



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE  
SAN NICOLÁS DE HIDALGO**

**FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA  
FACULTAD DE BIOLOGÍA  
FACULTAD DE INGENIERÍA CIVIL**

**PROGRAMA DE MAESTRÍA EN CIENCIAS  
EN INGENIERÍA AMBIENTAL**

**Nanopartículas de Ag soportadas en  $Ti_{1-x}Ce_xO_2$ : Síntesis,  
funcionalización y aplicación antimicrobial**

**TESIS**

**para obtener el grado de:  
MAESTRO EN CIENCIAS EN INGENIERÍA AMBIENTAL**

**Presenta el  
Q.F.B. ERIC ROJAS RUIZ**

**DIRETOR DE TESIS:  
D.C. ROBERTO GUERRA GONZALEZ  
CO-DIRECTOR DE TESIS:  
D.C. J. RICARDO RANGEL SEGURA**

**Morelia, Michoacán, febrero de 2020.**

## RESUMEN

El presente trabajo fue dirigido a realizar estudios de inhibición con nanopartículas de plata soportadas en dióxido de titanio impurificado con cerio ( $\text{Ag/Ti}_{1-x}\text{Ce}_x\text{O}_2$ ) en su desempeño como agente bactericida de los patógenos *Salmonella typhimurium* y *Staphylococcus aureus*. Los materiales de  $\text{Ag/Ti}_{1-x}\text{Ce}_x\text{O}_2$  fueron obtenidos mediante síntesis sol-gel asistida por microondas la cual permite llevar a cabo la síntesis de los compuestos en periodos de tiempo relativamente corto. Las nanopartículas de plata fueron depositadas mediante los métodos reducción de alta dispersión e impregnación incipiente con reducción de H.

Inicialmente se probaron los materiales sin energía del espectro visible y como segunda etapa con energía del espectro visible con una lámpara de luz blanca, con el objetivo de verificar su eficiencia en el efecto bactericida durante el proceso de inhibición de la bacteria *Salmonella typhimurium*, para efectuar un estudio comparativo acerca de la eficiencia de los métodos de depósito de Ag, los cuales se utilizaron para estudiar el proceso de inhibición ante la bacteria *Staphylococcus aureus*, la cual presenta una mayor resistencia.

Los materiales se caracterizaron por difracción de rayos x (DRX), microscopia electrónica de barrido (MEB), área superficial específica (BET) y espectroscopia UV-Vis.

Los materiales con energía del espectro visible no presentaron diferencia significativa, demostrando la efectividad del  $\text{Ag/Ti}_{1-x}\text{Ce}_x\text{O}_2$  para los materiales con impregnación incipiente, su efectividad se presentó a los 60 minutos inhibiendo en 100% las bacterias, mientras que por reducción de alta dispersión solo mostraron un efecto bacteriostático, para la prueba con *Staphylococcus aureus* la prueba de inhibición fue confirmatoria a las 24 horas inhibiendo al 100% a la bacteria, demostrando que el  $\text{Ag/Ti}_{1-x}\text{Ce}_x\text{O}_2$  es un excelente soporte para las nanopartículas de Ag, pero con más eficiencia por el método de impregnación húmeda incipiente y reducción con H.

Palabras clave: Inhibición, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, impurificado, plata

## ABSTRACT

Herein it is reported an inhibition study which aimed to produce a bacterial inhibition with silver nanoparticles supported in titanium dioxide which was doped with cerium ( $\text{Ag/Ti}_{1-x}\text{Ce}_x\text{O}_2$ ) and to observe its performance as a bactericidal agent. The bacteria over which the agent worked were the pathogens *S. T.* and *S. A.*  $\text{Ag/Ti}_{1-x}\text{Ce}_x\text{O}_2$  materials were obtained by microwave-assisted sol-gel synthesis which allows the synthesis of the compounds to be carried out in relatively short periods of time. The silver nanoparticles were deposited using the methods of high dispersion reduction and incipient impregnation with H reduction.

Initially the energy-free materials of the visible spectrum were tested with a second stage using visible spectrum energy with a white light lamp. A comparative study aiming to verify the efficiency of the bactericidal effects of Ag deposit methods upon the bacteria *Salmonella typhimurium* and *Staphylococcus aureus* bacteria, which has greater resistance, was carried out.

The materials were characterized by x-ray diffraction (XRD), scanning electron microscopy (SEM), specific surface area (BET), and UV-Vis spectroscopy.

Materials with visible spectrum energy had no significant difference, demonstrating the effectiveness of  $\text{Ag/Ti}_{1-x}\text{Ce}_x\text{O}_2$  for materials with incipient impregnation, its effectiveness was presented at 60 minutes inhibiting bacteria by 100%, while by reducing high dispersion only showed a bacteriostatic effect, for testing with *Staphylococcus aureus* the inhibition test was confirmed at 24 hours inhibiting 100% to the bacteria, demonstrating that  $\text{Ag/Ti}_{1-x}\text{Ce}_x\text{O}_2$  is an excellent support for Ag nanoparticles, but more efficiently by the incipient wet impregnation and H reduction method.

# ÍNDICE GENERAL

	PÁGINA
1. INTRODUCCION	8
2. ANTECEDENTES	10
2.1 BACTERIAS GRAM POSITIVAS Y GRAM NEGATIVAS	12
2.2 <i>Salmonella typhimurium</i>	13
2.3 <i>Staphylococcus aureus</i>	15
2.4 INTERACCIÓN BACTERIA-METAL	16
2.5 LA PLATA Y SU ACCIÓN BACTERICIDA	17
3. MARCO TEÓRICO	18
3.1 DIÓXIDO DE TITANIO	18
3.2 OXIDO DE CERIO	19
3.3 SINTESIS SOL GEL	20
3.4 MICROONDAS	20
3.5 IMPURIFICACIÓN	24
3.6 SEMICONDUCTORES TIPO “n”	25
3.7 SEMICONDUCTORES TIPO ‘p’	26
4. JUSTIFICACION	27
5. HIPÓTESIS	27
6. OBJETIVO GENERAL	28
6.1 OBJETIVOS GENERALES	28
7. DESARROLLO EXPERIMENTAL	29
7.1 SÍNTESIS DE COMPUESTOS $Ti_{1-x}Ce_xO_2$	29
7.2 MÉTODO DE IMPREGNACIÓN HÚMEDA INCIPIENTE	29
7.3 REDUCCIÓN DE ALTA DISPERSIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE Ag	30
7.4 CARACTERIZACIÓN	30
7.5 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (MEB).	30
7.6 DIFRACCIÓN DE RAYOS X (DRX)	31
7.7 ÁREA SUPERFICIAL ESPECIFICA (BET)	33
7.8 ESPECTROSCOPIA UV-Vis DE REFLECTANCIA DIFUSA	36
7.9 PREPARACIÓN DE CALDOS NUTRITIVOS	37

7.10	PREPARACIÓN DE PLACAS CON AGAR	37
7.11	CEPAS BACTERIANAS	37
7.12	TURBIDEZ ESTÁNDAR PARA LA PREPARACIÓN DEL INÓCULO	38
7.13	PREPARACIÓN DE LOS INÓCULOS	38
7.14	CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA (CMI) Y CONCENTRACIÓN MÍNIMA BACTERICIDA (CMB) DE LOS MATERIALES COMO BACTERICIDAS	38
7.15	CRECIMIENTO BACTERIANO EN PRESENCIA DE LOS MATERIALES	40
8.	RESULTADOS	41
8.1	CARACTERIZACIÓN DE LOS MATERIALES	41
8.2	ESPECTROSCOPIA UV-VIS EN REFLECTANCIA DIFUSA	41
8.3	MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (MEB)	44
8.3.1	GRÁFICAS DE ESPECTRÓMETRO DISPERSIVO DE LA ENERGÍA (EDS) $Ti_{0.98}Ce_{0.02}O_2$	49
8.3.2	GRÁFICAS DE ESPECTRÓMETRO DISPERSIVO DE LA ENERGÍA (EDS) $Ti_{0.96}Ce_{0.04}O_2$	50
8.3.3	GRÁFICAS DE ESPECTRÓMETRO DISPERSIVO DE LA ENERGÍA (EDS) $Ag/Ti_{0.98}Ce_{0.02}O_2$	50
8.3.4	GRÁFICAS DE ESPECTRÓMETRO DISPERSIVO DE LA ENERGÍA (EDS) $Ag/Ti_{0.96}Ce_{0.04}O_2$	50
8.3.5	GRÁFICAS DE ESPECTRÓMETRO DISPERSIVO DE LA ENERGÍA (EDS) $Ag/Ti_{0.98}Ce_{0.02}O_2$ 3%	51
8.3.6	GRÁFICAS DE ESPECTRÓMETRO DISPERSIVO DE LA ENERGÍA (EDS) $Ag/Ti_{0.96}Ce_{0.04}O_2$ 3%	51
8.3.7	GRÁFICAS DE ESPECTRÓMETRO DISPERSIVO DE LA ENERGÍA (EDS) $Ag/Ti_{0.98}Ce_{0.02}O_2$ H <sub>2</sub>	51
8.3.8	GRÁFICAS DE ESPECTRÓMETRO DISPERSIVO DE LA ENERGÍA (EDS) $Ag/Ti_{0.96}Ce_{0.04}O_2$ H <sub>2</sub>	52
8.4	ÁREA SUPERFICIAL ESPECÍFICA (BET)	52
8.5	DIFRACCIÓN DE RAYOS X (DRX)	55
8.5.1	DIFRACCIÓN DE RAYOS X $Ti_{0.98}Ce_{0.02}O_2$	55
8.5.2	DIFRACCIÓN DE RAYOS X $Ti_{0.96}Ce_{0.04}O_2$	55
8.5.3	DIFRACCIÓN DE RAYOS X $Ag/Ti_{0.98}Ce_{0.02}O_2$	56
8.5.4	DIFRACCIÓN DE RAYOS X $Ag/Ti_{0.96}Ce_{0.04}O_2$	56
8.5.5	DIFRACCIÓN DE RAYOS X $Ag/Ti_{0.98}Ce_{0.02}O_2$ 3%	57
8.5.6	DIFRACCIÓN DE RAYOS X $Ag/Ti_{0.96}Ce_{0.04}O_2$ 3%	57
8.5.7	DIFRACCIÓN DE RAYOS X $Ag/Ti_{0.98}Ce_{0.02}O_2$ H <sub>2</sub>	58
8.5.8	DIFRACCIÓN DE RAYOS X $Ag/Ti_{0.96}Ce_{0.04}O_2$ H <sub>2</sub>	58
8.6	EVALUACIÓN ANTIBACTERIAL	59
8.6.1	<i>Salmonella thypimurium</i>	59
8.6.1.1	TiO <sub>2</sub>	59
8.6.1.2	CeO <sub>2</sub>	60

8.6.1.3 $\text{Ti}_{0.98}\text{Ce}_{0.02}\text{O}_2$	61
8.6.1.4 $\text{Ti}_{0.96}\text{Ce}_{0.04}\text{O}_2$	62
8.6.1.5 $\text{Ag}/\text{Ti}_{0.98}\text{Ce}_{0.02}\text{O}_2$	63
8.6.1.6 $\text{Ag}/\text{Ti}_{0.96}\text{Ce}_{0.04}\text{O}_2$	64
8.6.1.7 $\text{Ag}/\text{Ti}_{0.98}\text{Ce}_{0.02}\text{O}_2$ 3%	65
8.6.1.8 $\text{Ag}/\text{Ti}_{0.96}\text{Ce}_{0.04}\text{O}_2$ 3%	66
8.6.1.9 $\text{Ag}/\text{Ti}_{0.98}\text{Ce}_{0.02}\text{O}_2$ $\text{H}_2$	67
8.6.1.10 $\text{Ag}/\text{Ti}_{0.96}\text{Ce}_{0.04}\text{O}_2$ $\text{H}_2$	68
8.6.2 PRUEBAS CON LUZ VISIBLE	69
8.6.2.1 $\text{Ti}_{0.98}\text{Ce}_{0.02}\text{O}_2$	69
8.6.2.2 $\text{Ti}_{0.96}\text{Ce}_{0.04}\text{O}_2$	70
8.6.2.3 $\text{Ag}/\text{Ti}_{0.98}\text{Ce}_{0.02}\text{O}_2$	71
8.6.2.4 $\text{Ag}/\text{Ti}_{0.96}\text{Ce}_{0.04}\text{O}_2$	72
8.6.2.5 $\text{Ag}/\text{Ti}_{0.98}\text{Ce}_{0.02}\text{O}_2$ 3%	73
8.6.2.6 $\text{Ag}/\text{Ti}_{0.96}\text{Ce}_{0.04}\text{O}_2$ 3%	74
8.6.2.7 $\text{Ag}/\text{Ti}_{0.98}\text{Ce}_{0.02}\text{O}_2$ $\text{H}_2$	75
8.6.2.8 $\text{Ag}/\text{Ti}_{0.96}\text{Ce}_{0.04}\text{O}_2$ $\text{H}_2$	76
8.6.3 <u>Staphylococcus aureus</u>	78
8.6.1 $\text{Ag}/\text{Ti}_{0.98}\text{Ce}_{0.02}\text{O}_2$ $\text{H}_2$	78
8.6.2 $\text{Ag}/\text{Ti}_{0.96}\text{Ce}_{0.04}\text{O}_2$ $\text{H}_2$	79
9.CONCLUSIONES	80
10. BIBLIOGRAFÍA	82
11.APANDICE A	90
12.APENDICE B	91
13.APENDICE C	93

