio, Eduardo; Blacio 2009, p. 2).

1.3.3.4. Siembra en estría

En la siembra por estría se vierte sobre una caja Petri el medio de cultivo hasta que se encuentre en estado sólido. Luego con ayuda de un asa el inóculo inicial se coloca en la primera esquina de la caja realizando un primer grupo de estrías, girando la placa a 90° se hará el mismo procedimiento 3 veces más y se obtendrá el resultado final (Santambrosio, Eduardo; Blacio 2009, p. 2).

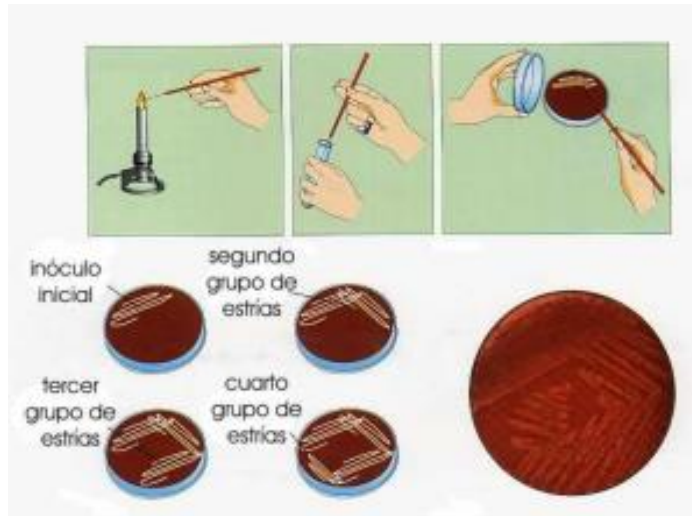


Figura 6-1. Siembra por estrías

Fuente: (Santambrosio, et al., 2009 p. 3).

1.4. Tinción Gram

La Tinción Gram es un procedimiento que ayuda a la distinción de bacterias en dos grupos: Gram positivos y Gram negativos a través de las Tinciones de diferentes colores dependiendo la estructura de su pared celular. Las bacterias Gram positivas tiene una pared gruesa compuesta de peptidoglucano en gran cantidad, que al contrario de las Gram negativas que tienen una capa delgada el color de tinción será distinto. Para las Gram positivas el color de Tinción será azul-violeta y habrá presencia de ácidos persistentes en su pared celular, mientras que para Gram negativas el color de tinción Gram será rojo y se denotará la presencia de lipopolisacáridos presentes en su pared celular (Rodríguez y Arenas 2018, p. 166).

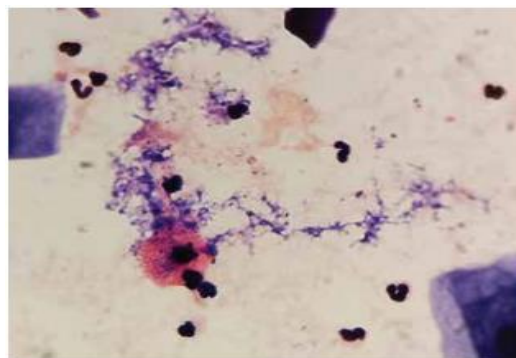


Figura 7-1. Tinción Gram de cocobacilos Gram positivos en microscopía (100x)

Fuente: (Rodríguez y Arenas, 2018. p. 167).

1.4.1. Usos para caracterización morfológica de bacterias

La Tinción Gram ha sido un método eficaz y relativamente económico para ser utilizado en la caracterización morfológica de bacterias, debido que mediante la observación del color de tinción podemos clasificar las bacterias tanto en Gram positivas como en Gram negativas. De esta manera se puede conocer con el tipo de bacteria que se va a trabajar, que en conjunto con una microscopia 100x podemos ver aspectos físicos morfológicos como el tamaño, forma y textura que nos proporcionará una mayor información.

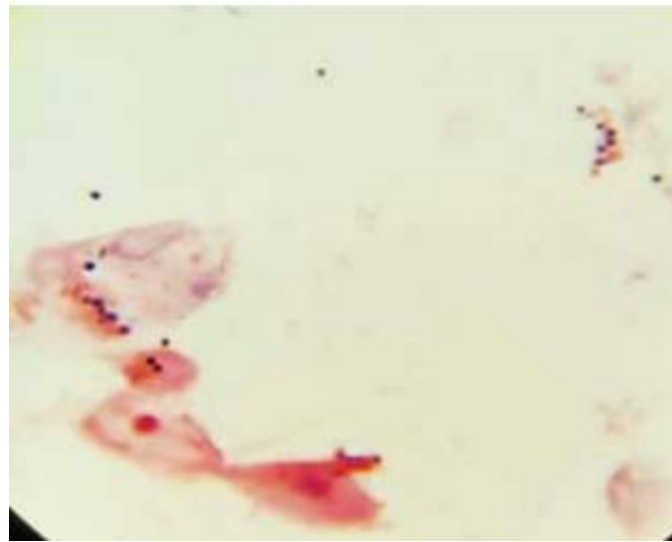


Figura 8-1. Identificación de cocos Gram positivos con tinción Gram

Fuente: (Rodríguez, et al., 2018 p. 167).

1.5. Nanotecnología

La nanotecnología es una ciencia en la cual interviene nanomateriales, nano-objetos y nanopartículas, en otras palabras, aquellos materiales que tienen una dimensión menor a los 100 nanómetros. Esta ciencia se encarga de controlar producir y aplicar materiales dentro de este rango de tamaño (1-100 nm). La nanotecnología ha tomado un papel fundamental debido a las propiedades que poseen, entre las cuales se encuentran temperatura de fusión, capacidad de carga como conducción eléctrica. Además, abarca distintas ciencias como la bioingeniería, biotecnología, ingeniería óptica y la medicina (Santodomingo 2018, p. 13).

1.5.1. Nanomaterial

Un nanomaterial es aquel material que posee una sola dimensión y su rango de tamaño va desde 1 a 100 nm (Santodomingo 2018, p. 13).

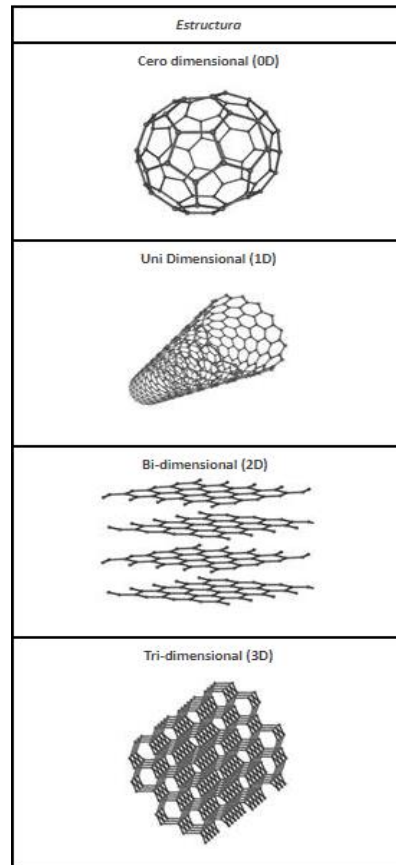


Figura 9-1. Dimensiones posibles de los nanomateriales

Fuente: (Gómez, 2018).

1.5.2. Nanopartículas

Las nanopartículas son nanomateriales que posee un tamaño menor a 100 nanómetros y posee 3 dimensiones (Santodomingo 2018, p. 13).

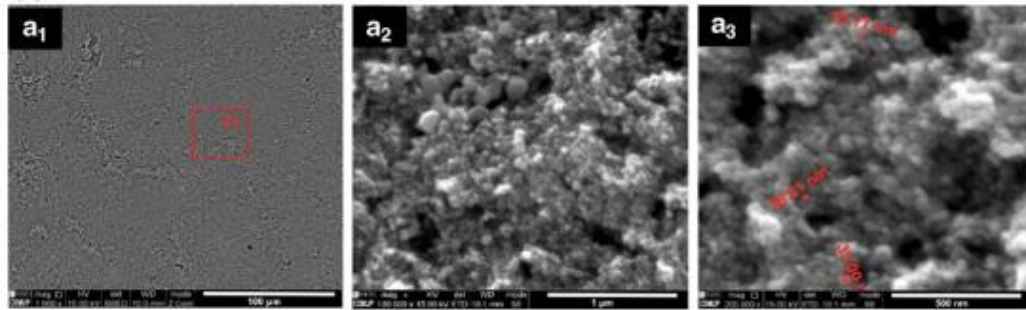


Figura 10-1. Microscopia electrónica de barrido de nanopartículas de dióxido de titanio

Fuente: (Carneiro, y otros, 2014 pág. 7482).

1.5.3. *Nanopartículas metálicas*

Las nanopartículas metálicas son el tipo de nanomateriales o nanoestructuras más utilizadas debido a la relativa facilidad de obtención, así como la fácil manipulación de forma o tamaño dependiendo del tipo de estudio que se realice. Estas partículas poseen propiedades magnéticas o de conducción eléctrica que permite su aplicación en diversos campos, siendo utilizadas como marcadores biológicos, bactericidas, en celdas solares, entre otros. Las primeras nanopartículas metálicas en ser utilizadas fueron las nanopartículas de oro y plata teniendo sus primeras aplicaciones en moldeado de vidrio (López Téllez et al. 2013, p. 6).

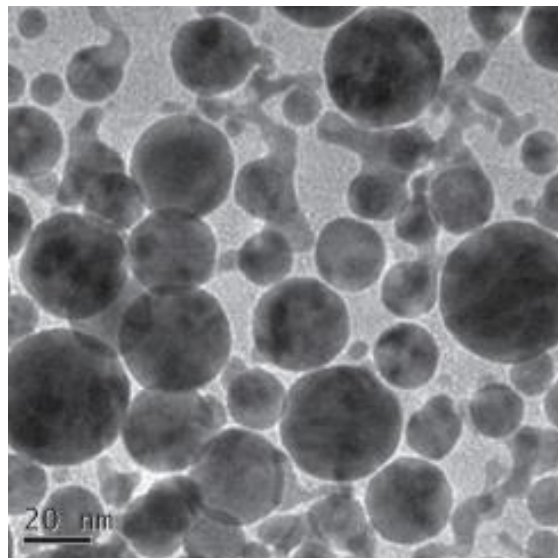


Figura 11-1. Microscopia electrónica de barrido de nanopartículas metálicas de plata

Fuente: (López, et al., 2013 p. 31).

1.6. Bismuto

El bismuto es un elemento químico conocido desde la antigüedad, distinguido por tener un color blanco con tintes rosas. Es un metal, de tal forma que puede formar otros compuestos como nitrato de bismuto o trinitrato de bismuto. Su número atómico es 83, tiene una masa atómica de 208,98 gramos, densidad relativa de 9,8 y un punto de ebullición y fusión de 1560°C y 271°C respectivamente. El estado más común en el que se encuentra en la naturaleza es la bismutita, que está compuesta de tres carbonatos y dos átomos de bismuto ligada a dos oxígenos: $(\text{BiO})_2\text{CO}_3$. La propiedad que mejor caracteriza al bismuto es su estructura cristalográfica romboédrica, al igual que la nula toxicidad que existe tanto para seres vivos como para el ambiente (Osorio Abraham 2011, p. 17).

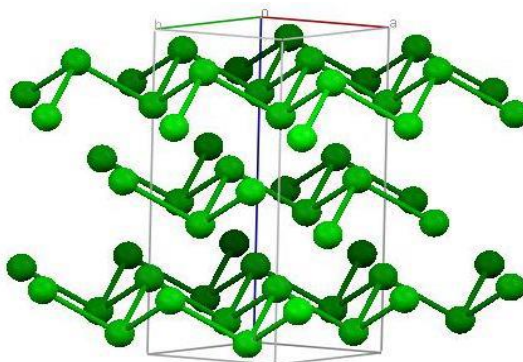


Figura 12-1. Estructura cristalina del bismuto

Fuente: (Osorio, 2011 p. 32).

1.6.1. *Propiedades del bismuto*

El bismuto posee un sinnúmero de propiedades, sin embargo, una cualidad inusual es su capacidad de expandirse al solidificarse, además de ser altamente diamagnético. Por lo cual es utilizado para medir campos magnéticos fuertes y como catalizador en la producción de polonio. Posee una resistividad eléctrica de 117 μOhm . Como se mencionó anteriormente posee un punto de ebullición de 1.560°C, un punto de fusión de 271°C, coeficiente de expansión térmica de $13,4 \times 10^{-6} \text{ K}^{-1}$) y conductividad térmica de $7,9 \text{ W m}^{-1} \text{ K}^{-1}$, como valores más relevantes (Osorio Abraham 2011, p. 19).

1.6.2. *Aplicaciones del bismuto*

El bismuto ofrece diversas aplicaciones incluido en el campo de la nanotecnología, uno de los elementos más usados son los nanoalambres de bismuto por su eficiencia en aplicaciones

termoeléctricas. Asimismo, el bismuto en la actualidad ha llegado a aplicarse en tratamientos biológicos debido a su actividad fotocatalítica. Cabe mencionar que el bismuto de tamaño nanométrico no es fácilmente sintetizado por métodos comunes, por lo cual se han desarrollado nuevos métodos para su obtención (Osorio Abraham 2011, p. 20).