LISTA DE FIGURAS	PÁGINA
Figura 1 GRAM POSITIVOS, GRAM NEGATIVOS	13
Figura 2 Estructuras cristalinas del $\text{TiO}_2$ a) Rutilo, b) Anatasa y c) Broquita	18
Figura 3 Interacción dipolar	21
Figura 4 Conducción Iónica	22
Figura 5 AISLANTE, CONDUCTOR Y SEMICONDUCTOR	24
Figura 6 SEMICONDUCTOR TIPO "n"	25
Figura 7 SEMICONDUCTOR TIPO "p"	26
Figura 8 Microscopio electrónico de barrido JSM-6400 JEOL Noran Instruments	31
Figura 9 Equipo de difracción de rayos-X marca SIEMENS modelo D- 500	32
Figura 10 Tipos de isotermas de adsorción	34
Figura 11 Presión relativa, $P/P_0$	35
Figura 12 Esquema para la determinación de la CMI y CMB	40
Figura 13 Grafica de $\text{Ti}_{0.98}\text{Ce}_{0.02}\text{O}_2$	42
Figura 14 Grafica de $\text{Ti}_{0.96}\text{Ce}_{0.04}\text{O}_2$	42
Figura 15 Grafica de $\text{Ag}/\text{Ti}_{0.98}\text{Ce}_{0.02}\text{O}_2$	42
Figura 16 Grafica de $\text{Ag}/\text{Ti}_{0.96}\text{Ce}_{0.04}\text{O}_2$	42

Figura 17 Grafica de Ag/Ti <sub>0.98</sub> Ce <sub>0.02</sub> O <sub>2</sub> 3%	42
Figura 18 Grafica de Ag/Ti <sub>0.96</sub> Ce <sub>0.04</sub> O <sub>2</sub> 3%	42
Figura 19 Grafica de Ag/Ti <sub>0.98</sub> Ce <sub>0.02</sub> O <sub>2</sub> H <sub>2</sub>	43
Figura 20 Grafica de Ag/Ti <sub>0.96</sub> Ce <sub>0.04</sub> O <sub>2</sub> H <sub>2</sub>	43
Figura 21 Fotomicrografías MEB que presentan la morfología de la muestra Ti <sub>0.98</sub> Ce <sub>0.02</sub> O <sub>2</sub> a 1000X, 5000X y 10000X.	44
Figura 22 Fotomicrografías MEB que presentan la morfología de la muestra Ti <sub>0.96</sub> Ce <sub>0.04</sub> O <sub>2</sub> a 1000X, 5000X y 10000X.	45
Figura 23 Fotomicrografías MEB que presentan la morfología de la muestra Ag/Ti <sub>0.98</sub> Ce <sub>0.02</sub> O <sub>2</sub> a 1000X, 5000X y 10000X	46
Figura 24 Fotomicrografías MEB que presentan la morfología de la muestra Ag/Ti <sub>0.96</sub> Ce <sub>0.04</sub> O <sub>2</sub> a 20000X y 19000X	46
Figura 25 Fotomicrografías MEB que presentan la morfología de la muestra Ag/Ti <sub>0.98</sub> Ce <sub>0.02</sub> O <sub>2</sub> 3% a 5000X, 10000X y 20000X	47
Figura 26 Fotomicrografías MEB que presentan la morfología de la muestra Ag/Ti <sub>0.96</sub> Ce <sub>0.04</sub> O <sub>2</sub> 3% a 5000X, 10000X y 20000X	47
Figura 27 Fotomicrografías MEB que presentan la morfología de la muestra Ag/Ti <sub>0.98</sub> Ce <sub>0.02</sub> O <sub>2</sub> H <sub>2</sub> a 5000X, 10000X y 20000X	48
Figura 28 Fotomicrografías MEB que presentan la morfología de la muestra Ag/Ti <sub>0.96</sub> Ce <sub>0.04</sub> O <sub>2</sub> H <sub>2</sub> a 5000X, 10000X y 20000X	49

#### LISTA DE TABLAS Y CUADROS

Propiedades estructurales de los compuestos	52
Colonias sobrevivientes de <u>Salmonella typhimurium</u>	77

## 1. INTRODUCCIÓN:

Diversas enfermedades suelen ser causadas por el uso o consumo de aguas contaminadas, de las cuales algunas son relacionadas con algún tipo de microorganismo. Por ello, la transmisión de patógenos por medio del agua continúa siendo un problema grave. Por esto, los agentes antimicrobianos son necesarios para inhibir la reproducción de patógenos.

La plata y otros metales pueden llegar a ser muy efectivos en la inhibición del crecimiento bacteriano y son preferibles a otros agentes antibacterianos, ya que no representan un alto riesgo ni cambian las características fisicoquímicas del agua, minimizando la formación de subproductos durante el proceso de desinfección (Tortora G., 2007).

En diversos estudios se han observado las propiedades antimicrobianas de las nanopartículas de plata tanto en virus como en bacterias. Se ha determinado que las nanopartículas de plata tienen efecto en bacterias gram-negativas como *Escherichia coli* y *Salmonella typhi* (Guerra et al., 2011) y, gram-positivas como *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* (Shrivastava et al., 2007) y *Enterococcus faecalis* (Panacek et al., 2006).

Las bacterias patogénicas, como *S. typhi* y *E. coli*, son de particular interés por ser transmisoras de enfermedades a través del consumo por alimentos; son causantes de enfermedades peligrosas, como la salmonelosis en el caso de la *S. typhi* y el síndrome urémico hemolítico por *E. coli*; ambas con consecuencias graves y permanentes para el ser humano. Stoimenov y colaboradores han demostrado que las nanopartículas elementales oxidantes altamente reactivas, como oro, plata y cobre, muestran excelentes propiedades bactericidas contra las bacterias gram-negativas y gram-positivas (Stoimenov et al, 2002). Por lo tanto, la preparación, caracterización y funcionalidad de las partículas inorgánicas genera la posibilidad de nuevos materiales bactericidas. Los efectos antibacteriales de la plata o de las sales de plata son bien conocidos (Silver, 1996), sin embargo, los métodos de acción no son muy claros (Whitesides, 2003).

El dióxido de titanio o Titania ( $\text{TiO}_2$ ) es un material semiconductor ampliamente utilizado en la purificación de aguas y aire ya que posee actividad fotocatalítica y biocida que permite la degradación de contaminantes orgánicos perjudiciales y la eliminación de agentes patógenos como bacterias. Por todo esto, en conjunto con sus excelentes propiedades ópticas el  $\text{TiO}_2$  resulta un material de interés para ser aplicado en ambientes sanitarios, interiores de edificios, etc. (Chen, et al., 2012.)

Por su parte, las nanopartículas de Ce cubiertas con antibióticos han mostrado actividad contra *S. aureus*, *Micrococcus luteus*, *E. coli* y *P. aeruginosa* (Esmaeili F, 2010). Las nanopartículas de Ce coloidales expresan actividad contra *E. coli* y otras bacterias (Guerra et al., 2012; Lima et al., 2013).

La actividad antimicrobiana de soluciones de óxido de cerio se ha investigado muy poco, mientras que el efecto de la actividad antibacteriana del óxido de cerio no se ha reportado. No obstante, se espera que los cationes de plata ( $\text{Ag}^+$ ), sean atraídos electrostáticamente por las células y entonces se produzcan reacciones en la superficie celular. Sin embargo, en solución acuosa los iones ( $\text{Ag}^+$ ) pueden intercambiarse con otros iones del medio, disminuyendo así su disponibilidad para afectar a las bacterias. Así, las partículas metálicas  $\text{CeO}_2$ ,  $\text{TiO}_2$  y  $\text{Ag}$  son deseable y se espera sean igualmente letales para matar bacterias.

Con el fin de investigar los efectos de la morfología de las nanopartículas, se estudiarán las interacciones de los soportes con nanopartículas de plata ( $\text{Ag}/\text{Ti}_{1-x}\text{Ce}_x\text{O}_2$ ) de diferentes tamaños, desde 4 a 100 nm. Estos resultados indicaran el tamaño de las nanopartículas que influye en la estructura y función de los liposomas de las bacterias. Por lo tanto, se espera que la modificación del tamaño de las nanopartículas incidida en la actividad bactericida del soporte conjugado. Realizaremos este trabajo con el objetivo de estudiar la eficiencia de las nanopartículas de plata soportadas en óxidos de titanio dopado con óxido de cerio, y en conjunto a diferentes condiciones de tratamiento térmico como un sistema para evitar el desarrollo bacteriano.

## 2. ANTECEDENTES:

La contaminación microbiológica de las aguas de consumo humano impacta negativamente a la salud de la población. Los riesgos epidemiológicos, relacionados con el consumo de agua contaminada por microorganismos virulentos son causales de cólera, fiebres tifoideas o hepatitis vírica. Una contaminación microbiológica puede afectar a algunas personas o a comunidades enteras, dependiendo de la calidad o del tipo de microorganismo, su modo de transmisión, así como del perfil de las personas contaminadas. La contaminación microbiológica del agua ocurre por lo general a través de aguas residuales con heces de origen humano o animal (Anales de la real academia nacional de la medicina, 1975).

El riesgo de contraer una infección por microorganismos patógenos depende de su grado de invasión, de su dosis mínima infectante, así como del nivel inmunológico del organismo huésped. Algunas bacterias patógenas pueden incluso multiplicarse en los alimentos y las bebidas, lo que aumenta los riesgos de infección. Debido a estas condiciones, en el caso de los microorganismos patógenos no existe un límite inferior tolerable; por lo que el agua destinada al consumo (alimentos y bebidas) y a la higiene personal no debe contener ningún agente patógeno para los seres humanos (NMX-AA-42-SCFI-1987, 2000).

Debido a la gran variedad de enfermedades infecciosas causadas por diferentes tipos de bacterias patógenas, y el creciente fenómeno de resistencia a antibióticos, ha surgido durante los últimos años dentro de la comunidad científica el interés por encontrar nuevos compuestos antibacterianos que eviten el desarrollo de resistencia microbiana. En este contexto, las nanopartículas metálicas (NPs) han logrado establecerse como los agentes antimicrobianos más prometedores, exhibiendo un amplio espectro de actividad antibacteriana (Kolář M. et al, 2001; Rai M. et al, 2009; Panáček A. et al, 2006; Guerra R. et al, 2012).

La plata iónica interacciona electrostáticamente con la membrana de la célula, desalojando los iones de calcio y zinc por intercambio iónico. Sin embargo, los iones de plata interaccionan con los iones del medio externo a la célula,

disminuyendo la concentración de iones de plata para interactuar con la membrana de la célula. Entonces, la plata metálica parcialmente cargada ( $\text{Ag}^{\delta+}$ ), puede proponerse como bactericida. En este caso no se tendría el problema de disminución en la concentración por intercambio iónico con el medio externo a la célula. Además de la plata también existen otras partículas metálicas que pueden interactuar con la membrana de la célula, por ejemplo, cerio, que es también un metal noble que puede seguir el mismo mecanismo que las partículas de plata sobre todo las partículas a escala nanométrica, como ya ha sido demostrado en catálisis (Huang et al., 2007).

El óxido de titanio ( $\text{TiO}_2$ ) es de interés particular debido a sus características únicas, tales como ser un semiconductor, no tóxico a los organismos vivos, estabilidad en agua, así como sus características fotocatalíticas notables cuando el tamaño de las partículas se reduce al intervalo de nanómetros. La energía redox fuerte del  $\text{TiO}_2$  foto-excitado fue realizada con el descubrimiento del efecto de Honda-Fujishima en 1972, donde Fujishima et al., divulgó la descomposición foto-inducida del agua en los electrodos de  $\text{TiO}_2$ . El  $\text{TiO}_2$  actúa como un fotocatalizador bajo luz ultravioleta, pero esto sólo contribuye a aproximadamente 2-5% de la energía solar total, por lo que la actividad fotovoltaica o fotocatalítica de  $\text{TiO}_2$  es limitada. Otra limitación importante es la recombinación masiva del hueco-electrón fotogenerado del  $\text{TiO}_2$ , que limita la eficacia del fotocatalizador. En otros estudios, el  $\text{CeO}_2$  ha demostrado para ser un candidato prometedor debido a sus posiciones deseables del borde de la banda y se ha utilizado con éxito en una serie de procesos fotocatalíticos, tales como desintoxicación y producción del hidrógeno. El cambio redox entre  $\text{Ce}^{4+}$  y  $\text{Ce}^{3+}$  es un indicativo de su alta capacidad para que el sistema almacene o libere oxígeno en condiciones de oxidación o reducción de 12 – 15. Muchos estudios han reportado que los sistemas  $\text{Ce}_x\text{-Ti}_x\text{O}_2$  tienen propiedades mejoradas bajo irradiación solar UV. En particular, Zhang et al., encontraron que el dopaje del cerio podría prohibir la recombinación de los pares

de electrón-hueco fotogenerados.(Kasinathan, Kennedy, Elayaperumal, Henini, & Malik, 2016)

Yan et al. informaron la preparación del Titania dopado por Ce a través de un proceso de autoignición sol-gel que tuvo una fuerte absorción en la gama UV-VIS y un cambio de rojo en su banda de transición Gap. Se ha propuesto que la impurificación del fotocatalizador base con impurezas es la mejor manera de mejorar la utilización de la energía solar y de inhibir la recombinación de los pares fotogenerados de  $e^-h^+$ . Xiao et al., sintetizaron  $TiO_2$  impurificado con Ce en forma de nanofibras mesoporosas utilizando fibras de colágeno como bioplantilla y mostró en el  $Ce_{0.03}/TiO_2$  como nanofibras, degradó el RHB en un 99,59% en un tiempo de 80 min bajo luz visible, con mejores valores que los obtenidos empleando las nanofibras de  $TiO_2$  no impurificadas o el producto comercial Degussa P25. En este estudio mostraré una investigación detallada de nanocristales de  $TiO_2$  impurificados con cerio. Así mismo, se mostrarán sus características estructurales, cristalinidad, morfología; así como su desempeño fotocatalítico y de Gap de la banda .(Kasinathan et al., 2016)

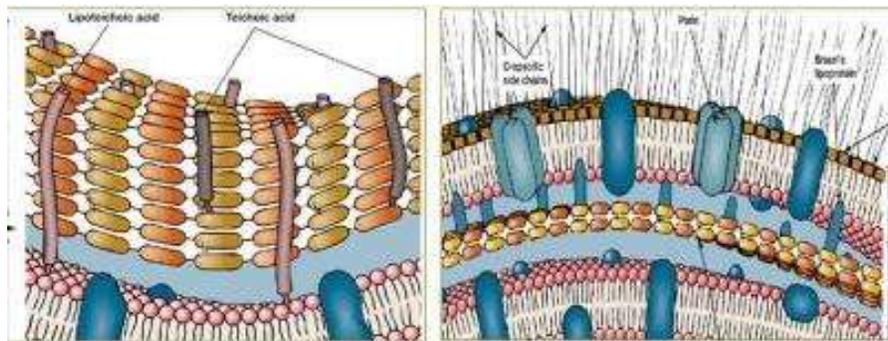
## **2.1 BACTERIAS GRAM POSITIVAS Y GRAM NEGATIVAS**

Las bacterias forman el grupo de microorganismos más importante y son indispensables para el ciclo de nutrimentos de un ecosistema. Las bacterias patógenas son las causantes de enfermedades. Son organismos microscópicos unicelulares, se les encuentra en el agua residual, el suelo y el aire, la leche, en plantas (frutas y vegetación), animales y humanos (piel y tracto intestinal). Se reproducen por fisión binaria y se caracterizan por su forma, tamaño, estructura y disposición celular. Las bacterias tienen una de tres formas: esférica (cocos), cilíndrica o con aspecto de bastón (bacilos) y espiral (espirilos). Las células bacterianas se pueden acomodar en grupos tales como pares, racimos y cadenas. (J.P. M. T. Madigan, et all, 2004).

La clasificación de las bacterias según los manuales de Bergey son cuatro categorías; eubacterias gram negativas, eubacterias gram positivas, micoplasmas y arqueobacterias.

Las bacterias Grampositivas, el peptidoglucano está inmerso en una matriz que representa el 20-60% de la pared celular, su matriz está compuesta por polímeros aniónicos: ácidos teicoicos, ácidos lipoteicoicos y ácidos teicurónicos que suministran cargas negativas, son receptores para bacteriófagos y tienen capacidades antigénicas, son el antígeno O somático.

Las bacterias Gramnegativas presentan una membrana externa y periplasma donde se sitúa el peptidoglucano, la membrana externa es una bicapa lipoproteica con proteínas integrales, altamente asimétricas: la lámina externa contiene 60% de proteínas y 40 % de lipopolisacárido (LPS) que es una molécula exclusiva de Gram negativas.



**Gram positivos**

**Gram negativos**

## **2.2 *Salmonella typhimurium***

*Salmonella* es un bacilo Gram negativo, miembro de la familia Enterobacteriaceae, no esporulado, es termolábil, puede ser destruida fácilmente con temperaturas de pasteurización (Leyva et al., 2008).

Las bacterias del genero *Salmonella* causan la mayor parte de los brotes que afectan a centenares de personas y, aunque puede ser causada por cualquiera de los 2,500 serotipos que existen hasta hoy, existe la susceptibilidad por especies, los que se aíslan con mayor frecuencia en México son *Salmonella enteritidis* y *Salmonella typhimurium* (Gutiérrez et al., 2000).

La salmonelosis se considera un problema de salud pública mundial. *Salmonella* entérica causa infección intestinal aguda en personas de todas las edades y puede ocasionar infecciones invasivas graves como bacteriemia y meningitis en lactantes, ancianos y pacientes inmunosuprimidos (Goldberg et al, 1988). La comunidad científica y las autoridades sanitarias asumen que, en general, los pollos, cerdos y bovinos son los reservorios más frecuentes de *Salmonella*; que la ingestión de alimento directa o indirectamente contaminado es la causa más común de las infecciones en el humano; y que todas las serovariedades tienen el mismo grado de patogenicidad (Sarwari et al, 2001).

En México no se cuenta con estadísticas nacionales de infecciones por *Salmonella*. Con frecuencia, el médico hace un diagnóstico basándose en el cuadro clínico del paciente, pero sin contar con los estudios microbiológicos necesarios para establecer un diagnóstico certero. La falta de un sistema de vigilancia con comunicación entre epidemiólogos, clínicos, y el sector veterinario, así como la falta de infraestructura necesaria, impide que países como el nuestro pueda identificar las principales serovariedades de *Salmonella* en las diferentes clases de alimentos, así como el riesgo que cada una de estas presenta a la salud de los seres humanos. Esta información es indispensable para establecer las intervenciones necesarias para disminuir la morbilidad y mortalidad por las infecciones causadas por *Salmonella*.

La Dra. Zaidi y colaboradores colectaron, entre 2003 y 2005, 2,893 muestras fecales de pacientes con diarrea, 5334 muestras de carne de pollo, puerco y res, y 1,882 muestras de intestinos de pollo, cerdo y bovino en rastros. Se aisló *Salmonella no-Typhi* en 12.8% de los pacientes con diarrea. Las dos serovariedades más frecuentes en estos últimos fueron *Typhimurium* (22.2%) y *Enteritidis* (14.5%).

En el 2002 se detectó la aparición de *S. typhimurium* resistente a diez antibióticos, tales como ampicilina, cloranfenicol, trimetoprim-sulfametoxazol, aminoglucósidos, ácido nalidíxico y cefalosporinas de espectro extendido, en el estado de Yucatán.

### **2.3 *Staphylococcus aureus***

Bacteria que se encuentra en la piel y fosas nasales de las personas sanas. Causa gran variedad de infecciones, desde pequeñas en la piel como los forúnculos, ampollas, vejigas y abscesos cutáneos; hasta enfermedades como neumonía, meningitis, endocarditis, síndrome del shock toxico (SST) y sepsis.

*Staphylococcus aureus* es una bacteria considerada como oportunista, debido a que ocasiona enfermedades al humano, principalmente cuando éste atraviesa lapsos de vulnerabilidad asociados a circunstancias anómalas que disminuyen la competencia de su sistema inmunológico. Bajo tales condiciones, el microorganismo es capaz de provocar afecciones en casi cualquier región anatómica, lo cual refleja su amplio bagaje en cuanto a genes de virulencia que lo habilitan para establecerse, reproducirse, sobrevivir y diseminarse en diversas clases de tejidos (Massey, 2006).

Coco inmóvil, de 0.8 a 1 micrómetro de diámetro, que se divide en tres planos para formar racimos de uvas, responde positivamente a la tinción de Gram, es aerobio y anaerobio facultativo por lo que puede crecer tanto en una atmósfera con o sin oxígeno, no presenta movilidad ni forma cápsula. Es capaz de crecer hasta con un 10 % de sal común. Por esto puede crecer en el agua del mar.

Ciertamente, *S. aureus* es una causa común de piodermitis, intoxicaciones alimentarias y toda una gran variedad de afecciones entre la población general; no obstante, el “blanco” preferido de esta especie se ubica predominantemente dentro de los hospitales, en donde entra en contacto con numerosos pacientes debilitados, ya sea debido a que éstos padecen de enfermedades graves, traumatismos o quemaduras serios u otras lesiones, incluyendo las provocadas por alguna cirugía, o bien, porque han sido sometidos a tratamientos que abaten la inmunidad celular o a la implantación inadecuada de dispositivos médicos, tales como prótesis, catéteres u otros materiales plásticos (Harbarth, 2008; Hugonnet, 2004; Raad, 2007).

## 2.4 INTERACCIÓN BACTERIA-METAL.

La plata y otros metales pueden llegar a ser muy efectivos en la inhibición del crecimiento bacteriano y son preferibles a otros agentes antibacterianos, ya que no representan un riesgo alto ni cambian las características físicas del agua, minimizando la formación de subproductos durante el proceso de desinfección (Tortora G., 2007).

Para llevar a cabo sus funciones metabólicas, los microorganismos requieren de la presencia de algunos iones inorgánicos esenciales, como los iones de los metales calcio, magnesio, sodio, potasio y manganeso. Algunos metales presentes en el ambiente son intrínsecamente tóxicos y carecen de actividad biológica (como los metales pesados: plomo, mercurio, cadmio, cobre, plata, etc.), o bien son esenciales pero presentan toxicidad cuando se encuentran en concentraciones relativamente elevadas, es el caso de cobre, zinc, cobalto, níquel, etc. aunque los mecanismos de toxicidad de los metales son diversos, los sistemas más comunes involucran una interferencia con el transporte y la función de los iones fisiológicos esenciales, o la integración como las macromoléculas celulares tales como las enzimas y los ácidos nucleicos.

Los principales mecanismos mediante los cuales las bacterias interactúan con los metales tóxicos son (Cervantes C., 1992): a) la precipitación extracelular de los iones tóxicos por sustancia excretadas por las bacterias; b) la unión de los cationes metálicos con las cubiertas celulares, por lo general con las cargas negativas de los constituyentes de la pared celular; c) la acumulación intracelular mediante la unión de los metales a componentes citoplásmicos; d) las reacciones redox que convierten a algunos iones en especies químicas menos tóxicas; y, e) los sistemas de expulsión de la membrana que impiden la acumulación de los iones nocivos.

Varios metales pesados, como la plata, el mercurio y el cobre, son germicidas o antisépticos. Cantidades muy pequeñas de metales pesados, en especial de plata y cobre, son capaces de ejercer actividad antimicrobiana, lo que se conoce como acción oligodinámica. Este efecto se produce por la acción de los iones de los

metales pesados sobre los microorganismos. Cuando estos iones interactúan con los grupos sulfhidrilo existentes en las proteínas, así como en el ADN, se produce su desnaturalización por la inhibición de los procesos respiratorios (Tortora G., 2007).

## **2.5 LA PLATA Y SU ACCIÓN BACTERICIDA.**

La plata ha sido empleada durante miles de años como metal precioso por el ser humano en aplicaciones tan dispares como joyería, utensilios, moneda, fotografía o explosivos. De todos estos usos, uno de los más importantes es su empleo como agente desinfectante con fines higiénicos y médicos.

Así, ya desde la antigüedad se empleaban vasijas de plata para almacenar agua o vino ya que se consideraba que preservaba sus condiciones. También Hipócrates, padre de la medicina moderna, describió el empleo de polvo de plata para su aplicación en la curación de heridas y en el tratamiento de úlceras. En los siglos XVII y XVIII se empleó nitrato de plata para el tratamiento de úlceras y su actividad antimicrobiana se estableció en el siglo XIX. Sin embargo, después de la introducción de los antibióticos en 1940 el uso de las sales de plata disminuyó.

Posteriormente se han empleado sales y compuestos de plata en diferentes campos biomédicos, especialmente en el tratamiento de quemaduras. (H. J. Klasen, Burns, 2000).

Aunque el mecanismo de la actividad antimicrobiana de la plata no se conoce del todo, se ha propuesto que en disolución acuosa interfiere en el transporte electrónico, en la unión al ADN cromosómico, e interactúa con la membrana celular y con el grupo tiol de ciertas enzimas, inhibiéndolas (Thurman R., 1989). Se asume que la plata tiene efecto bactericida por los cambios morfológicos y estructurales observados en la bacteria después de exponerse a sus compuestos.

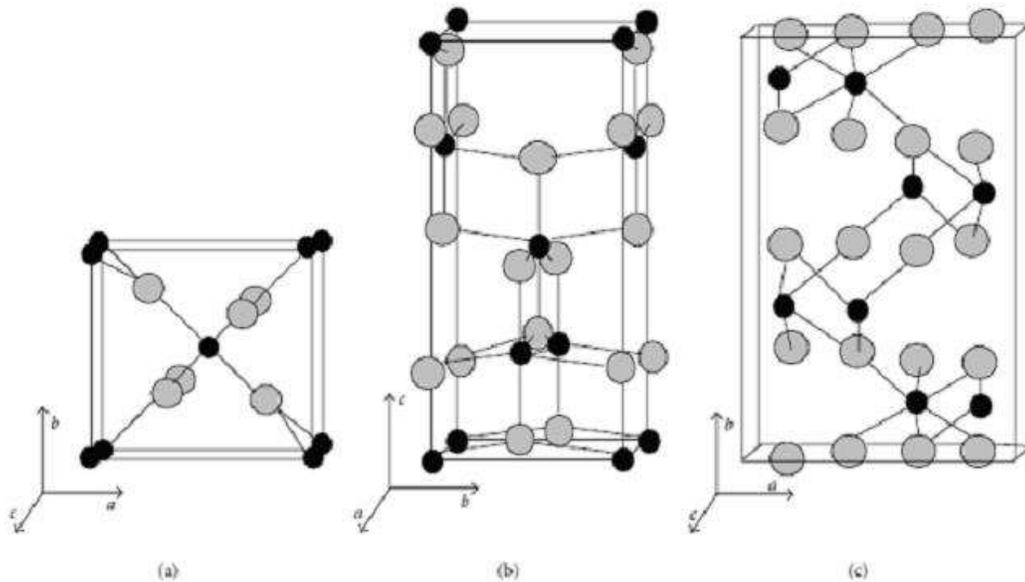
La plata reacciona con los grupos azufrados de las membranas de las enzimas, provocando que la membrana pierda permeabilidad; la bacteria no es capaz, entonces, de efectuar procesos de respiración y muere (Feng Q., 2000).

### 3. MARCO TEÓRICO

#### 3.1 DIÓXIDO DE TITANIO

El dióxido de titanio,  $\text{TiO}_2$ , es un semiconductor tipo n sensible a la luz que absorbe radiación electromagnética en la región del UV, es anfótero y muy estable químicamente. Por las características mencionadas es el fotocatalizador más empleado y actualmente se utiliza para degradar moléculas orgánicas durante la purificación del agua. El  $\text{TiO}_2$  presenta cuatro fases cristalinas: rutilo (estructura tetragonal), anatasa (estructura octaédrica), brookita (estructura ortorrómbica) y una de alta presión del tipo  $\alpha\text{-PbO}_2$ . (Ochoa et al, 2009)

La fotocatálisis heterogénea, específicamente con  $\text{TiO}_2$ , ha atraído mucha atención por sus múltiples aplicaciones ambientales, ya que el  $\text{TiO}_2$  tiene alta estabilidad química y no es tóxico; además la fotocatálisis heterogénea no es selectiva y puede tratar mezclas complejas de contaminantes.