En cuanto a la industria metalúrgica ocupa el 29% de todo el mismo automático y sus aleaciones que principalmente abarca aluminio y hierro mejoran las propiedades plásticas y la ductilidad de este elemento. También se utiliza como parte mineral en la industria química farmacéutica (Morales Ramos 2019, p. 14).

1.7. Óxido de bismuto

El óxido de bismuto es un derivado del bismuto de gran importancia tanto a nivel tecnológico como biológico, entre sus aplicaciones más comunes están la fabricación de vidrio y cerámica, así como también siendo catalizador en la oxidación de hidrocarburos (Hernandez-Delgadillo et al. 2013, p. 1646).

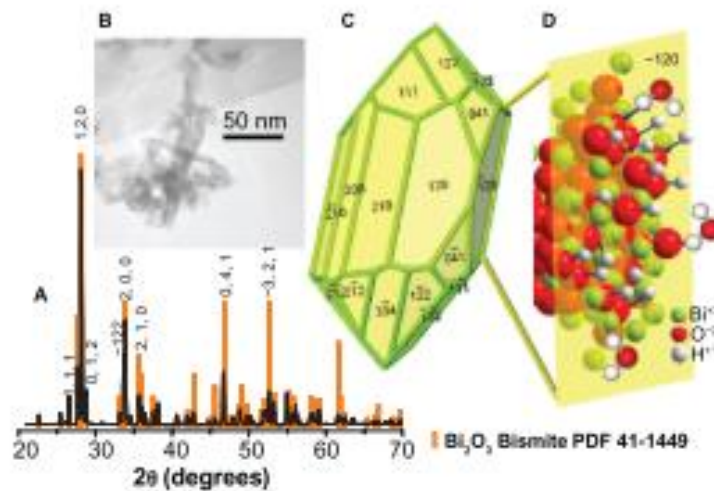


Figura 13-1. Difractograma de rayos X y estructura cristalina del óxido de bismuto

Fuente: (Hernandez , y otros, 2013 pág. 1647).

1.7.1. Propiedades del óxido bismuto

Entre las propiedades más notables del óxido de bismuto tenemos que posee una gran estabilidad en diferentes fases, se adapta a distintas temperaturas que van desde la temperatura ambiente hasta temperaturas de 825 °C, tiene una alta deficiencia en oxígeno que representa una conductividad iónica superior entre los demás óxidos. Su forma es cristalina y tiene gran capacidad oxidativa (Morales Ramos 2019, p. 15).

1.8. Nanopartículas de óxido de bismuto

Las nanopartículas de óxido de bismuto son aquellas que se obtienen a partir de una síntesis ya sea química o biológica. Actualmente, son ampliamente usadas como inhibidores de microorganismos, para diversas clases de tratamientos. Su uso como bactericidas o antimicóticos han causado gran revuelo debido al gran potencial a pesar de su reducido tamaño (Hernandez-Delgadillo et al. 2013, p. 1646).

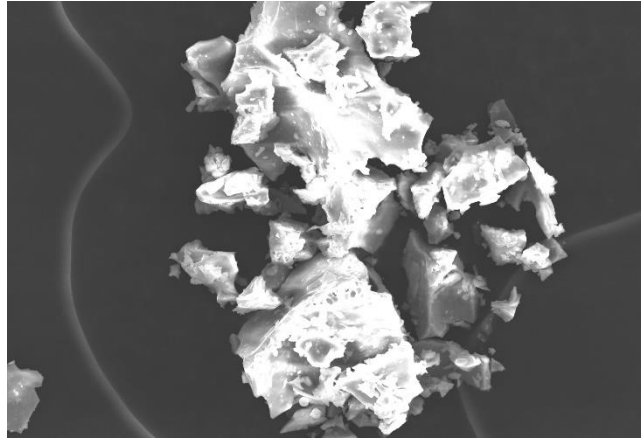


Figura 14-1. Aglomeración de nanopartículas óxido de bismuto

Fuente: Laboratorio de materiales de la Facultad de Mecánica, 2021.

1.8.1. *Propiedades de oxidación fotocatalítica*

La oxidación fotocatalítica se ha convertido en una alternativa para el tratamiento de aguas residuales, la cual según varias investigaciones ha logrado demostrar una alta degradación de contaminantes orgánicos, tanto en bajas como medianas concentraciones; además cabe recalcar que los contaminantes secundarios generados son muy bajos. Una fotocatalisis heterogénea básicamente utiliza catalizadores, radiación ultravioleta y/o solar, para oxidar los contaminantes y finalmente removerlos (Hernandez-Delgadillo et al. 2013, p. 1646).

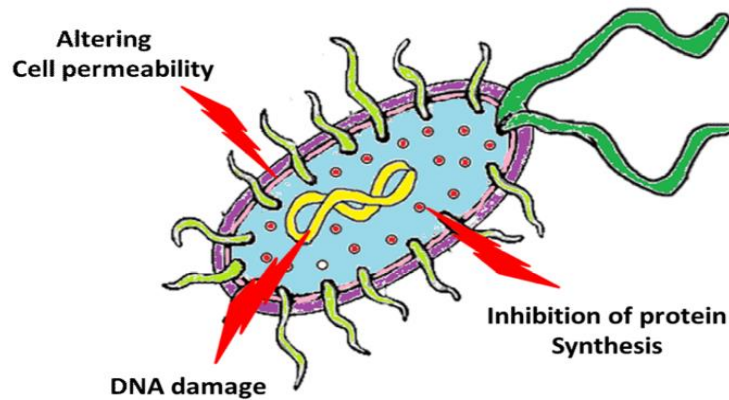


Figura 15-1. Mecanismo de inhibición microbiana por acción de la oxidación fotocatalítica en nanopartículas metálicas

Fuente: (Hernandez , y otros, 2013 pág. 1647).

1.8.2. Principales métodos de síntesis para la obtención de nanopartículas de óxido de bismuto

Hay una gran diversidad de métodos de síntesis para la obtención de nanopartículas en general, sin embargo, en el caso del óxido de bismuto se ha limitado la aplicación de varios de estos métodos debido a que no resultan nanopartículas de alta pureza o que por el contrario de los costos de producción son sumamente elevados. Es por ello que los principales métodos utilizados son los métodos de Pechini, Perovskita, bombardeo, ablación láser, química húmeda y la más actual es la síntesis verde que ha tenido gran aceptación dentro del ámbito científico (Marín-Xicoténcatl y Román-Aguirre 2018, p 1).

1.8.2.1. Método de Pechini

El óxido de bismuto es un fotocatalizador cristalográfico amarillo de distintas fases (α , β , γ , ϵ , δ , ω) y por su función como focalizador puede tener una buena estabilidad con varias sustancias. Para obtener Bi_2O_3 por el método Pechini se usa el etilenglicol como agente polímero y tan pronto como se deje actuar esa ruta durante 2 horas se realiza la medición del pH. Cuando tenemos un pH básico, ejecutamos la solución con agua destilada conectada a un tubo de refrigeración en conjunto con un sistema de rotación que permite la salida de la humedad a la solución. Finalmente, al observar que se ha detenido, se cambia al filtro para finalmente obtener Bi_2O_3 (Marín-Xicoténcatl y Román-Aguirre 2018, p 1).

1.8.2.2. Método de Perovskita

Este método se realiza a partir de dos sistemas acuosos en el que los iones son obtenidos a partir de sus respectivos nitratos. Estas soluciones reconocerán el pH en presencia de indicadores adecuados con EDTA y causarán una dosificación precisa de la reacción. Para ambos sistemas todos los componentes serán controlados, en este caso el bismuto se controla simultáneamente con ácido carboxílico en un colchón de agua. Todos estos métodos se asegurarán de mantener la estabilidad con ayuda de un agitador magnético, así como el mantenimiento a una temperatura de 50°C durante aproximadamente una hora y media. Después del tiempo las soluciones se mezclan, manteniendo el calentamiento durante una hora. A continuación, la temperatura del aumenta gradualmente a 100 °C, para eliminar el disolvente y aumentar la viscosidad de las sustancias del sistema. El material resultante se calcina a temperaturas mayores o iguales a 750 °C, para obtener óxidos de bismuto estables (Martínez 2011, p. 23).

1.8.2.3. Método de Bombardeo

Esta técnica electrónica de bombardeo verificada a través de un microscopio electrónico de transmisión permite la obtención de partículas de bismuto de dimensiones nanométricas. Se realiza mediante la radiación de los electrones de oxígeno a una partícula de bismuto para producir partículas de un tamaño determinado, de acuerdo con el momento en que los iones están expuestos al bombardeo. Cuando el tiempo es menor y el ángulo es el correcto la forma en que se lleva a cabo este método produce las estructuras más finas y con una forma de diamantes, lo que ayuda a una mayor estabilidad para diferentes propósitos (Osorio Abraham 2011, p. 22).

1.8.2.4. Método de Ablación Láser

El método de ablación laser como primer paso produce una atmósfera de argón que es generada por la ablación con láser, luego bombardeando la sal de bismuto que obtiene la ionización de partículas con tamaños promedio entre 3 y 10 nanómetros. Con esto logra preparar partículas de bismuto con tamaños muy pequeños, lo cual resulta muy beneficioso pues poseen una gran pureza (Osorio Abraham 2011, p. 44).

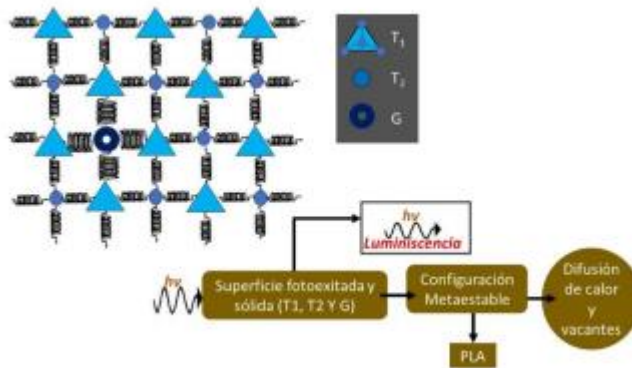


Figura 16-1. Esquema del proceso de ablación láser

Fuente: (Morales, 2019 p. 15).

1.8.2.5. Método de Química Húmeda

Los métodos de química húmeda se utilizan para producir nanopartículas de bismuto, gracias a una simple reducción química con borohidruro de sodio (NaBH_4) en presencia de polivinilo (PVP) a temperatura ambiente. Las interacciones fuertes entre el oxígeno del grupo carboxílico ($\text{C} = \text{O}$) de PVP y el ion Bi^{3+} permitieron la formación de óxido de bismuto, incluso con una pureza de aproximadamente 85%.

También posee un proceso similar que parte del anterior denominado la red polimérica, donde se usa el método de microemulsión inversa que sirve para obtener partículas de bismuto cristalinas (nanocristales) muy sensibles al aire en el orden de 20 nm. Se obtiene una pureza cercana al 95% debido a que la red polimérica protege a las partículas de bismuto contra la oxidación, especialmente después del proceso de calentamiento de la síntesis (Osorio Abraham 2011, p. 24).

1.8.2.6. Método de Síntesis Verde

La síntesis verde es un método que posibilita la bioproducción de materiales de tamaño nano y materiales metálicos como el oro, que desean ser amigables con el entorno ambiental. La deducción se basó en el principio de biorremediación, la técnica en la que se utilizan las funciones naturales del manto vegetal para extraer los materiales que producen contaminación. Uno de los primeros informes sobre el uso de este método fue al producir nanopartículas de plata con plantas alfalfa tratadas con nitrato de plata como fuente de iones de plata. El análisis de tejidos reveló que las nanopartículas de plata tuvieron un diámetro de 2 a 20 nm. Cabe recalcar que a través de esta síntesis habrá una reducción de metales por especies naturales con un rendimiento antioxidante. Durante los últimos

diez años, muchos sistemas biológicos han demostrado reemplazar la reducción de los recursos químicos, incluidas las plantas y las algas, las diatomeas, las bacterias, las levaduras, los hongos, los virus y las células humanas, ya que los microorganismos son capaces de transformar los iones inorgánicos metálicos en nanopartículas de metal por medio de las capacidades reductoras de los metabolitos y de las proteínas de estos mismos (Gómez Garzón, 2018).

La síntesis de las nanopartículas se puede llevar a cabo sobre un nivel intra o extracelular, así como las plantas pueden reducir los mismos iones inorgánicos en las nanopartículas metálicas y en su superficie de la planta y en algunos tejidos. Se han desarrollado varias estrategias con las plantas para la síntesis de nanopartículas, algunos usan sales metálicas o un metal oxidado como el óxido de titanio. Otra manera para sintetizar directamente las nanopartículas es mediante el uso del extracto acuoso de plantas, los cuales contienen uno o más ingredientes activos de una planta en particular (Gómez Garzón, 2018).



Figura 17-1. Síntesis verde de nanopartículas de plata

Fuente: (Gómez Garzón 2018).

1.9. Técnicas de caracterización de nanopartículas

Las técnicas de caracterización de nanopartículas son empleadas para determinar si un compuesto cumple con las características que queremos. En el caso de las síntesis de nanopartículas son usadas para la detección de los compuestos sintetizados y evaluar su grado de pureza.