Estructuras cristalinas del  $\text{TiO}_2$  a) Rutilo, b) Anatasa y c) Brookita (Jin-Chung, Sze-Mun., 2012)

La seria desventaja de la fotocatálisis heterogénea con  $\text{TiO}_2$  es que puede ser usado como fotocatalizador sólo con radiación UV ( $\lambda < 387 \text{ nm}$ ).

### 3.2 ÓXIDO DE CERIO

Las nanopartículas de óxido de cerio son un novedoso material con aplicaciones muy prometedoras en campos actualmente tan críticos como la remediación medioambiental, purificación de aguas, energías renovables y medicina. La multitud de aplicaciones del óxido de cerio, que ya están siendo exploradas, tanto en campos tecnológicos como biomédicos y medioambientales se debe a su peculiar capacidad de almacenar o liberar oxígeno en función de los requerimientos de oxígeno del lugar donde se encuentra. A su vez, esta capacidad depende del tamaño de las partículas de óxido de cerio, llegando a ser máxima cuando su tamaño se reduce a unos pocos nanómetros de diámetro. (Casals,2013)

El óxido de cerio es uno de los principales representantes de los compuestos formados por las tierras raras, materiales actualmente imprescindibles para la fabricación de productos tales como los actuales teléfonos inteligentes (smartphones), lentes ópticas para todo tipo de cámaras de video y fotográficas y dispositivos relacionados con las energías renovables entre muchos otros.

Las nanopartículas de  $\text{CeO}_2$  poseen propiedades fisicoquímicas poco comunes que les confieren capacidades para abarcar un amplio campo de aplicaciones. Algunas de sus características más importantes incluyen: capacidad para asociarse en forma no estequiométrica con el oxígeno y la fácil obtención de nanocristales de tamaño y morfología homogéneos por medio de diferentes métodos de preparación.

El óxido de cerio tiene numerosas aplicaciones, utilizándose comúnmente para fabricar conductores iónicos, condensadores, semiconductores y cátodos. Los cristales de  $\text{CeO}_2$  se utilizan para pulir instrumentos ópticos de alta precisión. Además, puesto que el  $\text{CeO}_2$  absorbe luz ultravioleta (UV), se emplea en lentes para soldar y en materiales que requieren estabilización ante los efectos de la luz UV. También se utiliza en la fabricación de sensores de gases como el  $\text{NO}_2$  y  $\text{CO}$  en el caso de los óxidos mixtos de Ce-Ru.

Existen muchos procesos donde el  $\text{CeO}_2$  se usa como catalizador o soporte activo y esponja de oxígeno (oxygen buffer) de metales nobles en catálisis.

### **3.3 SÍNTESIS SOL-GEL**

El método más comúnmente utilizado es el sol-gel, es el más exitoso en la síntesis de nanopartículas de  $\text{TiO}_2$  porque permite controlar el tamaño de partícula por simples variaciones en las condiciones experimentales, como la velocidad de hidrólisis y los precursores. El método sol-gel consiste, de manera general, en la preparación de un sol, gelación del sol y remoción del solvente. (Burda, C; Qiu, X. 2007).

### **3.4 MICROONDAS**

La utilización de radiación microondas para la síntesis de sólidos inorgánicos presenta grandes beneficios: ahorro energético, tiempos cortos de procesamiento, mayor rendimiento, procedimiento económico y amigable con el medio ambiente (H.M Kingston et al., 1997). En un proceso de síntesis por microondas existe un perfil inverso de temperatura comparado con los métodos convencionales: el calentamiento ocurre por conversión en lugar de por transferencia de energía.

El fotón de microondas corresponde en promedio a 2.45 GHz, energía cercana a 0.0016 eV. Las microondas son ondas electromagnéticas compuestas de un campo eléctrico y otro magnético. Para propósitos relacionados con el calentamiento con microondas, el componente eléctrico es el importante y para el caso de los materiales magnéticos las interacciones del campo magnético también tienen relevancia (Adán, D. 2008).

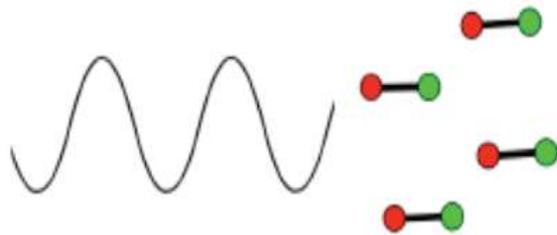
Existen dos efectos principales de la irradiación con microondas:

Efectos térmicos resultado de la polarización dipolar y conducción iónica.

Efectos electrostáticos polares que llevan a interacciones dipolo-dipolo entre las moléculas dipolares y las cargas del campo eléctrico. Este fenómeno es el origen de efectos no térmicos específicos de microondas.

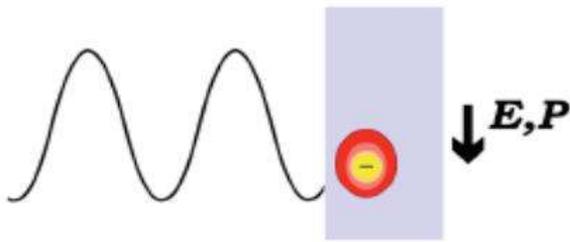
Los componentes eléctricos provocan calentamiento por dos mecanismos: polarización dipolar y conducción iónica.

La interacción del campo eléctrico con moléculas polares es llamada mecanismo de polarización dipolar. Cuando son expuestas a frecuencias de microondas, los dipolos moleculares se alinean con respecto al campo eléctrico aplicado. A medida que el campo eléctrico oscila, el campo dipolar intenta seguir estas oscilaciones y hay pérdida de energía en forma de calor a través de la fricción molecular. La cantidad de calor generado por este proceso es directamente proporcional con la habilidad de la molécula de alinearse con la frecuencia del campo aplicado. Si el dipolo no tiene suficiente tiempo para realinear o la reorientación es demasiado lenta no ocurre calentamiento.



#### Interacción dipolar

El segundo mecanismo de generación de calor es la conducción iónica, en la cual los iones oscilan de abajo a arriba por la influencia del componente eléctrico de la irradiación de microondas. Estos colisionan con moléculas y átomos vecinos causando agitación o movimiento, creando calor. El principio de conductividad es un efecto más fuerte que el mecanismo de rotación dipolar con respecto a la capacidad generadora de calor. Es por esto que un medio que contiene iones es calentado más eficientemente por microondas que solamente usando solventes polares (Adán, D. 2008).



## Conducción Iónica

Existen tres fenómenos que mejoran los procesos asistidos por microondas con respecto a los fenómenos térmicos convencionales.

Efectos térmicos: en la mayoría de los casos la razón de la mejora en de los procesos químicos es meramente un efecto térmico. Esto significa que la alta temperatura de reacción adquirida rápidamente bajo irradiación de microondas de materiales polares provoca un incremento en la constante de reacción.

Efectos térmicos específicos de microondas: Además de los efectos térmicos, hay efectos de microondas que son causados por la naturaleza única del calentamiento dieléctrico por microondas. Estos efectos deben ser definidos como aceleraciones de transformaciones químicas en microondas que no se puede lograr o duplicar por calentamiento convencional.

Efecto de supercalentamiento del solvente. El calentamiento mediante microondas de líquidos hace que su punto de ebullición esté por arriba que su punto de ebullición a presión atmosférica. Este efecto es debido a que la energía irradiada se disipa por todo el volumen del solvente y no existe una interface líquido-gas para que se libere la energía mediante la ebullición del líquido.

Efecto de pared: mediante calentamiento por microondas la superficie de la pared del reactor generalmente no se calienta debido a que la energía es disipada en todo el volumen de la mezcla de reacción.

Sin embargo, la temperatura en el interior de la pared del reactor es menor que la del líquido.

Calentamiento volumétrico: otro fenómeno característico del calentamiento por microondas es el rápido y prácticamente sin gradientes de temperatura calentamiento por toda la mezcla de reacción.

Calentamiento selectivo heterogéneo: si una muestra contiene más de un componente, solo aquella que acopla con las microondas es calentada selectivamente.

Efectos no térmicos específicos de microondas: resultado de la interacción del campo eléctrico con moléculas específicas en el medio de reacción y el efecto electrostático polar.

Incremento en el factor  $A$  de la ecuación de Arrhenius: la ecuación de Arrhenius:

$$k = A e^{\left(\frac{-E_a}{RT}\right)} \quad [\text{ecuación 2}]$$

*Dónde:*

*$K$  = constante cinética de reacción.*

*$A$  = factor pre exponencial o de frecuencia.*

*$E_a$  = energía de activación.*

*$R$  = constante universal de los gases.*

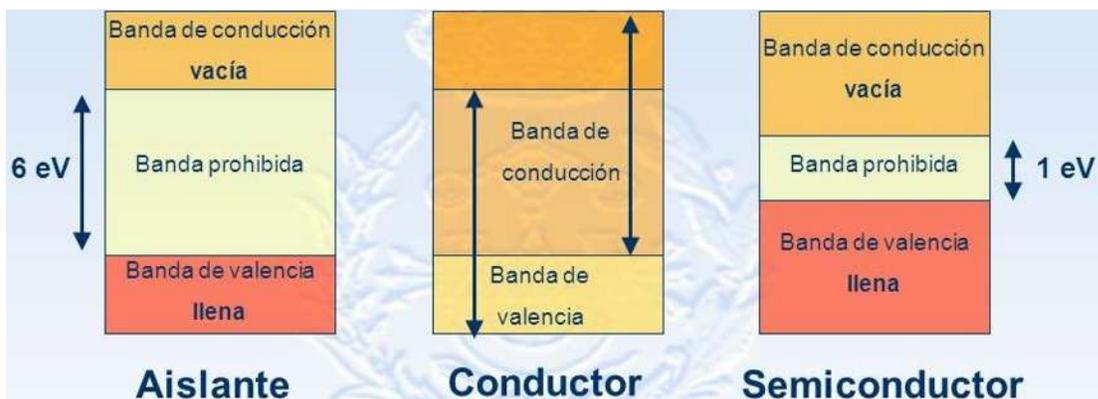
*$T$  = temperatura absoluta.*

El factor  $A$  pre-exponencial que representa la probabilidad de un impacto molecular. El número de eventos de colisiones puede verse afectado por la orientación de las moléculas polares involucradas en la reacción. Dado que este factor depende frecuencia de las vibraciones de los átomos en la interface de reacción se puede afirmar que el campo de microondas influye en este.

### 3.5 IMPURIFICACIÓN

La impurificación consiste en la adición intencional de impurezas en el semiconductor, para aumentar la cantidad de portadores libres y por lo tanto incrementar la conductividad eléctrica. Se realiza con átomos trivalentes o pentavalentes, provocando un aumento o defecto que incrementará el nivel de portadores.

A temperatura ambiente, algunos enlaces covalentes son incompletos. Los electrones que faltan ya no están confinados en la región de enlace, sino que pueden moverse libremente, es decir, algún electrón tiene la suficiente energía para escapar de la banda de valencia y pasar a la de conducción. En los semiconductores se tienen cantidades de huecos y electrones de conducción presentes en cantidades iguales. Cada uno de dichos portadores de carga es el resultado de la rotura de un enlace covalente.

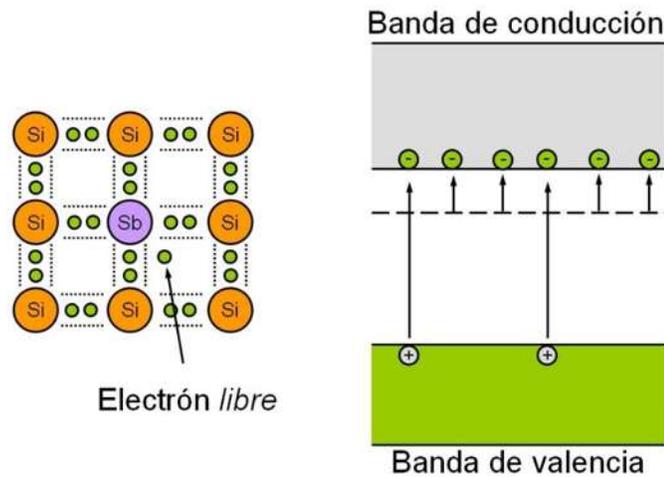


Los pocos enlaces rotos se deben a la vibración térmica de los electrones de valencia. La fracción del número total de electrones de valencia que se desprenden de los enlaces covalentes es pequeña, por lo que se considera un material semiconductor. Como consecuencia de los enlaces covalentes rotos, existen los portadores de carga: los electrones y los huecos.

### 3.6 SEMICONDUCTORES TIPO 'n'

Impurezas donantes: son elementos que tiene 5 electrones de valencia

#### Semiconductor tipo n

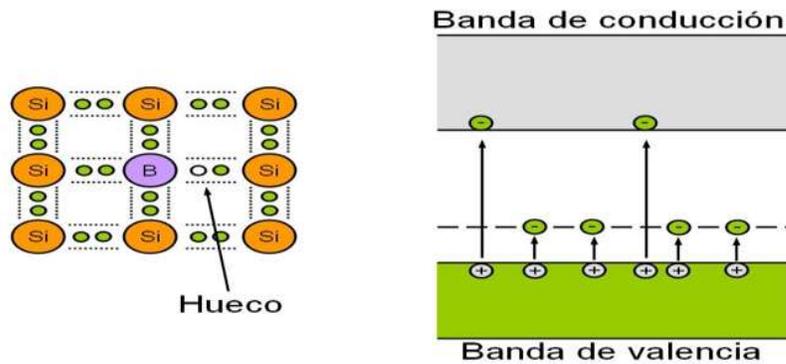


En este tipo de impurificación el elemento impurificante tiene un electrón de valencia más que el elemento matriz del semiconductor. El electrón sobrante, debido a que no tiene que completar algún enlace, queda débilmente unido al átomo de impureza, este puede dissociarse del átomo de impureza y se mueve por el semiconductor como un electrón de conducción más. Las impurezas donantes dan lugar a un electrón de conducción sin aportar huecos; cada átomo donante aumenta en uno la población de electrones libres. Como contienen una cantidad importante de átomos donantes el material se denomina tipo 'n' (carga negativa).

### 3.7 SEMICONDUCTORES TIPO 'p'

Impurezas aceptores: son elementos que tienen 3 electrones de valencia.

#### Semiconductor tipo p



Estos átomos encajan en la estructura cristalina periódica del semiconductor anfitrión, así pues, habrá una vacante, o sea un hueco asociado a cada átomo aceptor. Este hueco está débilmente unido al átomo aceptor y se mueve libremente por el semiconductor. Las impurezas aceptoras aportan huecos al semiconductor sin aportar electrones. Cada átomo aceptor aumenta en uno la población de huecos. Como tiene una cantidad importante de aceptores, el material se llama de tipo 'p' (carga positiva).

#### 4. JUSTIFICACIÓN

Las investigaciones dirigidas a la búsqueda de otras alternativas para el tratamiento de las infecciones causadas por bacterias y virus resistentes se incrementan cada día. Dentro de la gama de compuestos cuya actividad bactericida se está investigando, las nanopartículas de plata surgen como un prometedor agente antibacteriano que podría ser utilizado para enfrentarnos a esta y otras bacterias resistentes a los antibióticos.

En diversos estudios se han observado las propiedades antimicrobianas de las nanopartículas de plata tanto en virus como en bacterias. Las nanopartículas de plata son uno de los métodos más eficientes para la inhibición de bacterias y al soportarse en un material de características mesoporosas permite la recuperación del material sin la necesidad de perderlo evitando gastos innecesarios y costosos.

#### 5. HIPÓTESIS

Será posible inhibir, mediante sistemas conformados por nanopartículas de plata soportadas por distintos métodos en materiales de  $Ti_{1-x}Ce_xO_2$  a las bacterias gram-negativa *Salmonella typhimurium* y gram-positiva *Staphylococcus aureus*. Se busca que los materiales nanoestructurados, descritos como  $Ag/Ti_{1-x}Ce_xO_2$ , promuevan eficientemente la inhibición de las bacterias en un 99%, permitiendo además que sea posible recuperar estos materiales después de su uso.

## 6.OBJETIVO GENERAL

Inhibir eficientemente a las bacterias *Salmonella typhimurium* y *Staphylococcus aureus* empleando materiales mesoporosos de  $\text{Ag/Ti}_{1-x}\text{Ce}_x\text{O}_2$ .

### 6.1OBJETIVOS PARTICULARES

- Evaluar la síntesis de compuestos mesoporosos de  $\text{Ag/Ti}_{1-x}\text{Ce}_x\text{O}_2$  con concentraciones atómicas de cerio de 2 y 4% que sean capaces de eliminar a las bacterias *Salmonella typhimurium* y *Staphylococcus aureus*.
  
- Evaluar dos métodos de depósito de las nanopartículas de plata sobre los materiales nanoestructurados.
  
- Determinar el efecto de la forma y tamaño de las nanopartículas de plata como agente bactericida.
  
- Estudiar el efecto bactericida de los compuestos  $\text{Ag/Ti}_{1-x}\text{Ce}_x\text{O}_2$  en presencia de energía del espectro visible.
  
- Llevar a cabo una caracterización de los sistemas para determinar sus propiedades morfológicas y estructurales y relacionar estas con sus propiedades bactericidas.

## 7. DESARROLLO EXPERIMENTAL

### 7.1 SÍNTESIS DE COMPUESTOS $Ti_{1-x}Ce_xO_2$

La síntesis de las nanoestructuras de  $TiO_2$  dopado con cerio ( $Ti_{1-x}Ce_xO_2$ ) por el método sol-gel a tres diferentes porcentajes molares (2% y 4% de cerio) se realizó de la siguiente manera; las sales precursoras:

- Propóxido de titanio. (Aldrich, 98%,  $Ti(OC_3H_7)_4$ , PM =284.22 g/gmol)
- Acetato de cerio. (Aldrich, 99%,  $Ce(C_2H_3O_2)1.5 H_2O$  PM =344.27 g/gmol)

Se mezcló propóxido de titanio en agua destilada, de igual manera el acetato de cerio se disolvió en agua destilada, ambas mezclas se mantuvieron en agitación constante por 1 h para favorecer las reacciones de hidrólisis. Ambas soluciones se mezclaron gota a gota con agitación, se agregó etilenglicol como agente gelificante. La solución resultante se llevó a reactor de microondas. Este reactor, marca Anton Paar modelo Synthos 3000; bajo siguientes condiciones:

7 minutos de rampa de calentamiento hasta 150 °C.

20 minutos a 150°C (temperatura de reacción).

15 minutos de rampa de enfriamiento.

La presión en el reactor fue de 18 atm y la potencia de 600 W. El material resultante se llevó a secar en estufa a 120 °C por 24 h para posteriormente calcinarse a 350°C por 4 h. Los polvos obtenidos se molieron y tamizaron para obtener un tamaño homogéneo para su caracterización.

### 7.2 MÉTODO DE IMPREGNACIÓN HÚMEDA INCIPIENTE

Para la deposición de plata en  $Ti_{1-x}Ce_xO_2$  se realizará por el método de impregnación húmeda incipiente, para la cual se realizó una solución con nitrato de plata ( $AgNO_3$ ) en agua, con agitación constante hasta disolución a una temperatura de 70°C. Colocar en baño maría a una temperatura de 70°C el polvo de  $Ti_{1-x}Ce_xO_2$  e ir impregnando gota a gota con solución de nitrato de plata durante 2 horas; agitando y no dejando secar la muestra. Secar polvo de  $Ag/Ti_{1-x}Ce_xO_2$

durante 2 horas a una temperatura de 200°C; macerar polvo. Se redujo el polvo de Ag/Ti<sub>1-x</sub>Ce<sub>x</sub>O<sub>2</sub> con gas hidrogeno durante 3 horas a una temperatura de 400°C.

### **7.3 REDUCCIÓN DE ALTA DISPERSIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE Ag**

Para la reducción y dispersión de las nanopartículas de plata se realizará una dilución en agua destilada de ácido ascórbico como agente reductor, junto con la sal de nitrato de plata, mientras que en otra solución será disueltas las muestras impurificadas del Ti<sub>x</sub>Ce<sub>x</sub>O<sub>2</sub> (2 y 4%) junto con polivinilpirrolidona (PVP) como agente dispersante y disminuir el tamaño de las nanopartículas, esto en agitación constante durante una hora a 85°C, pasada la hora se mezclaran ambas soluciones durante 5h a la misma temperatura, posteriormente se filtrara la mezcla y se lavara con agua destilada y alcohol isopropílico, recuperar el material y llevar a secar a una temperatura de 60°C.

### **7.4 CARACTERIZACIÓN**

A continuación, se presentan las técnicas empleadas en la caracterización de los materiales obtenidos.

### **7.5 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (MEB).**

Las espectroscopias electrónicas (MEB, MET, etc.) se basan en el análisis de la distribución de energía de los electrones emitidos desde la superficie de un sólido, presentando energías características propias que dependen de los tipos de átomos que hay en la superficie y de las interacciones electrónicas que existen entre ellos.

La microscopía electrónica es una técnica que permite obtener información local de la muestra objeto de estudio. En un microscopio electrónico de barrido, el haz pasa a través de las lentes condensadoras y objetivos, y es barrido a lo largo de la muestra por las bobinas de barrido, mientras que un detector cuenta el número de electrones secundarios de baja energía emitidos por cada punto de la superficie dando morfología y topografía a la superficie de estudio. Para el análisis se usó un microscopio electrónico de barrido modelo JSM-6400 JEOL Noran Instruments a 15keV y 10<sup>-6</sup> mmHg.



Antes de introducir la muestra a analizar se realizó un recubrimiento metálico con cobre para que haya conductividad eléctrica. Una vez metalizadas, las muestras se adhirieron con cinta de carbono en un porta muestras para finalmente ser introducidas en el microscopio.

### **7.6 DIFRACCIÓN DE RAYOS X (DRX)**

El método de difracción de rayos-X de polvo cristalino es capaz de suministrar información cualitativa y cuantitativa sobre la composición de las fases cristalinas presentes en una muestra sólida. Las estructuras cristalinas poseen planos, producidos por ordenamientos repetitivos de átomos, que son capaces de difractar rayos-X. El fundamento de esta técnica se debe a la ley de William Bragg para interferencias constructivas. Bragg desarrolló una explicación de lo que sucedía cuando un haz monocromático de rayos-X llegaba a un cristal. Cuando un haz de rayos-X incide con un ángulo  $\theta$  en una estructura ordenada la ley establece que para que las ondas reflejadas estén en concordancia de fase, y por tanto den lugar a una interferencia constructiva (difracción), es necesario que la diferencia de camino recorrido de las dos reflexiones sea múltiplo entero de la longitud de onda del haz incidente. Estas observaciones se traducen matemáticamente en la ecuación:

$$2d \sin \theta = n \lambda$$

Donde  $d$  es la distancia interplanar,  $n$  un número entero que representa el orden de difracción y  $\lambda$  la longitud de onda de la fuente de rayos-X.

Los sólidos que poseen suficiente orden periódico son cristalinos y por tanto dan lugar a patrones de difracción bien definidos. Las distancias entre los diferentes planos que definen la red cristalina determinan el valor del ángulo de Bragg, cuya posición se considera como “huella única” del sólido ordenado. De este modo, los patrones de difracción suministran información inequívoca de la estructura cristalina. La posición angular de los máximos de difracción se relaciona con los parámetros de la celda unidad mientras que las intensidades reflejan la simetría de la red y la densidad electrónica dentro de la celda unidad.

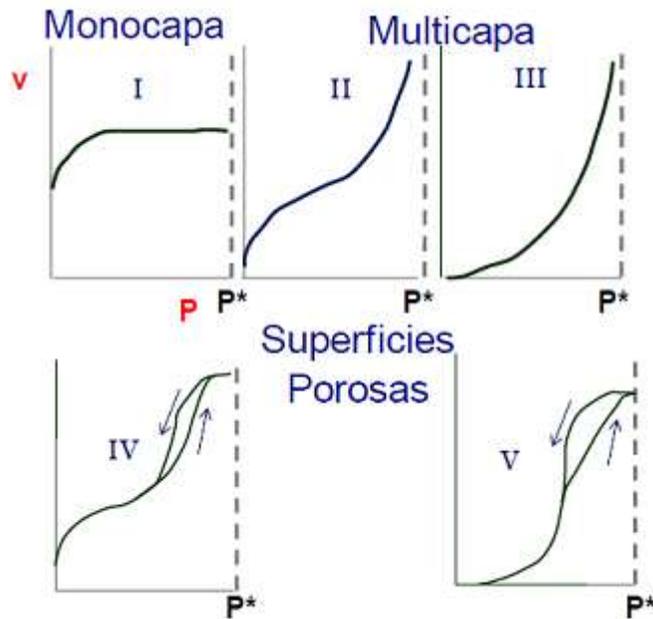
Esta caracterización se hizo en un equipo de difracción de rayos-X marca SIEMENS modelo D-500 usando radiación  $\text{CuK}\alpha$  ( $\lambda = 1.54 \text{ nm}$ )



Para llevar a cabo cada análisis, se molieron los polvos de los catalizadores a un tamaño inferior a 200 mallas ( $74 \mu\text{m}$ ); se colocaron en el porta muestras y se introdujeron en el aparato. Las condiciones de operación fueron con un tamaño de paso de  $0.6 \theta^\circ$  en un intervalo de análisis de  $10\text{-}80^\circ$ . A un voltaje de 40 KeV y una corriente de 30 mA.

## 7.7 ÁREA SUPERFICIAL ESPECIFICA (BET)

La medición del área superficial específica se basa en la adsorción física de un gas en la superficie de un sólido. Se determina la cantidad de nitrógeno adsorbido en equilibrio en su punto de ebullición (-196 °C) a presiones menores a la presión de vapor. El material pesado en un portamuestra, se introduce en un recipiente con una cantidad conocida del gas hasta alcanzar el equilibrio, obteniendo la cantidad de gas adsorbido. Repitiendo el experimento a distintas presiones se obtienen datos de cantidad de gas adsorbido frente a la presión en equilibrio a una temperatura dada. Estos datos de la cantidad de gas adsorbido frente a la presión de gas que queda en equilibrio tomados a una misma temperatura constituyen la isoterma de adsorción. En las isotermas de adsorción se representa la presión del gas en equilibrio en el eje x, mientras en el eje y se representa la cantidad adsorbida. Las isotermas se detienen cuando se llega a la presión de vapor ( $P_0$ ); a esta presión, cualquier pequeño aumento en la cantidad de gas produciría su condensación. La condensación capilar es la fase final del proceso de adsorción de un vapor en un sólido poroso y permite determinar la distribución de tamaños de poro en sólidos mesoporosos. Esto es posible gracias al efecto que produce la curvatura de la interfase sobre la presión de condensación del vapor. Las isotermas experimentales pueden clasificarse en 5 tipos de acuerdo a S. Brunauer:



Tipos de isothermas de adsorción

Tipo I: Denominado isoterma de Langmuir, corresponde a la adsorción de una monocapa. La cantidad adsorbida aumenta con la presión hasta alcanzar un valor límite correspondiente al recubrimiento de la superficie por una monocapa. Es la isoterma característica de un proceso únicamente de quimisorción.