1.9.1. Microscopio electrónico de barrido (SEM)

Un microscopio electrónico de barrido nos brinda la posibilidad de observar muestras integradas en 3 dimensiones mediante una microscopía (Figura 15-1), de esta manera podemos reconocer diversos materiales con la ayuda de haces electrónicos móviles y puntuales. Es importante resaltar que para una caracterización con un microscopio electrónico de barrido las imágenes tendrán una resolución

de tamaño nano métrico con aumentos hasta de 140,000, ayudando a ajustar la visibilidad de los materiales (Figura 16-1) (Renau-piqueras y Faura, 1965).

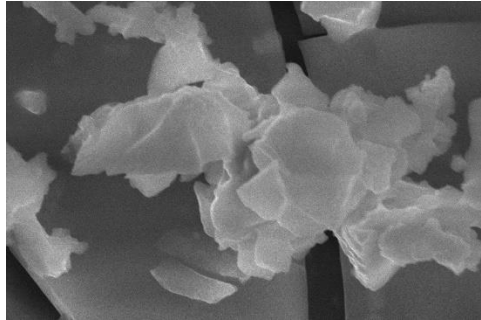


Figura 18-1. Nanomaterial de óxido de bismuto visto por Microscopio Electrónico de Barrido

Fuente: Laboratorio de materiales de la Facultad de Mecánica, 2021.

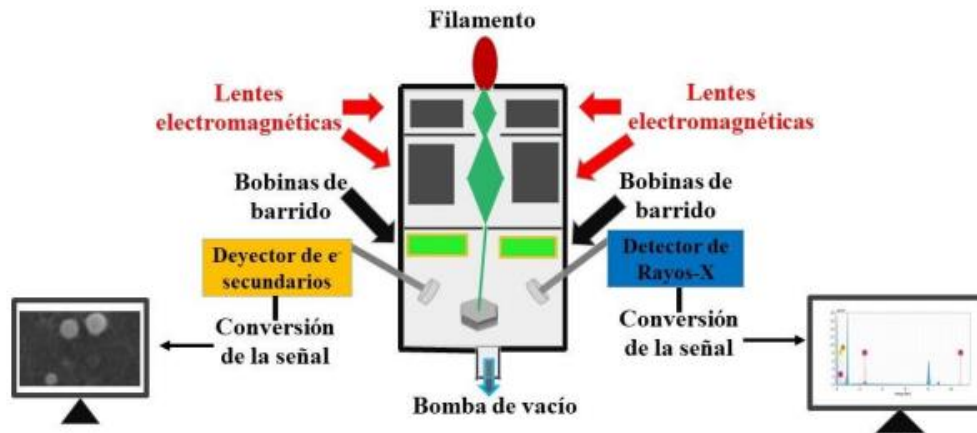


Figura 19-1. Esquema de funcionamiento del Microscopio Electrónico de Barrido

Fuente: (Morales, 2019 p. 28).

1.9.2. Espectroscopia de Rayos X de energía dispersiva

La espectroscopia de rayos X de energía dispersiva se realiza a través de un microscopio electrónico de barrido, de tal modo que provoca una interacción de las electrónico con la superficie del material a ser analizado, logrando ser captados por un detector que capturarán y amplificar a la información de la muestra suministrada (Renau-piqueras y Faura, 1965, p. 78).

1.9.3. Espectroscopia de infrarrojo (IR)

La espectroscopia de infrarrojo es una técnica de caracterización de varios tipos de materiales con un objetivo inmediato de análisis tanto cualitativo como cuantitativo, en el que se detectan grupos funcionales presentes en el material analizado. De esta forma se puede determinar e identificar con qué tipo de sustancias estamos trabajando, en el caso de que sea una muestra desconocida. Este método estudia la absorción y la emisión de energía radiante que se origina por la interacción de radiación electromagnética y el material de estudio. El IR permite que varias moléculas tengan los medios suficientes para poder rotar y vibrar a distintas frecuencias, de manera que sea visible del movimiento vibracional rotacional de cada partícula (Piqué y Vázquez 2012).

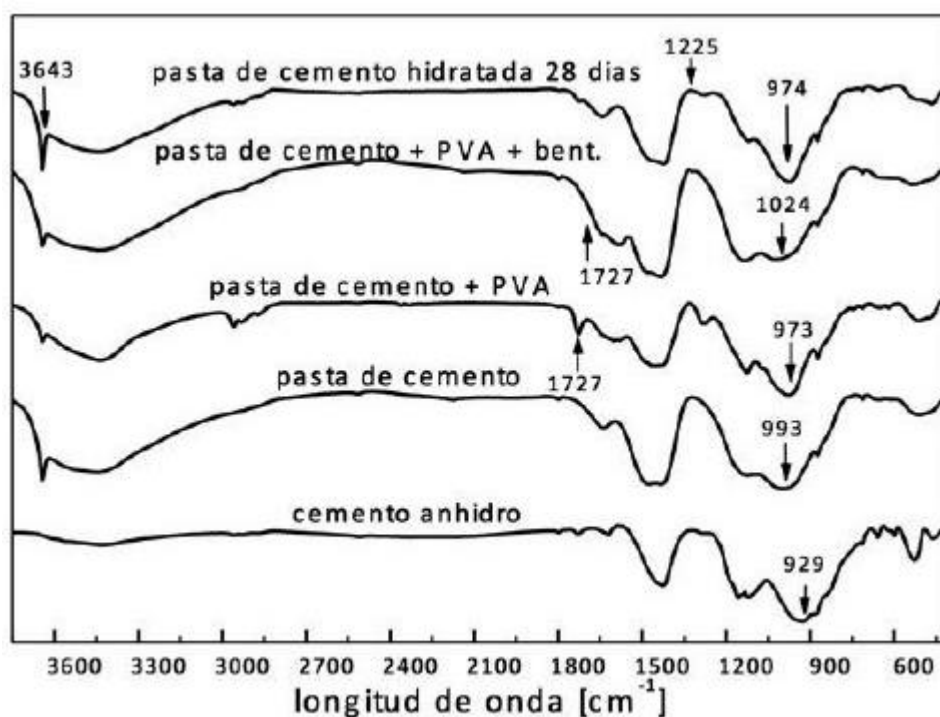


Figura 20-1. Espectros de cemento seco obtenido por Infrarrojo

Fuente: (Piqué y Vázquez 2012).

1.9.4. Espectroscopia de UV-Visible (UV-Vis)

La espectroscopia de UV-Visible es una técnica de caracterización fundamental en el estudio de sustancias químicas dado que resulta una técnica fácil, económica y rápida. Presenta varias ventajas como la evaluación de sustancias desconocidas, además del efecto de ciertas sustancias hacia otros

microorganismos. Esta técnica se basa en la medición de la absorción de radiación UV, lo cual brinda información estados energéticos o moleculares de cierta muestra. Las principales estructuras que forman parte de un espectrofotómetro UV visible son las lámparas de deuterio como fuente energética, el monocromador, prisma de dispersión, colimador y por supuesto la muestra que se desea evaluar (Figura 16-1).

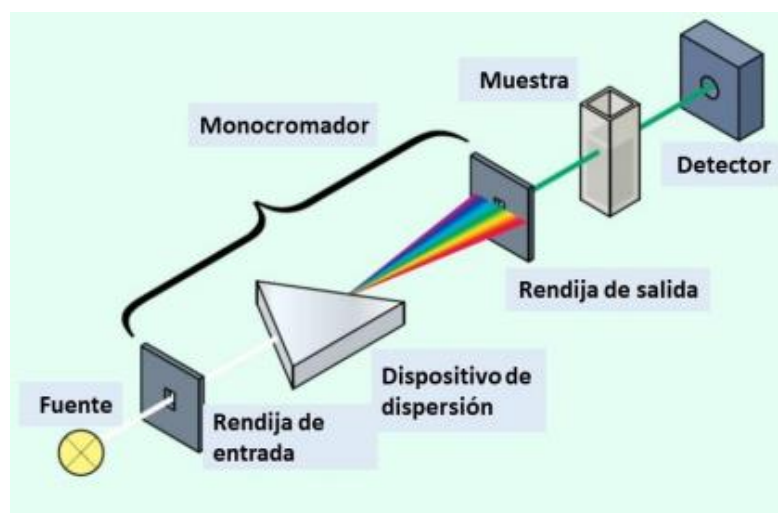


Figura 21-1. Esquema de funcionamiento del Uv-Visible

Fuente: (Morales Ramos, 2019, p. 27).

CAPÍTULO II

2. MARCO METODOLÓGICO

2.1. Localización del estudio

La presente investigación se llevó a cabo en la Comunidad San Vicente de Lacas ubicada en la provincia de Chimborazo, específicamente en la Junta administradora de Agua, que proporcionó sus instalaciones para la toma de muestras directas del tanque donde llegan aguas servidas prefiltradas que posteriormente se usan para el riego. Esta comunidad se encuentra ubicada de acuerdo con el sistema WGS84 a 1°39'06" Latitud Sur y 78°37'10" de Longitud Occidental como se muestra en la Tabla 1-2. Se encuentra a 2850 m.s.n.m. y cuenta con alrededor de 1540 habitantes, los cuales dedican su vida a la agricultura y comercialización de productos agrícolas.

Tabla 1-2. Coordenadas geográficas de la comunidad San Vicente de Lacas

	Latitud Sur	Longitud Occidental
Norte	00°34'39"	78°30'27"
Sur	1°39'06"	78°47'01"
Este	1°06'00"	78°45'07"
Oeste	1°19'34"	78°37'10"

Realizado por: Alvarez, 2021.

Por otra parte, los ensayos a nivel de laboratorio se realizaron en la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, matriz Riobamba, en los laboratorios de Química Orgánica, Análisis Instrumental, Microbiología Clínica e Investigación de la Facultad de Ciencias y el laboratorio de Materiales de la Facultad de Mecánica.

2.1.1. Población de estudio

La población de estudio está representada por las muestras simples recolectadas del tanque, donde llegan aguas servidas prefiltradas que posteriormente se usan para el riego en la Comunidad San Vicente de Lacas.

2.1.2. Obtención de las muestras de aguas servidas para uso de riego

La toma de muestras se llevó a cabo en dos etapas para conservar el estado de las muestras, la primera muestra se tomó el día 11 de mayo del 2021 y la segunda muestra se tomó el 31 de mayo del 2021 directamente del tanque donde llegan aguas servidas prefiltradas como se muestra en la **Figura 2-2**. El Gráfico 1-2. explica de mejor manera el proceso de recolección de muestras simples tomadas directamente del tanque y la Figura 1-2 nos amplía el panorama de la situación del recurso agua en la comunidad.

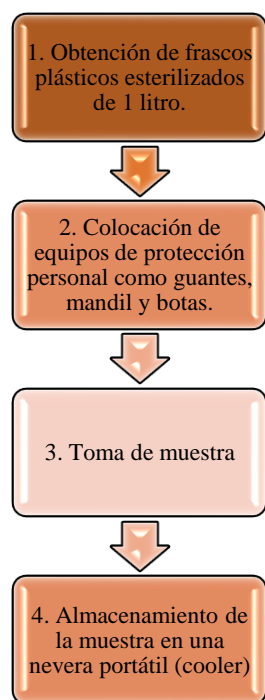


Gráfico 1-2. Proceso de recolección de muestras simples

Realizado por: Alvarez, 2021.



Figura 1-2. Tanque donde llegan las aguas servidas prefiltradas

Fuente: Alvarez, 2021.



Figura 2-2. Recolección de muestras de agua tomadas directamente del tanque.

Fuente: Alvarez, 2021.

2.1.3. Técnicas de recolección de datos

Los datos necesarios para realizar la presente investigación se recolectaron mediante técnicas espectroscópicas y microscópicas, además de la observación directa de las variables.

2.2. Diseño del experimento

La experimentación tuvo dos fases, en la primera se realizó la síntesis de nanopartículas de óxido de bismuto (Bi_2O_3) y en la segunda fase se realizaron pruebas físicas y microbiológicas que evaluaron la capacidad bactericida de las nanopartículas sintetizadas en la primera fase.

Para la síntesis de nanopartículas de óxido de bismuto se tomó en consideración la mejor forma de síntesis, para lo cual se utilizó el método menos nocivo y más efectivo a la hora de realizar las pruebas. En cuanto a las pruebas físicas y microbiológicas, se realizaron series cronológicas con repetición del estímulo. Dentro de la experimentación se efectuaron pruebas microbiológicas para comparar la capacidad bactericida de las nanopartículas de óxido de bismuto (Bi_2O_3) en distintos lapsos de tiempo y frente a la exposición a la luz solar. Así mismo, se hicieron pruebas físicas en alícuotas de agua para determinar si se regulará el pH y turbidez de las muestras una vez que han estado expuestas a distintos lapsos de tiempo a las nanopartículas de óxido de bismuto.

Tabla 2-2. Variables independientes

Nanopartículas de óxido de bismuto (gramos)	Tiempo (horas)
0.1	1
0.1	2
0.1	4
0.1	6

Realizado por: Alvarez, 2021.

Se toman como variables independientes las nanopartículas de óxido de bismuto y el tiempo como se visualiza en la Tabla 2-2 porque son las variables que nos permiten conocer la variación en el número de colonias de bacterias dentro de las pruebas microbiológicas y que tanta mejora existe a nivel físico de las muestras de agua a través de la aplicación de pruebas físicas.