Tipo II: Es indicativo de una adsorción física de multicapas. El rápido ascenso inicial corresponde a la formación de la primera capa, que tiene en este caso una constante de formación mayor que para el resto de capas. Al seguir aumentando la presión se forma la segunda capa de moléculas adsorbidas, seguida de otras más.

Tipo III: Corresponde también a una adsorción física en multicapas, pero donde la constante de equilibrio de formación de la primera capa es igual que para las siguientes (no se observa diferencia entre el llenado de la primera capa y del resto).

Tipos IV y V: Corresponde a adsorción en multicapas sobre materiales porosos. Difieren del Tipo II y III por la presencia de una rama horizontal (saturación) y un ciclo de histéresis (las curvas de adsorción y desorción difieren). El ciclo de histéresis es debido a la condensación por la forma irregular de los capilares, la

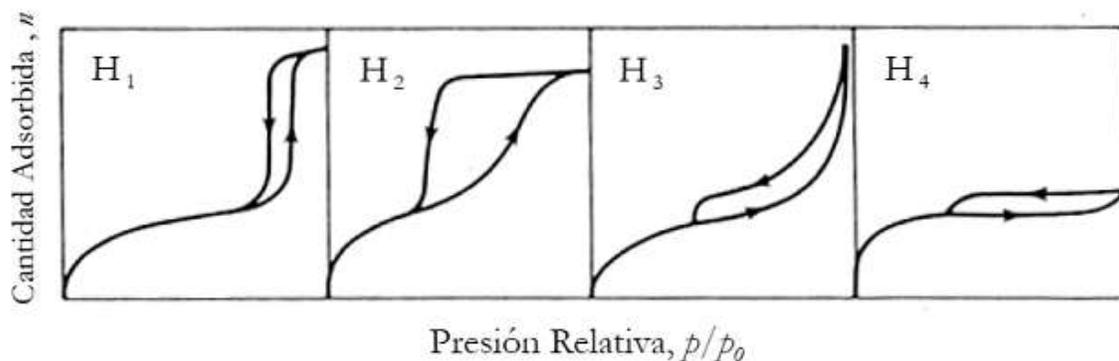
condensación capilar se expresa de forma cuantitativa a través de la ecuación de Kelvin (ecuación 5). Su correcta aplicación nos permite obtener información sobre la estructura del sólido poroso que no podemos obtener de otra manera.

$$\left(\frac{P}{P_0}\right) = e^{-\frac{2\gamma V/RT}{r}}$$

Dónde:  $P_0$  = presión de saturación del gas,  $P$  = presión del gas,  $\gamma$  = tensión superficial,  $r$  = radio de interfase esférica,  $V$  = volumen molar del líquido,  $R$  = constante de gases ideales,  $T$  = temperatura.

Según la geometría del poro puede ocurrir que la condensación capilar se produzca a una presión diferente a la que se produce la evaporación en el poro, ocasionándose un ciclo de histéresis en la isoterma de adsorción. El uso de la ecuación de Kelvin para la determinación de la distribución del tamaño de poro está vinculado con el lazo de histéresis lo cual se debe principalmente a la geometría del poro.

Numerosos sólidos porosos están formados por aglomerados de partículas esféricas de igual radio en una configuración cúbica regular. Un sólido poroso real está compuesto por una colección interconectada de poros de diferentes formas y tamaños, de modo que ninguno de los ciclos de histéresis ideales se presenta en la práctica. Sin embargo, la mayoría de las isotermas de materiales mesoporosos con ciclos de histéresis pueden ser agrupadas según la clasificación de la IUPAC en  $H_1$ ,  $H_2$ ,  $H_3$  y  $H_4$ .



La H1 presenta un ciclo angosto, con sus ramas de adsorción y desorción paralelas entre sí. En contraste, la tipo H2 se caracteriza por un ciclo de histéresis ancho, lo que se traduce en una meseta pronunciada. La tipo H3 y H4 no presentan meseta a presiones altas; por lo que, a veces, es difícil determinar la rama de desorción. Cada una de estas isotermas está asociada con una, o varias, estructuras porosas, por ejemplo, la isoterma H1 es obtenida de adsorbentes que tienen distribuciones de poros muy angostas, como por ejemplo los materiales MCM-41 (poros cilíndricos abiertos y cerrados) o aglomerados de partículas esféricas de tamaños y distribuciones aproximadamente uniformes. La mayoría de los óxidos inorgánicos producen la tipo H2, que, por cierto, es la más común. Los lazos tipo H3 y H4 se obtienen al trabajar con aglomerados de poros de placa paralelas, como lo son las arcillas pilareadas. La tipo H4 también es característica de los carbones activados, pero en este caso la distribución de tamaños de poros está en el rango de los microporos.

## **7.8 ESPECTROSCOPIA UV-Vis DE REFLECTANCIA DIFUSA**

La espectroscopia UV-Vis se fundamenta en la absorción electrónica de la radiación electromagnética cuando esta interacciona con la materia en el entorno de longitudes de onda entre 200 nm y 1000 nm. La medida de la reflectancia difusa se define como la fracción de radiación incidente que es reflejada en todas direcciones por la muestra. Para ello, se emplea un dispositivo llamado esfera de integración, la cual consistente en una esfera hueca recubierta en su interior de un material altamente reflectante, que envía la luz reflejada por la muestra al detector. El espectro resultante se obtiene generalmente como un porcentaje de reflectancia frente a la longitud de onda, fijando como 100 % de reflectancia la obtenida para una muestra de referencia que no absorba luz en el rango de longitudes de onda utilizado.

La espectroscopia UV-Vis en reflectancia difusa puede ser empleada para determinar la energía del band gap. Se utilizó un espectrofotómetro UV-Vis equipado con una esfera integradora con una lámpara de deuterio-halógeno. Se colocaron 0.1 g de los polvos en el porta muestras, se ajustó la esfera de

integración, se calibró el espectro de reflectancia con un blanco de referencia para finalmente obtener los espectros de reflectancia.

### **7.9 PREPARACIÓN DE CALDOS NUTRITIVOS.**

El caldo soya tripticaseína se preparará según las indicaciones del fabricante. Después de esterilizarse en autoclave, se dejará enfriar a temperatura ambiente (en forma estéril bajo campana de flujo laminar). Se agregarán 10 mL de caldo en tubos de ensaye con tapa rosca, en condiciones asépticas.

El caldo de Müller-Hinton se preparará siguiendo las instrucciones del fabricante y suplementado con  $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{Mg}^{2+}$ , ajustando a una concentración final de 25 mg de  $\text{Ca}^{2+}/\text{L}$  y 12.5 mg de  $\text{Mg}^{2+}/\text{L}$  de caldo.

### **7.10 PREPARACIÓN DE PLACAS CON AGAR.**

Los agares soya tripticaseína, Müller-Hinton y MacConkey, se prepararán según las indicaciones del fabricante. Después de esterilizarse, se dejarán enfriar en un baño de agua a 45-50 °C (en forma estéril bajo campana de flujo laminar con luz ultravioleta). Se verterán 20 ml de los preparados en cajas Petri de 100 mm de diámetro, para dar un espesor uniforme de aproximadamente 5 mm. Las placas se dejarán solidificar a temperatura ambiente, evitando la acumulación de gotas de condensación en la tapa. Las placas preparadas se envolverán en plástico, para minimizar el secado de los agares, y se almacenaron en refrigerador a 4°C.

### **7.11 CEPAS BACTERIANAS.**

Se utilizarán cepas de *Salmonella typhimurium* (ATCC 14028) y *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) con número de Colección de Cepas Americana por sus siglas en ingles American Type Culture Collection (ATCC). Las cepas de estudio, serán proporcionadas por el Laboratorio Estatal de Salud Pública de Michoacán siguiendo los lineamientos aplicables, la cual se hizo crecer en tubos en plano inclinado de agar soya tripticaseína a 37°C por 24 h y se sembraron cada 24 h por 5 días para garantizar la fase exponencial de crecimiento. Estas cepas serán conservadas a 4°C, con el fin de mantener la viabilidad.

### **7.12 TURBIDEZ ESTÁNDAR PARA LA PREPARACIÓN DEL INÓCULO.**

Las pruebas de turbidez se realizarán en un espectrofotómetro UV-Vis Varian Cary 2000. Se medirá la absorbancia a 625 nm, incubándose bajo las mismas condiciones hasta alcanzar un crecimiento en un rango entre 0.7-0.8 de densidad óptica. Los estándares se mantendrán guardados a temperatura ambiente al abrigo de la luz.

### **7.13 PREPARACIÓN DE LOS INÓCULOS.**

Para la preparación de los inóculos se tomarán 3 colonias aisladas del mismo tipo de morfología de las cepas mantenidas en cuñas de agar soya tripticaseína, y se harán crecer en tubos con 10 mL de caldo de soya tripticaseína a 37°C hasta alcanzar la turbidez estándar. Esta suspensión contendrá aproximadamente  $1 \times 10^8$  UFC/mL de bacterias. Los inóculos se resebrarán cada 24h por 5 días para confirmar la fase exponencial de crecimiento. Estas cepas serán conservadas a 4°C, con el fin de mantener la viabilidad.

### **7.14 CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA (CMI) Y CONCENTRACIÓN MÍNIMA BACTERICIDA (CMB) DE LOS MATERIALES COMO BACTERICIDAS.**

Para valorar la capacidad bactericida de los materiales se utilizará la técnica de ensayo de dilución en caldo Müller-Hinton (MH), la cual proporcionará información preliminar acerca de la actividad antimicrobiana. Las pruebas de dilución en agar, se llevarán a cabo de acuerdo con el manual de procedimientos para la determinación de la sensibilidad a los antimicrobianos en bacterias aisladas del CLSI de 2006. La relación inicial para los ensayos de la inhibición será de 10mg/mL.

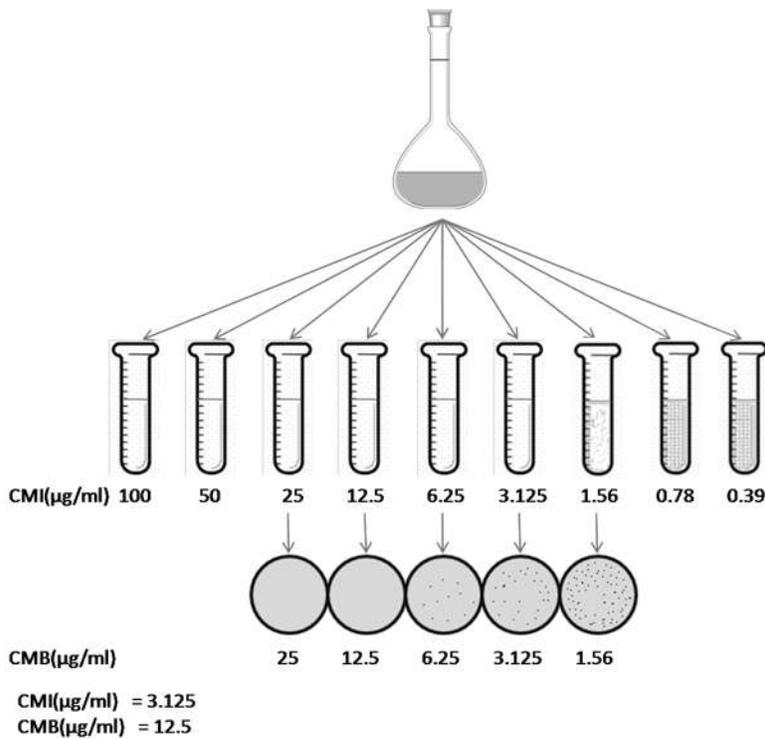
Para la determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) se realizarán diluciones seriadas 1/10 de material en caldo MH. Se emplearán dos controles: el primero fue de control positivo (caldo MH al que se añadirá la suspensión bacteriana) y el segundo será el control negativo (caldo MH sin antimicrobiano y sin suspensión bacteriana). Los tubos inoculados con una cantidad calibrada de

los microorganismos y los materiales bactericidas se incubarán por 24 h a una temperatura de 37°C. En aquellos tubos donde la bacteria se desarrolle, se observará una turbidez.

La CMI será interpretada como la concentración de antimicrobiano contenida en el tubo de la serie que inhiba el crecimiento visible de la bacteria, para lo cual será necesario comparar cada uno de los tubos con los controles positivo y negativo.

Los tubos en donde no exista crecimiento serán sembrados en agar MH, para determinar la concentración mínima de bactericida (CMB).

Para determinar la CMB se extraerán 100 µL de los tubos en los cuales no se observe crecimiento visible de la bacteria (inhibición de crecimiento); esta suspensión será inoculada en placas Petri con agar MH debidamente rotuladas con la concentración correspondiente. Se utilizará como control positivo agar MH con 100 µL de inóculo sin antimicrobiano, y como control negativo, agar MH sin inóculo y sin antimicrobiano. Las placas se dejarán incubar durante 24 horas a 37°C. La lectura de los resultados se realizará en aquellas placas donde el antimicrobiano sea capaz de eliminar completamente el desarrollo bacteriano o que elimine al 80% de bacterias, comparándolo con el control positivo.



Esquema para la determinación de la CMI y CMB.

### 7.15 CRECIMIENTO BACTERIANO EN PRESENCIA DE LOS MATERIALES.

Se determinará el crecimiento de las bacterias en presencia de los materiales propuestos como biocidas. Para ello, se valorará la capacidad bactericida de los materiales en relación con el tiempo y la CMB promedio. Se enfrentará un inóculo normalizado a concentraciones fijas de antimicrobiano en un caldo. Se inoculará 0.5ml de muestra de los sistemas líquidos con bacterias en 10 ml de caldo de soya tripticaseína contenido en tubos de ensaye con tapa rosca. Se agregará una cantidad de material bactericida (cantidad que se determinará como CMB promedio) a cada tubo incubándose a 37°C con agitación a 30 rpm. Se tomarán muestras a diferentes tiempos (0, 5, 15, 30, 60, 90 y 120 min). Las muestras tomadas se sembrarán en cajas Petri con 20 ml de agar McConkey por la técnica de estriado en placa.

Como control, una placa se inoculará con cultivo sin material bactericida, al comienzo y al final. Las placas se incubarán invertidas a 37°C por 24 h en atmósfera aeróbica y se realizará el conteo de colonias.

## **8. RESULTADOS**

### **8.1 CARACTERIZACIÓN DE LOS MATERIALES**

Enseguida se muestran los resultados obtenidos mediante la aplicación de las diferentes técnicas empleadas para caracterizar los materiales sinterizados. Para poder caracterizar los materiales primeramente se hicieron pruebas inhibitorias en presencia de *Salmonella typhimurium*, esto para evitar gastos excesivos en las mismas y poder corroborar la cantidad de nanopartículas de plata usadas en los diferentes soportes que presentaran efecto inhibitorio en la bacteria.

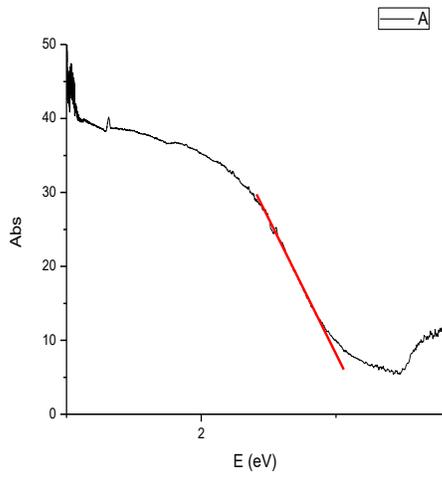
### **8.2 ESPECTROSCOPIA UV-VIS EN REFLECTANCIA DIFUSA**

Las gráficas muestran los espectros obtenidos de reflectancia difusa de los compuestos 0.98TiO<sub>2</sub> y 0.02CeO<sub>2</sub> (porcentaje molar), 0.96TiO<sub>2</sub> y 0.04CeO<sub>2</sub> (porcentaje molar), igualmente para los materiales con nanopartículas de plata.

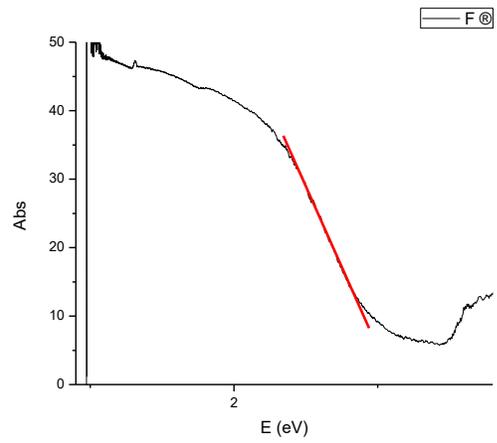
Para la obtención del valor del band gap, es necesario hacer un tratamiento a los datos de reflectancia difusa, aplicando la ecuación de Kubelka-Munk la cual fue desarrollada para materiales en forma de polvo con alta dispersión de luz.

$$F(R) = \frac{(1 - R)^2}{2R}$$

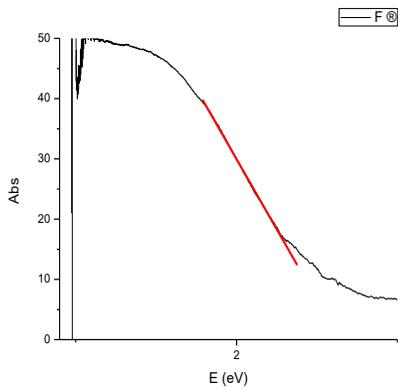
Dónde R es la reflectancia. Posteriormente se grafica F(R) contra absorbancia para obtener el gráfico para finalmente conocer el valor del band gap.



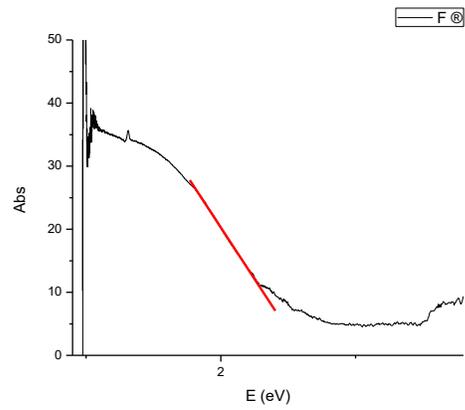
Grafica de  $\text{Ti}_{0.98}\text{Ce}_{0.02}\text{O}_2$



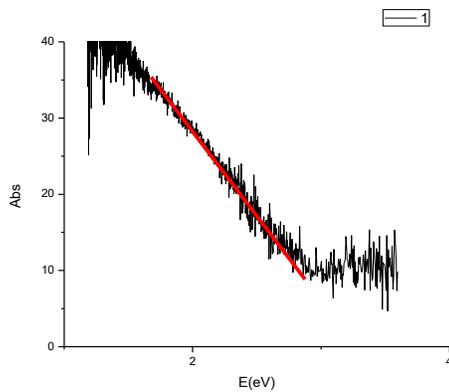
Grafica de  $\text{Ti}_{0.96}\text{Ce}_{0.04}\text{O}_2$



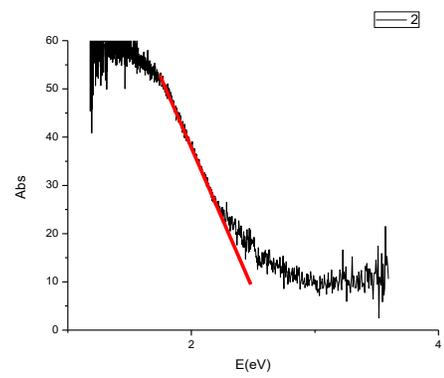
Grafica de  $\text{Ag}/\text{Ti}_{0.98}\text{Ce}_{0.02}\text{O}_2$



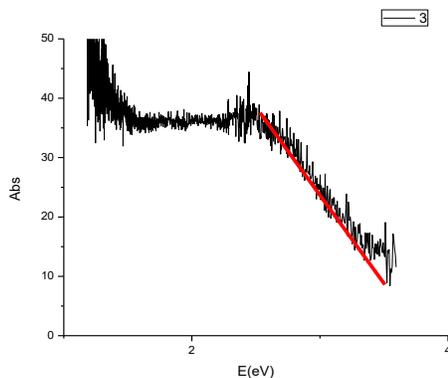
Grafica de  $\text{Ag}/\text{Ti}_{0.96}\text{Ce}_{0.04}\text{O}_2$



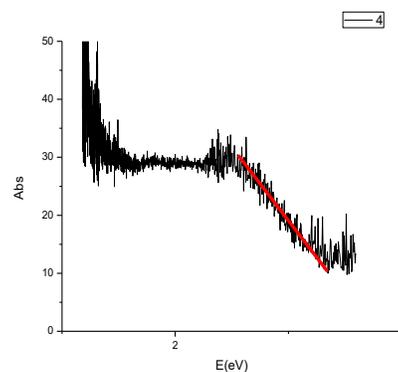
Grafica de  $\text{Ag}/\text{Ti}_{0.96}\text{Ce}_{0.04}\text{O}_2$  3%



Grafica de  $\text{Ag}/\text{Ti}_{0.98}\text{Ce}_{0.02}\text{O}_2$  3%



Grafica de Ag/Ti<sub>0.98</sub>Ce<sub>0.02</sub>O<sub>2</sub> H<sub>2</sub>



Grafica de Ag/Ti<sub>0.96</sub>Ce<sub>0.04</sub>O<sub>2</sub> H<sub>2</sub>

#### Valores de Brecha de Energía.

Compuesto	Brecha de energía (eV)
TiO <sub>2</sub>	3.26
Ti <sub>0.98</sub> Ce <sub>0.02</sub> O <sub>2</sub>	3.18
Ti <sub>0.96</sub> Ce <sub>0.04</sub> O <sub>2</sub>	3.16
Ag/Ti <sub>0.98</sub> Ce <sub>0.02</sub> O <sub>2</sub>	2.85
Ag/Ti <sub>0.96</sub> Ce <sub>0.04</sub> O <sub>2</sub>	2.34
Ag/Ti <sub>0.98</sub> Ce <sub>0.02</sub> O <sub>2</sub> 3%	2.19
Ag/Ti <sub>0.96</sub> Ce <sub>0.04</sub> O <sub>2</sub> 3%	2.30
Ag/Ti <sub>0.98</sub> Ce <sub>0.02</sub> O <sub>2</sub> H <sub>2</sub>	3.34
Ag/Ti <sub>0.96</sub> Ce <sub>0.04</sub> O <sub>2</sub> H <sub>2</sub>	3.31

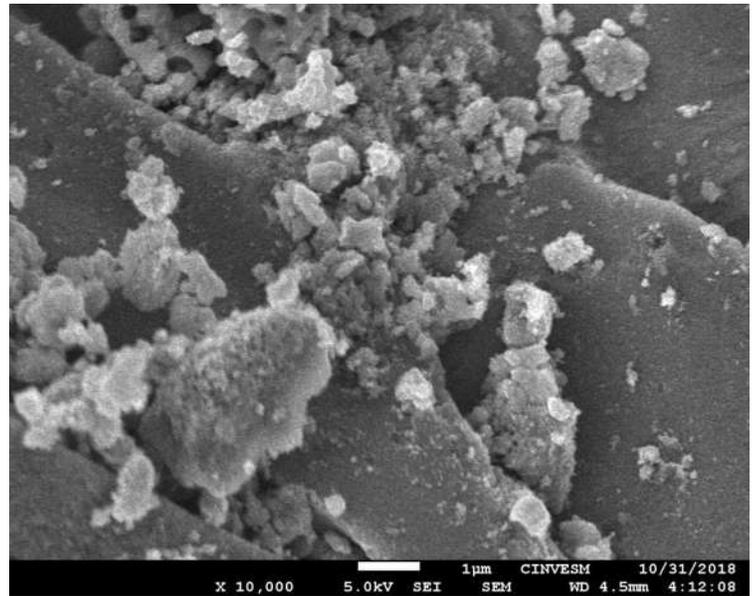
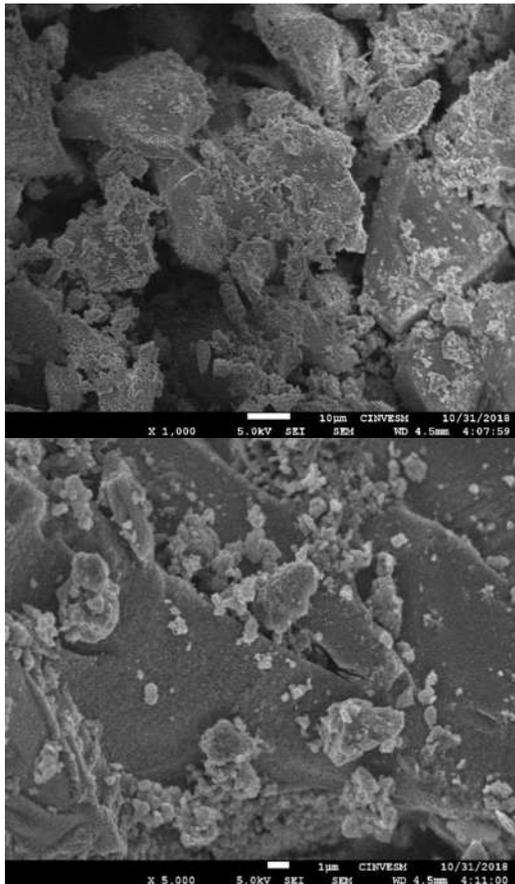
El valor del band gap que se utilizó del compuesto TiO<sub>2</sub> citado por varios autores es de (3.26 eV). Los compuestos que se impurificaron muestran un valor de band gap menor, se redujo en 2.45% en el Ti<sub>0.98</sub>Ce<sub>0.02</sub>O<sub>2</sub> y en 3.17% para el Ti<sub>0.96</sub>Ce<sub>0.04</sub>O<sub>2</sub>, corroborando que la presencia de este elemento en el TiO<sub>2</sub> reduce la banda prohibida debido al incremento de portadores de carga. En la reducción

con nanopartículas de plata, se tiene una reducción de un 12.58% en  $\text{Ag}/\text{Ti}_{0.98}\text{Ce}_{0.02}\text{O}_2$  en comparación con el  $\text{TiO}_2$  y de 28.22% para el material  $\text{Ag}/\text{Ti}_{0.96}\text{Ce}_{0.04}\text{O}_2$  ambos con un porcentaje de 1.5% en plata, para los materiales a los cuales se les agrego 3% de Ag en peso, solo para el material con una impurificación del 2% de Cerio la disminución de la banda prohibida fue de 33%, mientras que para la impurificación al 4% fue el mismo valor de 28%, para los materiales a los cuales se les impregno plata por vía húmeda y se redujeron con hidrogeno el valor de la banda prohibida aumento.