2.2.1. Hipótesis

Ha: El uso de nanopartículas de óxido de bismuto servirá como bactericida en muestras de aguas servidas en la comunidad San Vicente de Lacas de la provincia de Chimborazo.

Ho: El uso de nanopartículas de óxido de bismuto no servirá como bactericida en muestras de aguas servidas en la comunidad San Vicente de Lacas de la provincia de Chimborazo.

2.3. Materiales y equipos

2.3.1. *Materiales*

- Vasos de precipitación
- Pipetas graduadas
- Varillas de agitación
- Pera de succión
- Erlenmeyer
- Tubos de ensayo
- Gradilla
- Papel aluminio
- Papel filtro Whatman
- Frascos de plástico
- Envases de plástico
- Hojas de menta
- Agua destilada
- Alcohol
- Mecheros
- Aza de siembra
- Cajas Petri
- Guantes
- Crisoles
- Termómetro
- Agar nutritivo
- Agar sangre
- Portaobjetos
- Cinta adhesiva
- Rotuladores

2.3.2. *Equipos*

- Balanza analítica

- pHmetro
- Turbidímetro HACH RATIO/XR
- Espectrofotómetro de UV-Visible
- Espectrofotómetro IR
- Microscopio binocular
- Microscopio electrónico de barrido (SEM)
- Incubadora
- Autoclave
- Agitador magnético
- Hornilla Eléctrica

2.3.3. *Reactivos*

- Nitrato de bismuto $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$
- Violeta de metilo $\text{C}_{24}\text{H}_{28}\text{N}_3\text{Cl}$
- Safranina $\text{C}_{20}\text{H}_{19}\text{N}_4\text{Cl}$
- Lugol I_2

CAPÍTULO III

3. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

3.1. Síntesis de nanopartículas de óxido de bismuto

3.1.1. Síntesis verde de nanopartículas de óxido de bismuto

Para la síntesis verde de las nanopartículas de óxido de bismuto se utilizó como agente biológico reductor, extracto de menta obtenido a partir de hojas de la especie *Mentha arvensis*, una especie de la familia de la menta. Por otra parte, se usó como ion metálico en solución el nitrato de bismuto.

Las hojas de menta se lavaron minuciosamente con agua destilada para eliminar las partículas de polvo que pudiesen existir. Luego fueron escogidas una por una las que se encontraban con mejor estado como muestra la Figura 1-3 y se secaron en presencia de luz solar.

Una vez que las hojas estuvieron completamente secas, se cortaron en trozos tal como se indica en la Figura 2-3 y se procedió a la preparación del extracto de menta. Se sumergieron 20.0 g de hojas de *Mentha arvensis* en 200 ml de agua destilada y se hirvieron a 95°C durante 3 horas. El extracto obtenido (Figura 3-3) se enfrió a temperatura ambiente y se filtró usando papeles de filtro Whatman.



Figura 1-3. Hojas de *Mentha arvensis* en buen estado

Fuente: Alvarez, 2021.

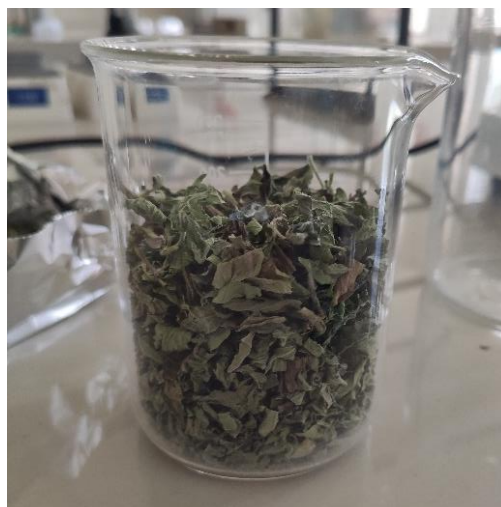


Figura 2-3. Hojas de *Mentha arvensis* secas y cortadas

Fuente: Alvarez, 2021.



Figura 3-3. Extracto de *Mentha arvensis*

Fuente: Alvarez, 2021.

3.1.2. Obtención de nanopartículas de óxido de bismuto

Para obtener las nanopartículas de óxido de bismuto se disolvió 2 g del ion metálico en solución en 10 ml de agua destilada, ésta mezcla se mantuvo en agitación constante y con una temperatura de 95°C por 15 minutos en el agitador magnético. Posteriormente, se agregó la anterior solución con 20 ml de extracto de *Mentha arvensis* a 95°C y nuevamente se mantuvo en agitación constante y con una temperatura de 95°C por 24 horas en el agitador magnético (Figura 4-3).

Se realizó una revisión periódica de la muestra para evitar accidentes dentro del laboratorio. Una vez que pasaron las 24 horas las nanopartículas de óxido de bismuto se encontraron en estado sólido y mostraron un color marrón claro dentro del vaso de precipitación donde se mantuvieron como se indica en la Figura 5-3.



Figura 4-3. Solución de extracto de menta y nitrato de bismuto con agua destilada

Fuente: Alvarez, 2021.



Figura 5-3. Nanopartículas de óxido de bismuto en estado sólido obtenidas

Fuente: Alvarez, 2021.

3.2. Caracterización de nanopartículas de óxido de bismuto sintetizadas

Las nanopartículas obtenidas se caracterizaron por microscopía electrónica de barrido, espectroscopia de Rayos X de energía dispersiva para determinar su tamaño, morfología y composición; espectroscopia de infrarrojo y espectroscopia de UV-Visible.

3.2.1. *Análisis por microscopia electrónica de barrido (SEM)*

Las nanopartículas de óxido de bismuto obtenidas a partir de la síntesis verde, mostraron un tamaño de partícula entre 20-90 nanómetros y forma alargada redonda determinada por microscopía electrónica de barrido (Figura 6-3).

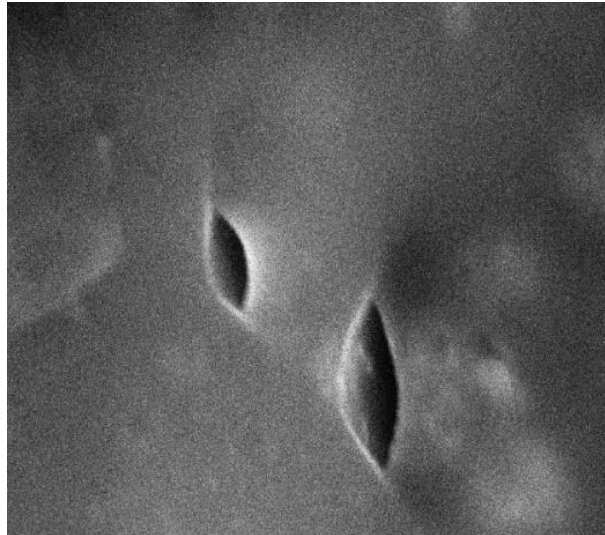


Figura 6-3. Microscopia Electrónica de Barrido de nanopartículas de Bi₂O₃

Fuente: Laboratorio de materiales de la Facultad de Mecánica, 2021.

3.2.2. *Espectroscopia de Rayos X de energía dispersiva*

El análisis elemental por espectroscopia de rayos X de energía dispersiva (Figura 7-3) en el Microscopio Eléctrico de Barrido (Figura 8-3), mostró un compuesto puro de óxido de bismuto, a partir de una muestra de las nanopartículas de óxido de bismuto sintetizadas.

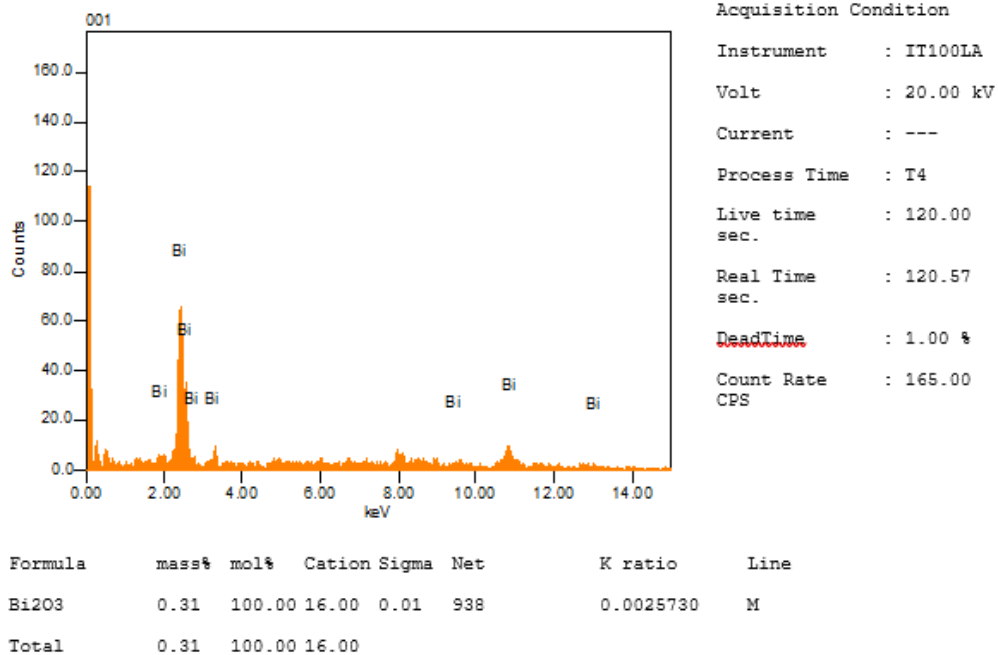


Figura 7-3. Espectroscopia de Rayos X de energía dispersiva de nanopartículas Bi₂O₃

Fuente: Laboratorio de Investigación de la Facultad de Ciencias, 2021.

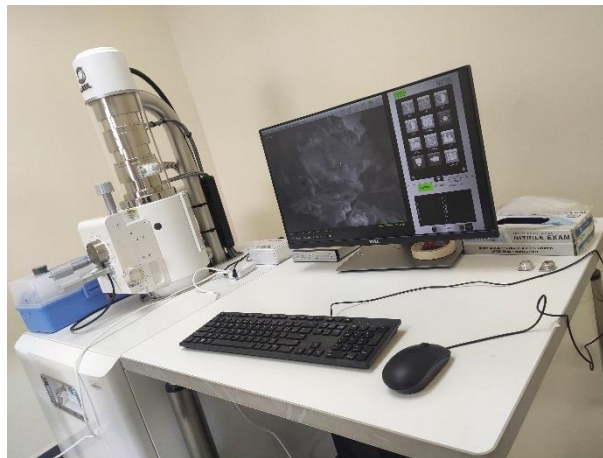


Figura 8-3. Microscopio Eléctrico de Barrido (SEM)

Fuente: Laboratorio de materiales de la Facultad de Mecánica, 2021.

3.2.3. Espectroscopia de infrarrojo (IR)

El análisis mediante una caracterización por Espectrometría infrarrojo (Figura 9-3) nos permite avalar que en efecto el compuesto es completamente óxido de bismuto. El óxido de bismuto por lo general presenta un pico o banda pronunciado entre los 1000 y 1800 cm⁻¹ que es denominada como la longitud de onda.

En nuestro caso la muestra analizada en el Espectrofotómetro de Infrarrojo (Figura 10-3) presentó la banda con una longitud de onda de 1403.2 cm^{-1} y una absorbancia de 67.06%, lo cual nos permite corroborar nuevamente que en efecto el compuesto que sintetizamos es en su totalidad óxido de bismuto.

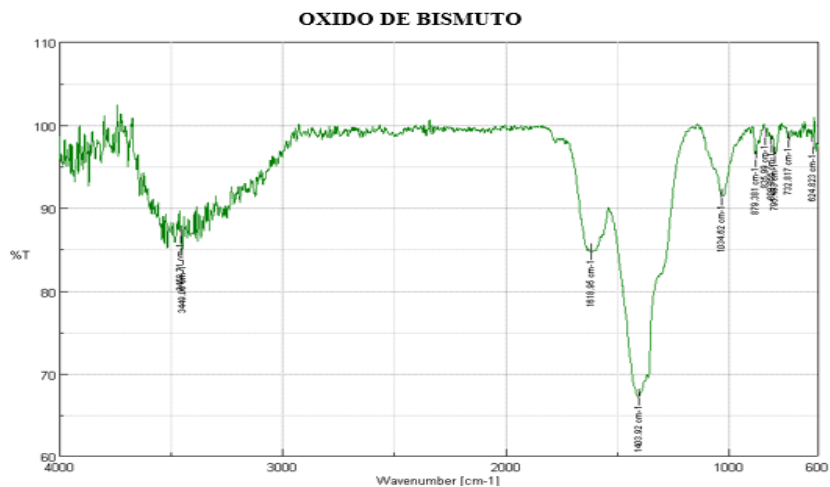


Figura 9-3. Espectroscopia de Infrarrojo de nanopartículas Bi_2O_3

Fuente: Laboratorio de Química Instrumental de la Facultad de Ciencias, 2021.



Figura 10-3. Espectrofotómetro de Infrarrojo

Fuente: Laboratorio de Química Instrumental de la Facultad de Ciencias, 2021.

3.2.4. Espectroscopia de UV-Visible (UV-Vis)

El análisis mediante una caracterización por Espectrometría UV-Visible (Figura 11-3) al igual que la Espectrometría infrarrojo nos permite comprobar que se produjo el compuesto que quisimos al realizar una síntesis, en este caso en particular de nanopartículas de óxido de bismuto. El óxido de bismuto presenta su pico en este tipo de análisis entre los 180 y 220 nm.

La muestra analizada en la presente investigación presenta su pico a los 200,714 nm y una absorbancia de 1,655. De esta manera podemos ratificar que el compuesto que se sintetizó es óxido de bismuto, siendo una muestra pura.

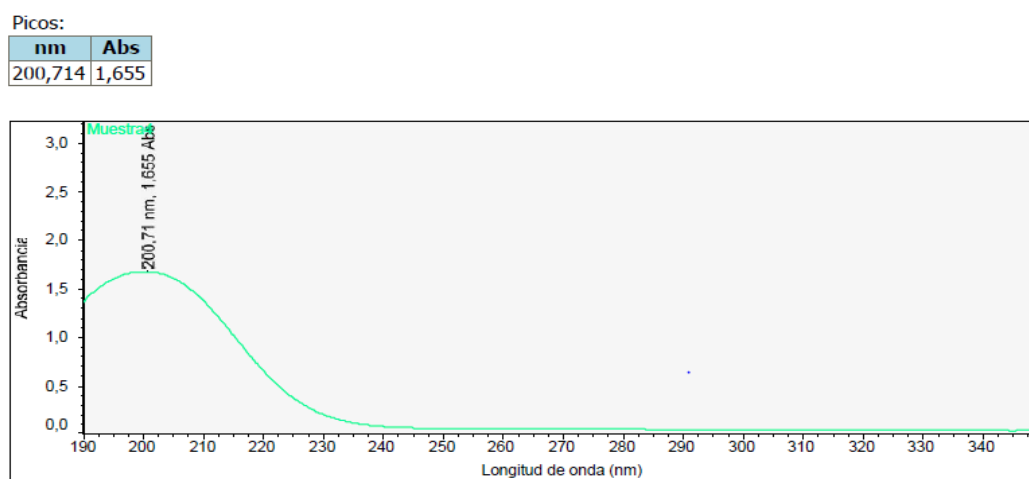


Figura 11-3. Espectroscopia de UV-Visible de nanopartículas Bi_2O_3

Fuente: Laboratorio de Investigación de la Facultad de Ciencias, 2021.

3.3. Pruebas físicas en alícuotas de muestras de aguas servidas para riego

3.3.1. Determinación de pH

Para la determinación del pH se utilizó el medidor pHmetro de mesa Fisher Scientific Accumet AB150. Para analizar las muestras se colocó el electrodo hasta la mitad del volumen de las mismas y una vez que se estabilizó se tomó el valor que el equipo automáticamente produce (Figura 12-3).

El propósito de medir el pH de las muestras es evaluar la efectividad de las nanopartículas de óxido de bismuto para reducir la carga bacteriana y consecuentemente regular el pH de las alícuotas de agua servidas después de lapsos de tiempo de exposición.



Figura 12-3. Medición de pH de las muestras

Fuente: Álvarez, 2021.

3.3.1.1. Determinación del pH inicial en alícuotas de muestras de aguas servidas para riego

Se determinó el pH en una alícuota de muestra de aguas servidas para riego de 10 ml sin aplicación de nanopartículas de óxido de bismuto, donde el resultado que arrojó fue un pH de 6,72 (Figura 13-3), es decir de carácter ácido, que, aunque no es malo podría mejorar.



Figura 13-3. Medición de pH inicial

Fuente: Álvarez, 2021.

3.3.1.2. Determinación del pH en alícuotas de muestras de aguas servidas expuestas a las nanopartículas de óxido de bismuto en ausencia de luz solar cada 1, 2, 4 y 6 horas respectivamente

Para determinar el pH en alícuotas de muestras de aguas servidas expuestas a las nanopartículas de óxido de bismuto en ausencia de luz solar, se colocó 1g de las nanopartículas de óxido de bismuto en 10 ml de muestra de agua. Se procedió a esperar los tiempos establecidos y hacer la medición de pH, obteniendo los resultados que se muestran en la Tabla 1-3.

Tabla 1-3. Evaluación de pH en alícuotas expuestas a las nanopartículas de Bi₂O₃ en ausencia de luz solar

pH (1-14)	Tiempo (horas)
6,95	1
7,25	2
7,28	4
7,31	6

Realizado por: Alvarez, 2021.

Claramente se demuestra una regulación en el pH de las muestras de agua llegando a un pH de 7,31. Un pH neutro mejora en gran medida la calidad del agua de riego.

3.3.1.3. Determinación del pH en alícuotas de muestras de aguas servidas expuestas a las nanopartículas de óxido de bismuto en presencia de luz solar cada 1, 2, 4 y 6 horas respectivamente

Para determinar el pH en alícuotas de muestras de aguas servidas expuestas a las nanopartículas de óxido de bismuto en presencia de luz solar, se colocó 1g de las nanopartículas de óxido de bismuto en 10 ml de muestra de agua. Se procedió a esperar los tiempos establecidos y hacer la medición de pH, obteniendo los resultados que se muestran en la Tabla 2-3.

Tabla 2-3. Evaluación de pH en alícuotas expuestas a las nanopartículas de Bi_2O_3 en presencia de luz solar

pH (1-14)	Tiempo (horas)
7,32	1
7,25	2
7,60	4
7,74	6

Realizado por: Alvarez, 2021.

Claramente se demuestra una regulación en el pH de las muestras de agua llegando a un pH de 7,74. Esto nos brinda la oportunidad de mejorar la calidad del agua de riego. Mediante los resultados alentadores podemos verificar que a partir de la oxidación fotocatalítica lograda de la exposición a la luz solar se aumentó el potencial bactericida de las nanopartículas de óxido de bismuto.

3.3.2. *Determinación de turbidez*

Para la determinación de la turbidez se usó el turbidímetro HACH RATIO/RX. Para analizar las muestras se colocó un patrón de viables sellados que calibrará el equipo y luego las muestras de agua servida de riego para obtener el valor correcto. En este tipo de equipos se toman valores intermedios entre el valor más alto y bajo dado que al existir partículas en suspensión aun en las muestras de agua, el equipo no se logra estabilizar completamente (Figura 14-3).

El propósito de medir la turbidez de las muestras es evaluar la efectividad de las nanopartículas de óxido de bismuto para reducir la carga bacteriana y consecuentemente reducir la turbidez de las alícuotas de agua servidas después de lapsos de tiempo.



Figura 14-3. Medición de turbidez

3.3.2.1. Determinación de la turbidez inicial en alícuotas de muestras de aguas servidas para riego

Se determinó la turbidez en una alícuota de muestra de aguas servidas para riego de 10 ml sin aplicación de nanopartículas de óxido de bismuto, donde el resultado que arrojó fue una turbidez de 7,30 NTU (Figura 15-3), siendo un valor admisible pero que no demuestra una calidad excelente.

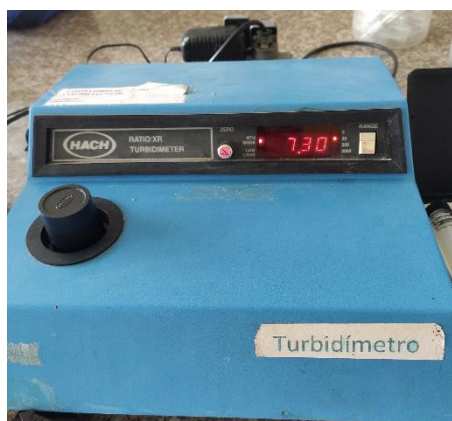


Figura 15-3. Medición de turbidez inicial

3.3.2.2. Determinación de la turbidez en alícuotas de muestras de aguas servidas expuestas a las nanopartículas de óxido de bismuto en ausencia de luz solar cada 1, 2, 4 y 6 horas respectivamente

Para determinar la turbidez en alícuotas de muestras de aguas servidas expuestas a las nanopartículas de óxido de bismuto en ausencia de luz solar, se colocó 1g de las nanopartículas de óxido de bismuto en 10 ml de muestra de agua y se procedió a esperar los tiempos establecidos y hacer la medición de turbidez en las mismas, obteniendo los resultados que se muestran en la Tabla 3-3.

Tabla 3-3. Evaluación de turbidez en alícuotas expuestas a las nanopartículas de Bi_2O_3 en ausencia de luz solar

Turbidez (NTU)	Tiempo (horas)
7,30	1
7,10	2
6,63	4
5,83	6

Realizado por: Alvarez, 2021.

Evidentemente los valores expresan que existe una reducción de turbidez mientras más tiempo las muestras de agua están en contacto con las nanopartículas de Bi_2O_3 . La muestra final tuvo una turbidez de 5,83 NTU que refleja que el número de partículas en suspensión ha disminuido. Pese a la reducción de carga contaminante, estos resultados siguen sin ser viables para el uso de estas aguas.

3.3.2.3. *Determinación de la turbidez en alícuotas de muestras de aguas servidas expuestas a las nanopartículas de óxido de bismuto en presencia de luz solar cada 1, 2, 4 y 6 horas respectivamente*

Para determinar la turbidez en alícuotas de muestras de aguas servidas expuestas a las nanopartículas de óxido de bismuto en presencia, se colocó 1g de las nanopartículas de óxido de bismuto en 10 ml de muestra de agua y se procedió a esperar los tiempos establecidos y hacer la medición de turbidez en las mismas, obteniendo los resultados que se muestran en la Tabla 4-3.

Tabla 4-3. Evaluación de turbidez en alícuotas expuestas a las nanopartículas de Bi_2O_3 en presencia de luz solar

Turbidez (NTU)	Tiempo (horas)
7,30	1
5,61	2
4,63	4
2,38	6

Realizado por: Alvarez, 2021.

Evidentemente existe una reducción en la turbidez mientras más tiempo las muestras de agua están en contacto con las nanopartículas de Bi_2O_3 y a la luz solar. La muestra final tuvo una turbidez de 2,38 NTU que refleja que el número de partículas en suspensión ha disminuido drásticamente cuando las muestras se pusieron en contacto a la luz solar.

3.4. Preparación de medios de cultivo e identificación de bacterias

Para la preparación de los medios de cultivo se realizó una dilución de las muestras iniciales de agua servida dado que de esta manera al ser sembradas en los agares se podrá establecer un conteo correcto del número de colonias. Si las muestras de agua son colocadas directamente al medio de cultivo habrá una aglomeración de colonias que hará casi imposible el análisis.

Luego, se procedió a la preparación de los medios y siembra en placas respectivamente, para poder realizar el aislamiento de cepas puras y poder identificar a través de Tinción Gram (Figura 16-3) el tipo de bacterias que se encontraban en las muestras de aguas servidas usadas para riego en la Comunidad San Vicente de Lacas.



Figura 16-3. Caracterización morfológica de bacterias mediante Tinción Gram

Fuente: Laboratorio de Microbiología clínica de la Facultad de Ciencias, 2021.

3.4.1. Preparación de diluciones de las muestras de agua servida para riego

Para realizar las diluciones de las muestras de agua servida para riego se utilizó las alícuotas, agua destilada para reducir la carga bacteriana, tubos de ensayo, pipetas, pera de succión y gradillas (Figura 17-3). El procedimiento realizado se detalla en el Gráfico 1-3, cabe recalcar que debe realizar con mucha precaución y en espacio aséptico para que no ingresen bacterias distintas a las que se encuentran presentes en las muestras.



Figura 17-3. Diluciones de las muestras de aguas servidas

Fuente: Álvarez, 2021.

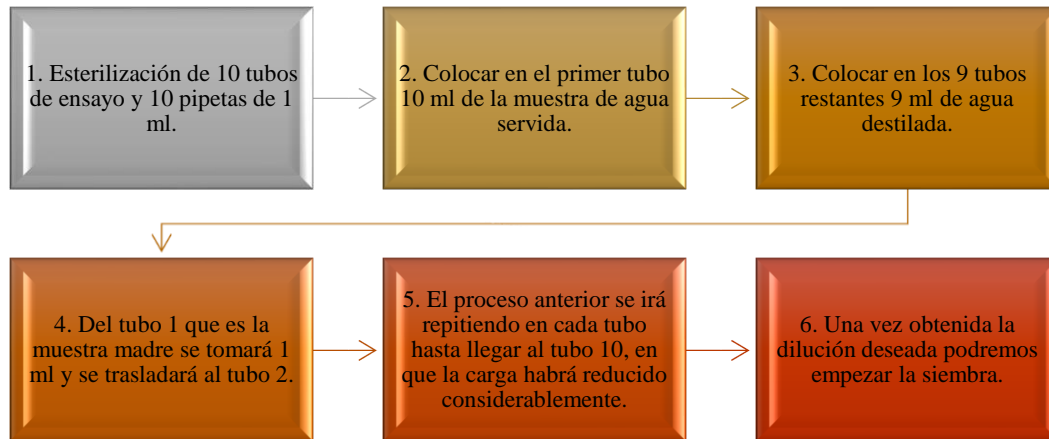


Gráfico 1-3. Procedimiento para preparar diluciones de la muestra de aguas servidas

Realizado por: Alvarez, 2021.

3.4.2. Preparación de medios de cultivo

Para la preparación de los medios de cultivo se necesitó principalmente de agares selectivos para bacterias, en este caso, los que se usaron fueron Agar Sangre y Agar Nutritivo, se necesitaron cajas Petri y agua destilada. Se debe mantener todas las precauciones de asepsia y esterilización (Figura 18-3) ya que se pueden llegar a contaminar los medios de cultivos y ya no serían aptos para una posterior siembra. El proceso completo de preparación de medios se detalla en el Gráfico 2-3.

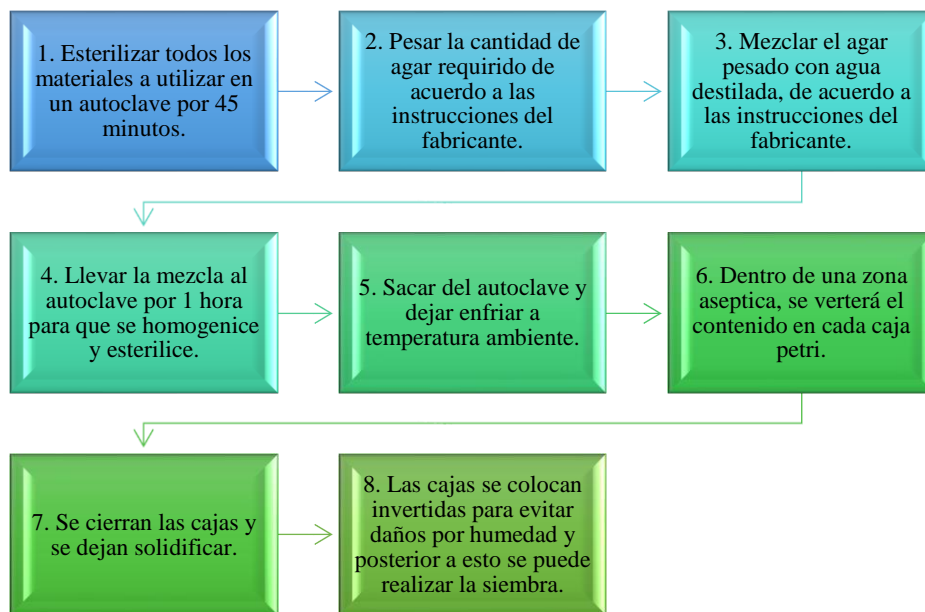


Gráfico 2-3. Proceso para la preparación de medios de cultivo

Realizado por: Alvarez, 2021.



Figura 18-3. Preparación de medios de cultivo

Fuente: Álvarez, 2021.

3.4.3. *Siembra en placas*

Para realizar la siembra en placas se realizaron dos técnicas. La primera técnica utilizada para verter la disolución obtenida de las aguas servidas de riesgo fue extensión en placa, en donde con la ayuda de una pipeta se agregó 0.1ml de la disolución, que luego fue distribuida uniformemente por todo el medio de cultivo con la ayuda de un aza de vidrio estéril.

La segunda técnica fue la siembra en superficie. Una vez que se obtuvieron colonias de las primeras siembras, se hizo una segunda siembra en donde con la ayuda de un aza estéril se colocó parte del inóculo en las cajas nuevas, esperando aislar las cepas de las bacterias para luego someterlas a Tinción Gram y evaluar su morfología.

Una vez que se realizó la siembra se mantuvieron las cajas en la incubadora en un promedio de 48 horas a 37°C.

3.4.4. *Aislamiento de bacterias en medios de cultivo*

Para el aislamiento de cepas de las bacterias tomamos muestras de inóculos de diferentes colonias de cajas que fueron sembradas por extensión (Figura 19-3) de las diluciones de agua servida de riego y se pasaron a cajas nuevas obteniendo cepas puras (Figura 20-3).



Figura 19-3. Colonias encontradas en la siembra por extensión

Fuente: Álvarez, 2021.



Figura 20-3. Cepa pura aislada

Fuente: Álvarez, 2021.

3.4.5. Caracterización e identificación morfológica de bacterias a partir de Tinción Gram

Para la identificación de las bacterias que se encontraban en las muestras de aguas servidas de riego se realizó una caracterización morfológica a partir de Tinción Gram (Figura 21-3), con el propósito de examinar las cepas puras de los cultivos frescos con esta técnica y mediante la utilización del microscopio binocular (Figura 22-3) observar el tamaño, forma, y color de las bacterias en cuanto a su pared bacteriana, clasificándose como Gram positivas o negativas.

La forma es diferencial para cada tipo de bacteria y se tuvo un especial cuidado en observar bordes, textura, color y forma tanto en el medio, como a nivel microscópico.

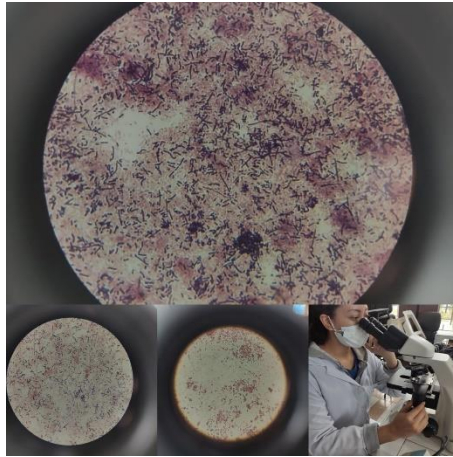


Figura 21-3. Bacterias vistas luego de realizar Tinción Gram

Fuente: Laboratorio de Microbiología clínica del Facultad de Ciencias, 2021.



Figura 22-3. Microscopio binocular

Fuente: Álvarez, 2021.

Una vez realizada la Tinción Gram, se logró reconocer principalmente a 4 especies de bacterias dentro de las muestras las cuales fueron *Escherichia Coli*, *Pseudomonas spp.*, *Klebsiella spp.* y *Salmonella spp.*

3.5. Pruebas microbiológicas a partir de muestras de aguas servidas para riego

Las pruebas microbiológicas que se efectuaron en este trabajo nos permitieron conocer la capacidad bactericida de las nanopartículas de óxido de bismuto expuestas a diversos periodos de tiempo en presencia y ausencia de luz solar, observando una disminución en el número de colonias mientras más tiempo se encontraban las muestras en contacto con las nanopartículas y a la luz directa del sol.

A las muestras de agua en dilución se colocaron las nanopartículas de óxido de bismuto y se dejó que reaccionen por un lapso de 1, 2, 4 y 6 horas respectivamente expuestas a la luz.

3.5.1. Determinación del número de colonias en Agar Nutritivo

3.5.1.1. Determinación del número de colonias a partir de una muestra de aguas servidas para riego en estado inicial

Para determinar el número de colonias inicial, se realizó la siembra de extensión en placa, en donde con la ayuda de una pipeta se agregó 0.1ml de la disolución, que luego fue distribuida uniformemente. Al cabo de 48 horas incubándose a 37°C, se obtuvo un total de 15 colonias (Figura 23-3) de las 4 especies bacterianas antes mencionadas.



Figura 23-3. Colonias obtenidas de la muestra inicial en Agar Nutritivo

Fuente: Álvarez, 2021.

3.5.1.2. Determinación del número de colonias con nanopartículas de óxido de bismuto cada 1, 2, 4 y 6 horas respectivamente

Para determinar el número de colonias, se realizó la siembra de extensión en placa, con la ayuda de una pipeta se agregó 0.1ml de muestra mezcladas con 0.1 g nanopartículas de Bi_2O_3 en los lapsos de tiempo establecidos, que luego fueron distribuidos uniformemente en cada caja Petri. Al cabo de 48 horas incubándose a 37°C, se obtuvieron los resultados de la Tabla 5-3.

Tabla 5-3. Número de colonias con nanopartículas de Bi_2O_3 en Agar Nutritivo

Tiempo de exposición a las nanopartículas de óxido de bismuto	Medio de cultivo
Horas	Agar nutritivo
1	10 colonias
2	4 colonias
4	0 colonias
6	0 colonias

Realizado por: Alvarez, 2021.

A través de estos resultados podemos evidenciar que existe una disminución considerable del número de bacterias, ya que de 15 colonias pasaron a 0, mientras más tiempo las nanopartículas de óxido de bismuto se encuentren en las muestras de aguas servidas diluidas.

3.5.1.3. Determinación del número de colonias sin nanopartículas de óxido de bismuto cada 1, 2, 4 y 6 horas respectivamente

Para determinar el número de colonias de la misma forma se realizó el mismo procedimiento, sin embargo, ya no se agregaron las nanopartículas de Bi_2O_3 . Al cabo de 48 horas incubándose las muestras en los tiempos establecidos a 37°C , se obtuvieron los resultados de la Tabla 6-3.

Tabla 6-3. Número de colonias con nanopartículas de Bi_2O_3 en Agar Nutritivo

Tiempo	Medio de cultivo
Horas	Agar nutritivo
1	15 colonias
2	15 colonias
4	15 colonias
6	15 colonias

Realizado por: Alvarez, 2021.

Abiertamente a través de estos resultados podemos reafirmar que sin la aplicación de nanopartículas de óxido de bismuto no hay ninguna disminución en el número de colonias.

3.5.1.4. Determinación del crecimiento bacteriano en agar Nutritivo con y sin nanopartículas de óxido de bismuto en estado puro.

Para determinar si existía o no crecimiento bacteriano en medios de cultivo con la aplicación directa de óxido de bismuto en su estado sólido puro luego de la síntesis, se realizó la siembra de 2 cepas puras en agar nutritivo y se procedió a colocar en una de ellas 0.1 g de nanopartículas de óxido de bismuto. Posteriormente se colocó en la incubadora a 37°C por 48 horas. Obtenido los resultados de la Tabla 7-3.

Tabla 7-3. Número de colonias con y sin nanopartículas de Bi₂O₃ en Agar Nutritivo

Cepas	Número de colonias	
	Con Bi ₂ O ₃	Sin Bi ₂ O ₃
Cepa 1	0	6
Cepa 2	0	2

Realizado por: Alvarez, 2021.

3.5.2. Determinación del número de colonias en Agar Sangre

3.5.2.1. Determinación del número de colonias a partir de una muestra de aguas servidas para riego en estado inicial

Para determinar el número de colonias inicial, se realizó la siembra de extensión en placa, en donde con la ayuda de una pipeta se agregó 0.1ml de la disolución, que luego fue distribuida uniformemente. Al cabo de 48 horas incubándose a 37°C, se obtuvo un total de 5 colonias (Figura 24-3) con 2 de las 4 especies bacterianas antes mencionadas.



Figura 24-3. Colonias obtenidas de la muestra inicial en Agar Sangre
Fuente: Álvarez, 2021.

3.5.2.2. *Determinación del número de colonias con nanopartículas de óxido de bismuto cada 1, 2, 4 y 6 horas respectivamente*

Para determinar el número de colonias, se realizó la siembra de extensión en placa, en donde con la ayuda de una pipeta se agregó 0.1ml de muestra mezcladas con 0.1 g nanopartículas de Bi_2O_3 en los lapsos de tiempo establecidos, que luego fueron distribuidos uniformemente en cada caja Petri. Al cabo de 48 horas incubándose a 37°C , se obtuvieron los resultados de la Tabla 8-3.

Tabla 8-3. Número de colonias con nanopartículas de Bi_2O_3 en Agar Sangre

Tiempo de exposición a las nanopartículas de óxido de bismuto	Medio de cultivo
Horas	Agar sangre
1	3 colonias
2	0 colonias
4	0 colonias
6	0 colonias

Realizado por: Alvarez, 2021.

Podemos confirmar mediante los resultados obtenidos que existe una disminución en este medio también del número de bacterias mientras más tiempo las nanopartículas de óxido de bismuto se encuentren en las muestras de aguas servidas diluidas. El número de colonias bajo de 5 a 0.

3.5.2.3. *Determinación del número de colonias sin nanopartículas de óxido de bismuto cada 1, 2, 4 y 6 horas respectivamente*

Para determinar el número de colonias de la misma forma se realizó el mismo procedimiento, sin embargo, ya no se agregaron las nanopartículas de Bi_2O_3 . Al cabo de 48 horas incubándose las muestras en los tiempos establecidos a 37°C , se obtuvieron los resultados de la Tabla 9-3.

Tabla 9-3. Número de colonias con nanopartículas de Bi_2O_3 en Agar Sangre

Tiempo	Medio de cultivo
Horas	Agar sangre
1	5 colonias
2	5 colonias
4	5 colonias
6	5 colonias

Realizado por: Alvarez, 2021.

Los resultados nos confirman que sin la aplicación de nanopartículas de óxido de bismuto no hay ninguna disminución en el número de colonias.

3.5.2.4. *Determinación del crecimiento bacteriano en agar Sangre con y sin nanopartículas de óxido de bismuto en estado puro.*

Para determinar si existía o no crecimiento bacteriano en medios de cultivo con la aplicación directa de óxido de bismuto en su estado sólido puro luego de la síntesis, se realizó la siembra de 2 cepas puras en agar sangre y se procedió a colocar en una de ellas 0.1 g de nanopartículas de óxido de bismuto. Posteriormente se colocó en la incubadora a 37°C por 48 horas. Obtenido los resultados de la Tabla 10-3.

Tabla 10-3. Número de colonias con y sin nanopartículas de Bi_2O_3 en Agar Nutritivo

Cepas	Número de colonias	
	Con Bi_2O_3	Sin Bi_2O_3
Cepa 1	0	7
Cepa 2	0	11

Realizado por: Alvarez, 2021.

3.6. Análisis del Diseño Experimental

Para realizar el análisis del diseño experimental se utilizó la Correlación de Pearson, para poder determinar la relación que se establecía entre las variables, es decir el tiempo de exposición de las nanopartículas con el agua versus el número de colonias que crecerían en los tiempos establecidos. De esta forma, a través de Excel (Figura 25-4) se realizaron las tablas con los resultados obtenidos en la parte experimental y se estableció el coeficiente de Correlación de Pearson para los resultados en Agar Nutritivo como se muestra en la Tabla 11-3 y para Agar Sangre indicado en la Tabla 12-3.

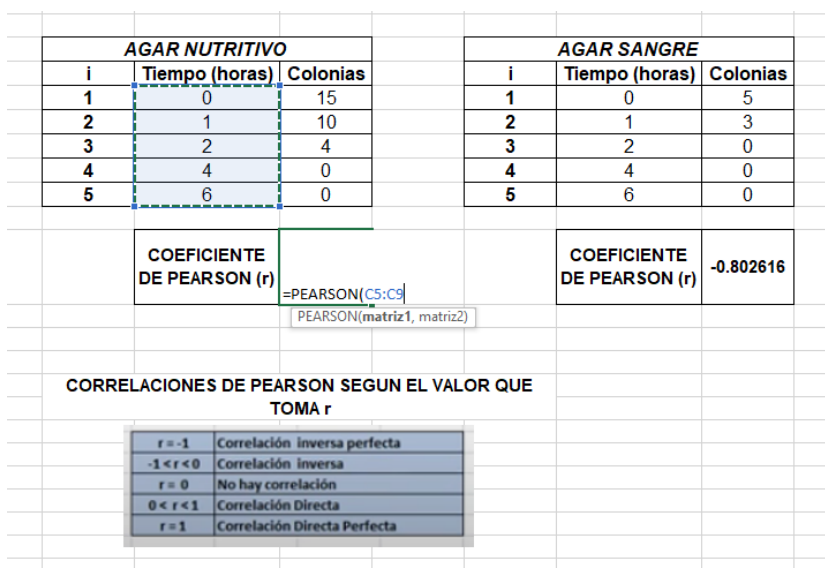


Figura 25-4. Resultados de la correlación de Pearson en Excel

Fuente: Álvarez, 2021.

Tabla 11-3. Coeficiente de Correlación de Pearson para los resultados en Agar Nutritivo

AGAR NUTRITIVO		
i	Tiempo (horas)	Colonias
1	0	15
2	1	10
3	2	4
4	4	0
5	6	0
COEFICIENTE DE PEARSON (r)		-0.968248

Realizado por: Alvarez, 2021.

Tabla 12-3. Coeficiente de Correlación de Pearson para los resultados en Agar Sangre

<i>AGAR SANGRE</i>		
i	Tiempo (horas)	Colonias
1	0	5
2	1	3
3	2	0
4	4	0
5	6	0
COEFICIENTE DE PEARSON (r)		-0.876501

Realizado por: Alvarez, 2021.

De acuerdo con los resultados obtenidos a través del Coeficiente de Correlación de Pearson podemos establecer que existe una correlación inversa entre las variables del tiempo establecido y colonias tanto para muestras de Agar Nutritivo que con un Coeficiente de Correlación de -0.968248 se posesiona como Correlación Inversa como para las muestras en Agar Sangre que con el Coeficiente de Correlación de -0.876501 de igual forma de fija como Correlación Inversa de acuerdo con la Correlación de Pearson.

3.7. Influencia de variables

3.7.1. Evaluación del efecto de las nanopartículas de óxido de bismuto en bacterias

Según el análisis comparativo de la Tabla 5-3 y Tabla 6-3 en Agar Nutritivo podemos evidenciar claramente que existe una disminución de carga bacteriana considerablemente cuando a las muestras de agua de riego diluidas se les agrega las nanopartículas de óxido de bismuto, ya que al estar en contacto con las nanopartículas de óxido de bismuto disminuyo el número de bacterias y al no colocarlas, el número de bacterias no varió en lo absoluto.

Así mismo, en el análisis comparativo de la Tabla 8-3 y Tabla 9-3 en Agar Sangre podemos demostrar que existe una disminución de carga bacteriana, llegando a la nulidad de colonias, que al contrario de las muestras que no se les adicionó las nanopartículas de óxido de bismuto, el número de bacterias no se redujo.

Por otro lado, el análisis de la Tabla 7-3 y Tabla 10-3, muestra perfectamente como la aplicación de nanopartículas de forma directa inhibe totalmente el crecimiento de bacterias, ya que a las placas que

se les colocaron las nanopartículas no presentaron muestra alguna de crecimiento de bacterias una vez que paso el proceso de incubación por 48 horas, mientras que si hubo crecimiento en las placas que no tenían las nanopartículas.

3.7.2. Evaluación del efecto del tiempo sobre las nanopartículas de óxido de bismuto

De acuerdo con la Tabla 5-3 en Agar Nutritivo, el número de colonias pasó de 15 a 0 en 6 horas, lo que nos permite asociar que el tiempo de contacto entre el agua y las nanopartículas es importante dentro del estudio y más tiempo de exposición existirá un menor número de colonias, teniendo una relación inversamente proporcional. Por otra parte, en la Tabla 6-3 en Agar Nutritivo no hubo intervención de nanopartículas de óxido de bismuto por lo cual no existe variación de colonias en el tiempo.

De igual manera en la Tabla 8-3 en Agar Sangre, el número de colonias disminuyó de 5 a 0 en 6 horas, lo que nos permite asociar nuevamente que el tiempo de contacto entre el agua y las nanopartículas es un factor relevante, teniendo una relación inversamente proporcional con respecto al número de colonias. Por otra parte, en la Tabla 9-3 en Agar Sangre no se evidenció reducción de carga bacteriana porque no hubo intervención de nanopartículas de óxido de bismuto.

3.7.3. Evaluación del efecto de la luz solar sobre las alícuotas de agua servida con nanopartículas de óxido de bismuto

De acuerdo con los resultados obtenidos en la Tabla 2-3 y Tabla 4-3 se observa que en presencia de luz solar las nanopartículas de óxido de bismuto activan su actividad fotocatalítica lo que hizo que disminuya la carga contaminante bacteriana, de tal manera que los datos arrojados fueron muy buenos, debido a la disminución de turbidez y la neutralidad de pH que se obtuvo. Esto indica una mejor calidad en el agua de riego. Por otro lado, la Tabla 1-3 y Tabla 2-3, expresan una reducción de carga al existir la presencia de nanopartículas de óxido de bismuto, pero por el contrario de las expuestas a la luz solar, la inhibición de bacterias fue leve.

CONCLUSIONES

Se compiló una serie de datos sobre el óxido de bismuto y como en la actualidad tiene gran aceptación dentro de los métodos de tratamiento biológico de aguas debido a su acción bactericida, ya que aparte de ser un método eficaz resulta un método amigable con el ambiente y no registra efectos nocivos a corto y largo plazo.

Se realizó la síntesis de nanopartículas de óxido de bismuto a partir de una síntesis verde usando extracto de *Mentha arvensis* y una solución de ion metálico de nitrato de bismuto, obteniendo nanopartículas puras de acuerdo con el análisis de Espectroscopia de Rayos X de energía dispersiva realizada en el Microscopio Electrónico de barrido y un tamaño de partícula entre 20-90 nanómetros. La forma de las nanopartículas fue alargada redonda y el color obtenido fue marrón claro.

Se evaluaron los resultados de las pruebas tanto físicas como microbiológicas y ambas nos reafirman que el uso de nanopartículas de óxido de bismuto como bactericida es sumamente efectivo, dado que se redujo considerablemente la carga bacteriana al momento en que las muestras de aguas servidas de riego se pusieron en contacto con las nanopartículas de óxido de bismuto (Santodomingo 2018, p. 13).

RECOMENDACIONES

Se recomienda realizar un análisis con un Microscopio Electrónico de Transmisión ya que con este equipo se podría medir con mayor exactitud en tamaño de partícula de las nanopartículas que son sintetizadas.

Se podría en siguientes estudios probar con extractos de plantas distintas para evaluar la pureza de las nanopartículas obtenidas a través de síntesis verde, es decir, demostrar la eficiencia oxidante, por ejemplo, de hojas de cilantro, orégano o perejil ya que son económicas y podrían dar excelentes resultados.

Se sugiere el estudio de nanopartículas de óxido de bismuto con otros contaminantes, como contaminantes orgánicos en el agua, de tal manera que podamos averiguar su capacidad de reducir carga contaminante de distinto tipo.

GLOSARIO

Colonia bacteriana: Se conoce como colonia bacteriana al conjunto de bacterias agrupadas las cuales han sido incubadas alrededor de 24 horas en cierto medio de cultivo. este tipo de colonias puede variar de tamaño, forma o color dependiendo de la especie (Vargas, et al., 2014 p. 2594).

Longitud de onda: La longitud de onda es la distancia que existe entre dos puntos de onda de cierta partícula, estos puntos a la vez se relacionan con el movimiento vibracional de cada sustancia o muestra lo que permite estudiar la absorción de la energía que se produce (Piqué, et al., 2012).

Morfología bacteriana: La morfología bacteriana es aquella que tiene que ver con las características físicas de una bacteria o una colonia bacteriana, en este caso se pueden presentar formas como bastones, botones y variaciones de estos (Vargas, et al., 2014 p. 2596).

Nitrato de bismuto: El nitrato de bismuto es un compuesto químico que resulta de la reacción entre ácido nítrico y bismuto.

BIBLIOGRAFÍA

ABASS, A.A., WASNA'A, M.A., ALSEHLAWI, Z.S. y ABD, A.N., 2014. Determination of Antimicrobial Activity of Bi 2 O 3 nanospheres Against Multi-Drug Resistant Pathogenic Bacteria. *Researchgate.Net* [en línea], vol. S.N., no. S.N., pp. 1-10. Disponible en: [https://www.researchgate.net/profile/Abeer_Al-](https://www.researchgate.net/profile/Abeer_Al-Hussanawi/publication/326997642_Determination_of_Antimicrobial_Activity_of_Bi2O3_nanospheres_Against_Multi-Drug_Resistant_Pathogenic_Bacteria/links/5b71bfd1a6fdcc87df744553/Determination-of-Antimicrobial-Activ)

[Hussanawi/publication/326997642_Determination_of_Antimicrobial_Activity_of_Bi2O3_nanospheres_Against_Multi-](https://www.researchgate.net/profile/Abeer_Al-Hussanawi/publication/326997642_Determination_of_Antimicrobial_Activity_of_Bi2O3_nanospheres_Against_Multi-Drug_Resistant_Pathogenic_Bacteria/links/5b71bfd1a6fdcc87df744553/Determination-of-Antimicrobial-Activ)

[Drug_Resistant_Pathogenic_Bacteria/links/5b71bfd1a6fdcc87df744553/Determination-of-Antimicrobial-Activ.](https://www.researchgate.net/profile/Abeer_Al-Hussanawi/publication/326997642_Determination_of_Antimicrobial_Activity_of_Bi2O3_nanospheres_Against_Multi-Drug_Resistant_Pathogenic_Bacteria/links/5b71bfd1a6fdcc87df744553/Determination-of-Antimicrobial-Activ)

ASTUDILLO GODOY, J., 1986. Estudio comparativo entre agua potable y agua servidas de la ciudad de Copiapó aplicando técnicas de lixiviación de Minerales oxidados de cobre. *Universidad de Atacama* [en línea], vol. S.N., no. S.N., pp. 1-12. Disponible en: <https://hdl.handle.net/20.500.12740/5298>.

CASTRO, P., 2020. Diseño de la escombrera municipal San Vicente de Lacas, en el sector Cerro Negro, parroquia Maldonado, cantón Riobamba. *DSpace U. Central* [en línea], vol. S.N., no. S.N., pp. 255. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/21246/1/T-UCE-0012-FIG-208.pdf>.

CHÁVEZ-LIZÁRRAGA, G.A., 2018. Nanotecnología una alternativa para el tratamiento de aguas residuales: Avances, Ventajas y Desventajas. *Journal of the Selva Andina Research Society* [en línea], vol. 9, no. 1, pp. 52-61. ISSN 2072-9294. DOI 10.36610/j.jsars.2018.090100052. Disponible en: http://www.scielo.org.bo/pdf/jsars/v9n1/v9n1_a05.pdf.

DEZA MARTÍ, E., 2017. Estudio de catalizadores basados en nanopartículas de TIO2 para la degradación fotocatalítica del colorante cibacrón navy H-2G presente en efluentes textiles. *Repositorio de Tesis - UNMSM* [en línea], vol. S.N., no. S.N., pp. 1-135. Disponible en: https://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12672/6801/Deza_me.pdf?sequence=1&isAllowed=y.

FERNANDEZ, A., 2012. El agua: un recurso esencial. *Química Viva* [en línea], vol. 11, no. 3, pp. 147-170. ISSN 1666-7948. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/863/86325090002.pdf>.

FIROUZI DALVAND, L., HOSSEINI, F., DEHAGHI, S.M. y TORBATI, E.S., 2018. Inhibitory effect of bismuth oxide nanoparticles produced by bacillus licheniformis on methicillin-resistant staphylococcus aureus strains (MRSA). *Iranian Journal of Biotechnology*, vol. 16, no. 4, pp. 279-286. ISSN 23222921. DOI 10.21859/IJB.2102.

GARCIA, A., 2019. Importancia del agua de riego en la agricultura. *Fertibox* [en línea]. Disponible en: <https://www.fertibox.net/single-post/agua-riego>.

GARCIA, M., 2016. Momentos clave en la historia de la Biología y Geología . Las ciencias biológicas y geológicas españolas y su evolución en el contexto mundial . Principales áreas de investigación ac ... *CENOPOSISI* [en línea], vol. S.N., no. January 2009. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/263925513_Momentos_clave_en_la_historia_de_la_Biologia_y_Geologia_Las_ciencias_biologicas_y_geologicas_espanolas_y_su_evolucion_en_el_contexto_mundial_Principales_areas_de_investigacion_actual_Las_relaciones_en.

GÓMEZ GARZÓN, M., 2018. NANOMATERIALES, NANOPARTICULAS Y SINTESIS VERDE. *Universidad de los Andes* [en línea], vol. S.N., no. S.N., pp. 1-12. Disponible en: <https://revistas.fucsalud.edu.co/index.php/repertorio/article/download/191/187?inline=1>.

GONZÁLEZ GONZÁLEZ, M.I. y CHIROLES RUBALCABA, S., 2011. Uso seguro y riesgos microbiológicos del agua residual para la agricultura. *Revista Cubana de Salud Pública* [en línea], vol. 37, no. 1, pp. 61-73. ISSN 0864-3466. DOI 10.1590/s0864-34662011000100007. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/214/21417788007.pdf>.

HERNANDEZ-DELGADILLO, R., VELASCO-ARIAS, D., MARTINEZ-SANMIGUEL, J.J., DIAZ, D., ZUMETA-DUBE, I., AREVALO-NIÑO, K. y CABRAL-ROMERO, C., 2013. Bismuth oxide aqueous colloidal nanoparticles inhibit *Candida albicans* growth and biofilm formation. *International Journal of Nanomedicine* [en línea], vol. 8, no. S.N., pp. 1645-1652. ISSN 11769114. DOI 10.2147/IJN.S38708. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3639116/>.

LÓPEZ TÉLLEZ, G., MORALES LUCKIE, R.A., OLEA MEJÍA, O.F., SÁNCHEZ MENDIETA, V., TRUJILLO REYES, J., VARELA GUERRERO, V. y VILCHIS NESTOR, A.R., 2013. *Nanoestructuras metálicas* [en línea]. S.l.: s.n. ISBN 9786077815112. Disponible en: http://ri.uaemex.mx/bitstream/handle/20.500.11799/52618/LopezTellez_tripa_2013.pdf?sequence=1&isAllowed=y.

MARÍN-XICOTÉNCATL, A.M. y ROMÁN-AGUIRRE, M., 2018. SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DEL ÓXIDO DE BISMUTO (Bi_2O_3) DOPADO CON Ce PARA LA PRODUCCIÓN DE HIDROGENO. *14° Verano de la investigación. CIMAV* [en línea], vol. S.N., no. S.N., pp. 31109. Disponible en: [https://cimav.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1004/2190/1/17 POSTER Bi2O3.pdf](https://cimav.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1004/2190/1/17_POSTER_Bi2O3.pdf).

MARTÍNEZ, J., 2011. *Posibilidades de síntesis de óxidos mixtos de bismuto con estructura tipo perovskita por el método citrato. Trabajo de grado para optar al título de Magíster en Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia* [en línea]. S.l.: s.n. Disponible en: <https://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/7461/197341.2011.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

MINISTERIO DEL AMBIENTE, 2017. Texto Unificado de Legislación Secundaria de Medio Ambiente, TULSMA. *Registro Oficial Edición Especial 2 de 31-mar.-2003* [en línea], vol. S.N., no. 3399, pp. 1-578. Disponible en: www.lexis.com.ec.

MORALES RAMOS, C.B., 2019. *Estudio de la Oxidación de Nanopartículas de Bismuto Preparadas Mediante la Técnica Ablación Láser de Sólidos en Líquidos* [en línea]. S.l.: s.n. Disponible en: <http://hdl.handle.net/20.500.11799/105613>.

MOSQUERA, E., ROSAS, N., DEBUT, A. y GUERRERO, H., 2015. Síntesis y caracterización de nanopartículas de Dioxido de Titanio obtenidas por el metodo sol-gel. *Revista Politécnica* [en línea], vol. 36, no. 3, pp. 7. Disponible en: https://www.revistapolitecnica.epn.edu.ec/ojs2/index.php/revista_politecnica2/article/view/525/pdf.

MOTAKEF KAZEMI, N. y YAQOUBI, M., 2019. Synthesis of Bismuth Oxide: Removal of benzene from waters by Bismuth Oxide Nanostructures. *Analytical Methods in Environmental Chemistry Journal* [en línea], vol. 2, no. 04, pp. 5-14. ISSN 2645-5552. DOI 10.24200/amecj.v2.i04.79. Disponible en: <http://journal.amecj.com/index.php/AMECJ-01/article/view/79/146>.

OSORIO ABRAHAM, M.C., 2011. *Síntesis Y Caracterización De Nanotubos Monocapa, Nanotubos Multicapa Y Nanopartículas De Bismuto Obtenidas Mediante Irradiación De Microondas* [en línea]. S.l.: s.n. Disponible en: <http://eprints.uanl.mx/2657/1/1080211185.pdf>.

PIQUÉ, T.M. y VÁZQUEZ, A., 2012. Concreto y cemento: Investigación y desarrollo. *Concreto y cemento. Investigación y desarrollo* [en línea], vol. 3, no. 2, pp. 62-71. ISSN 2007-3011. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-30112012000100004&lng=es&nrm=iso&tlng=es.

QUINTEROS CARABALÍ, J.A., GÓMEZ-GARCÍA, J., SOLANO, M., LLUMIQUINGA, G., BURGOS, C. y CARRERA-VILLACRÉS, D., 2019. Evaluación de la calidad de agua para riego y aprovechamiento del recurso hídrico de la quebrada Toglhuayco. *Siembra* [en línea], vol. 6, no. 2, pp. 046-057. ISSN 1390-8928. DOI 10.29166/siembra.v6i2.1641. Disponible en: <https://revistadigital.uce.edu.ec/index.php/SIEMBRA/article/view/1641/2476>.

RENAU-PIQUERAS, J. y FAURA, M., 1965. Principios básicos del Microscopio Electrónico de Barrido. *Centro de investigación hospital «La Fé»* [en línea], vol. S.N., no. S.N., pp. 73-92. Disponible en: https://ruc.udc.es/dspace/bitstream/handle/2183/9313/CC-011_art_5.pdf.

ROBERT, M., 2014. Microorganismos indicadores de la calidad del agua de consumo humano en Cuba. *CENIC. Ciencias Biológicas* [en línea], vol. 45, no. 1, pp. 25--36. ISSN 0253-5688. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=181230079005>.

RODRIGUEZ, L., 2020. El proceso de tratamiento de aguas residuales y eliminación de contaminantes emergentes | iAgua. *Iagua* [en línea]. Disponible en: <https://www.iagua.es/blogs/lander-rodriguez-jorge/proceso-tratamiento-aguas-residuales-y-eliminacion-contaminantes>.

RODRÍGUEZ, P.A. y ARENAS, R., 2018. Hans Christian Gram y su tinción. *Dermatología Cosmética, Medica y Quirúrgica* [en línea], vol. 16, no. 2, pp. 166-167. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/cosmetica/dcm-2018/dcm182n.pdf>.

RODRÍGUEZ PIMENTEL, H., 2017. Las aguas residuales y sus efectos contaminantes. *Iagua* [en línea]. Disponible en: <https://www.iagua.es/blogs/hector-rodriguez-pimentel/aguas-residuales-y-efectos-contaminantes>.

SANTAMBROSIOEDUARDO; BLACIO, E., 2009. Curso Teorico De Buceo Con Equipo Scuba. [en línea], pp. 1-31. Disponible en: [https://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/6350/1/TNP Cap 5 Buceo SCUBA 2009.pdf](https://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/6350/1/TNP%20Cap%205%20Buceo%20SCUBA%202009.pdf).

SANTODOMINGO, P., 2018. *SÍNTESIS DE PARTÍCULAS ULTRAFINAS Y NANOPARTÍCULAS A PARTIR DE CORTEZA DE PINO (PINUS PATULA) PARA LA REMOCIÓN DE CROMO HEXAVALENTE (CR (VI)) EN AGUAS CONTAMINADAS* [en línea]. S.l.: s.n. Disponible en: <https://repositorio.uniandes.edu.co/bitstream/handle/1992/39189/u821069.pdf?sequence=1>.

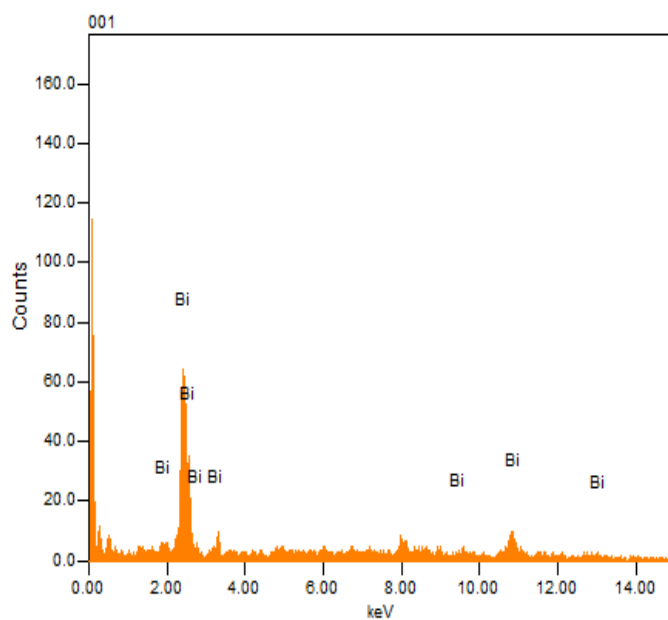
VARGAS-FLORES, T. y KUNO-VARGAS, A., 2015. Morfología bacteriana. *Revista de Actualización Clínica* [en línea], vol. 49, no. 2, pp. 2594-2598. Disponible en: http://metabase.uaem.mx/bitstream/handle/123456789/1466/280_2.pdf?sequence=1.

VARGAS-HERNÁNDEZ, J., BARRÓN-BAZA, G.A., GARCÍA-GARCILAZO, J.E. y SORIANO-SILVERIO, K., 2016. Síntesis de nanopartículas de TiO₂ con alta área superficial para degradación de contaminantes en agua. *Revista de Ciencias Ambientales y Recursos Naturales* [en línea], vol. 2, no. 4, pp. 27-32. Disponible en: http://ri.uaemex.mx/bitstream/handle/20.500.11799/99572/Revista_de_Ciencias_Ambientales_y_Recursos_Naturales_V2_N4_5.pdf?sequence=1&isAllowed=y.

WWF, 2016. Fondo Mundial para la Naturaleza: Recurso agua. *Fondo Mundial para la Naturaleza: Recurso agua* [en línea]. Disponible en: <https://wwf.panda.org/es/acerca/wwf/>.

ANEXOS

ANEXO A: ANÁLISIS DE ESPECTROSCOPIA DE RAYOS X DE ENERGÍA DISPERSIVA PARA EVALUAR PUREZA DEL ÓXIDO DE BISMUTO



Acquisition Condition

Instrument : IT100LA
Volt : 20.00 kV
Current : ---
Process Time : T4
Live time : 120.00 sec.
Real Time : 120.57 sec.
~~DeadTime~~ : 1.00 %
Count Rate : 165.00 CPS

Formula	mass%	mol%	Cation	Sigma	Net	K ratio	Line
Bi2O3	0.31	100.00	16.00	0.01	938	0.0025730	M
Total	0.31	100.00	16.00				

ANEXO B: MUESTRA DE 5 GRAMOS DE ÓXIDO DE BISMUTO OBTENIDOS A PARTIR DE LA SÍNTESIS VERDE DE NANOPARTÍCULAS.



ANEXO C: PESAJE DEL IÓN METÁLICO, NITRATO DE BISMUTO, PARA SU USO EN LA SÍNTESIS VERDE DE NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE BISMUTO.



ANEXO D: PREPARACIÓN DE LAS DILUCIONES DE LAS MUESTRAS DE AGUA SERVIDA DE LA COMUNIDAD SAN VICENTE DE LACAS.



ANEXO E: PROCESO DE RECOLECCIÓN DE MUESTRAS DE AGUAS SERVIDAS EN LA COMUNIDAD SAN VICENTE DE LACAS PARA LAS PRUEBAS FÍSICAS Y MICROBIOLÓGICAS.