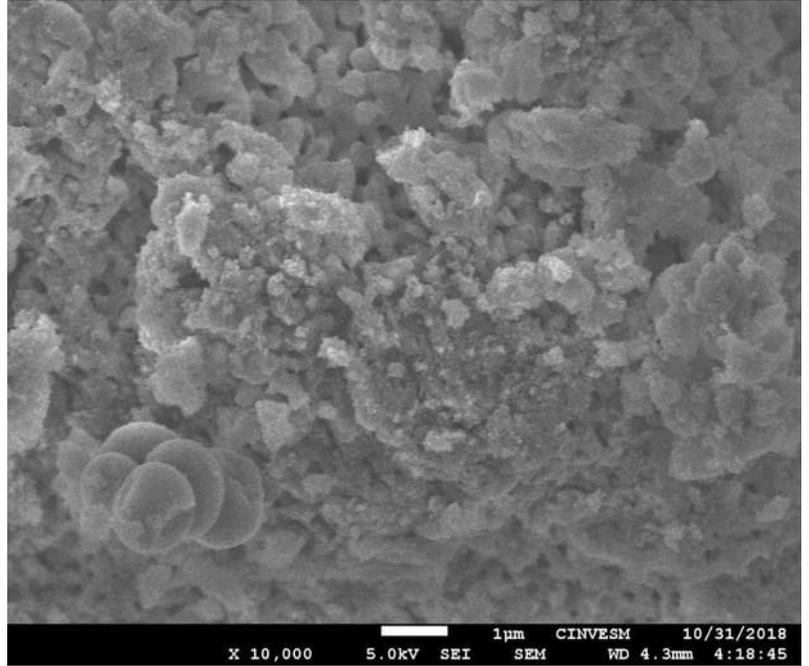
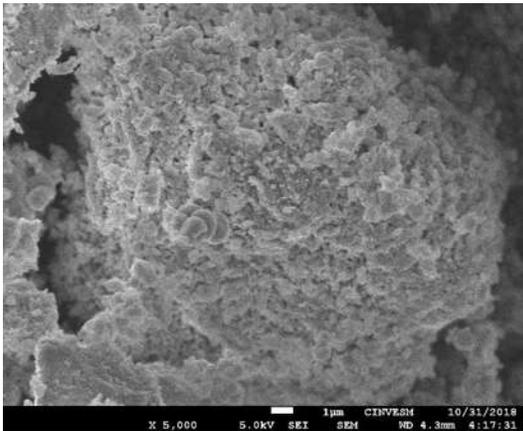
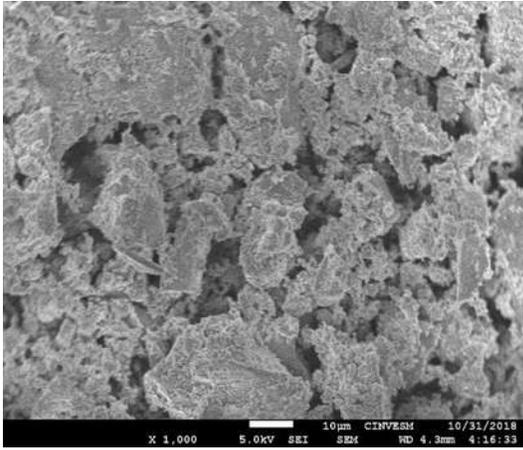
### 8.3 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (MEB)

A continuación, se presentan las microfotografías para los materiales de  $\text{Ti}_x\text{Ce}_x\text{O}_2$  a diferentes impurificaciones e impregnadas con nanopartículas de plata.

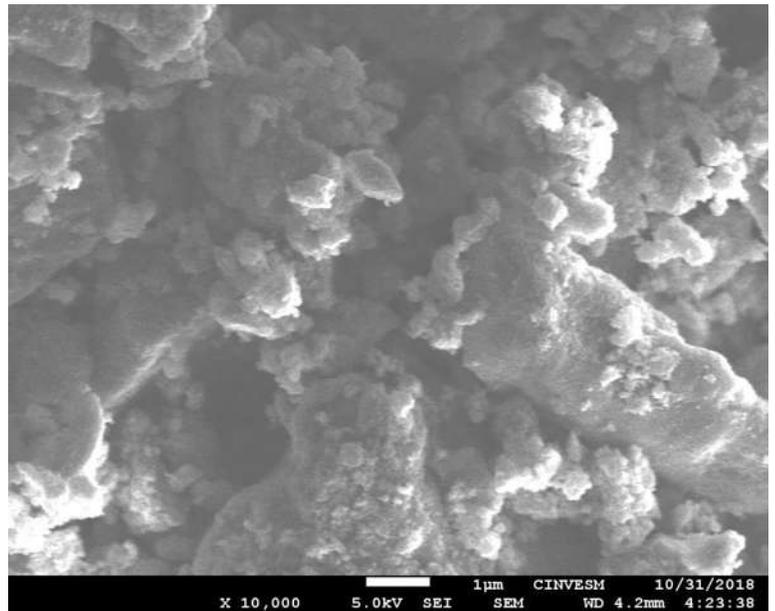
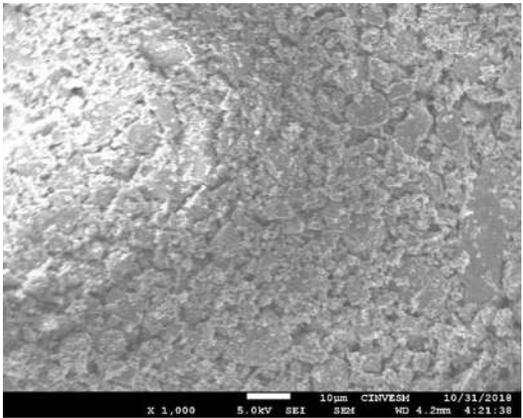
Se observa el diámetro de los aglomerados que es de aproximadamente entre 1 y 10  $\mu\text{m}$ . (1000X, 5000X y 10000X).

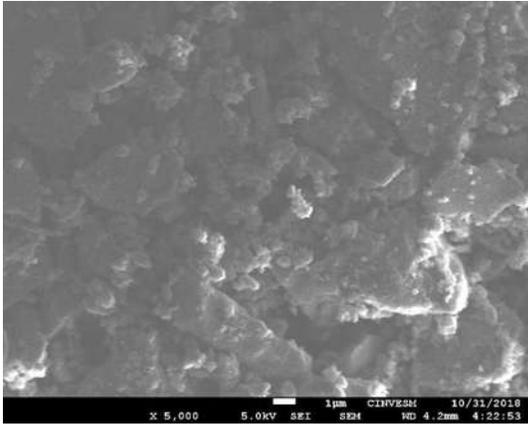


Fotomicrografías MEB que presentan la morfología de la muestra  $\text{Ti}_{0.98}\text{Ce}_{0.02}\text{O}_2$  a 1000X, 5000X y 10000X.

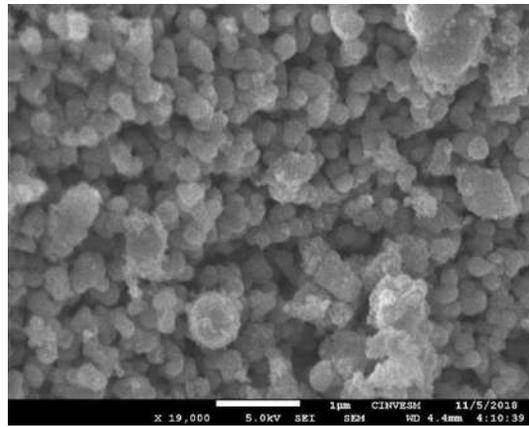
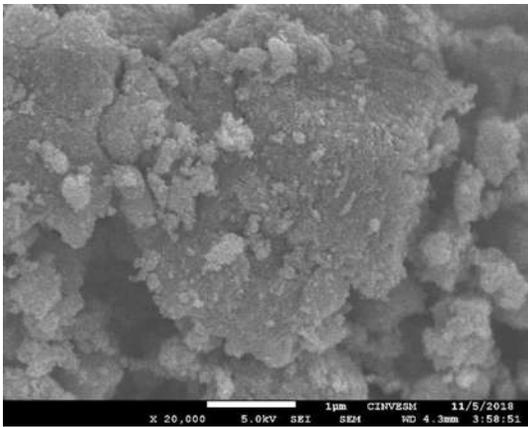


Fotomicrografías MEB que presentan la morfología de la muestra  $\text{Ti}_{0.96}\text{Ce}_{0.04}\text{O}_2$  a 1000X, 5000X y 10000X.

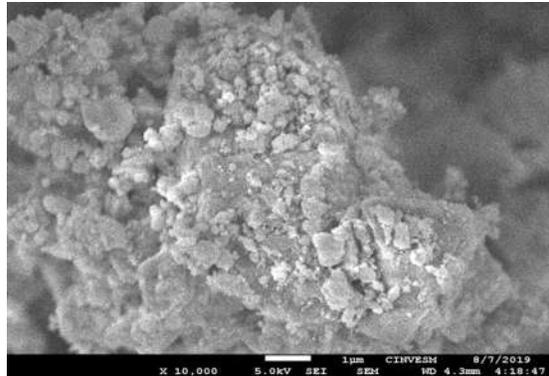
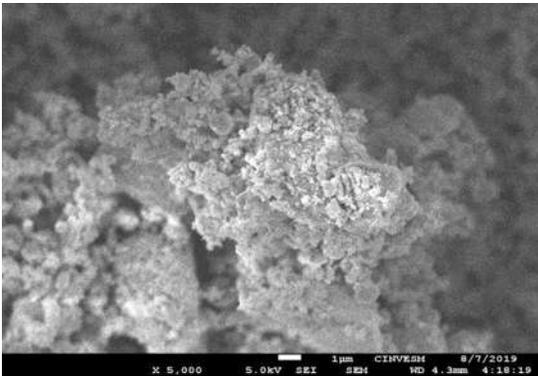


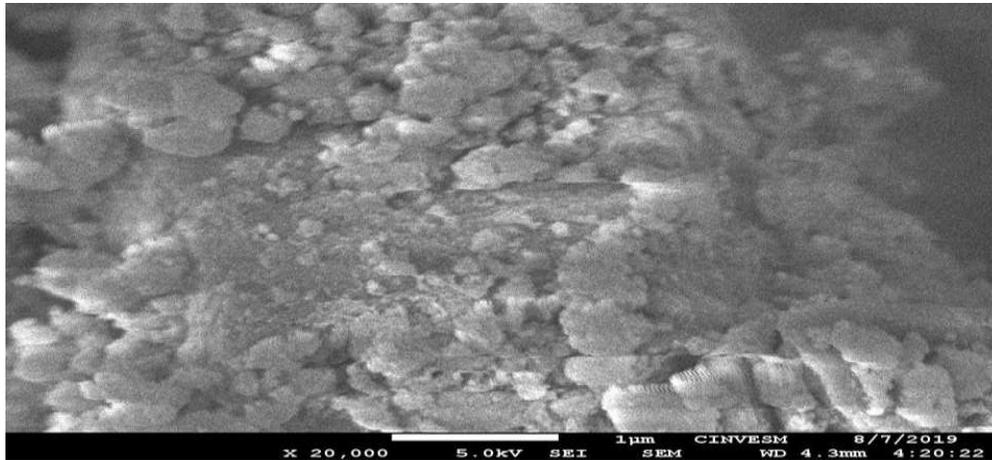


Fotomicrografías MEB que presentan la morfología de la muestra Ag/Ti<sub>0.98</sub>Ce<sub>0.02</sub>O<sub>2</sub> a 1000X, 5000X y 10000X.

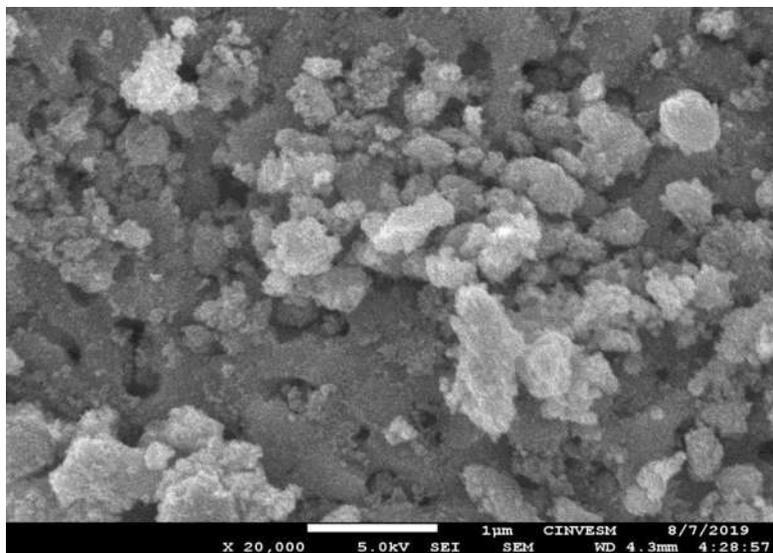
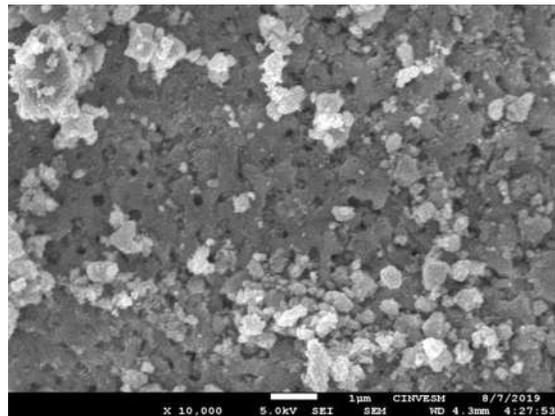
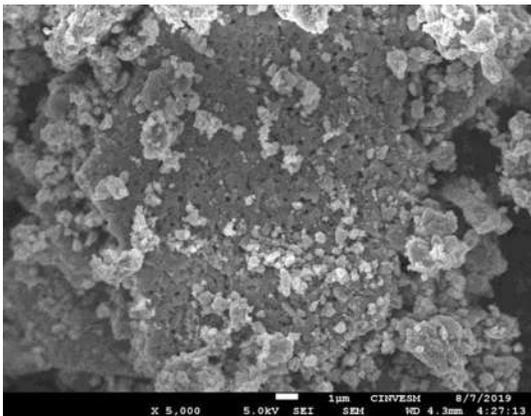


Fotomicrografías MEB que presentan la morfología de la muestra Ag/Ti<sub>0.96</sub>Ce<sub>0.04</sub>O<sub>2</sub> a 20000X y 10000X

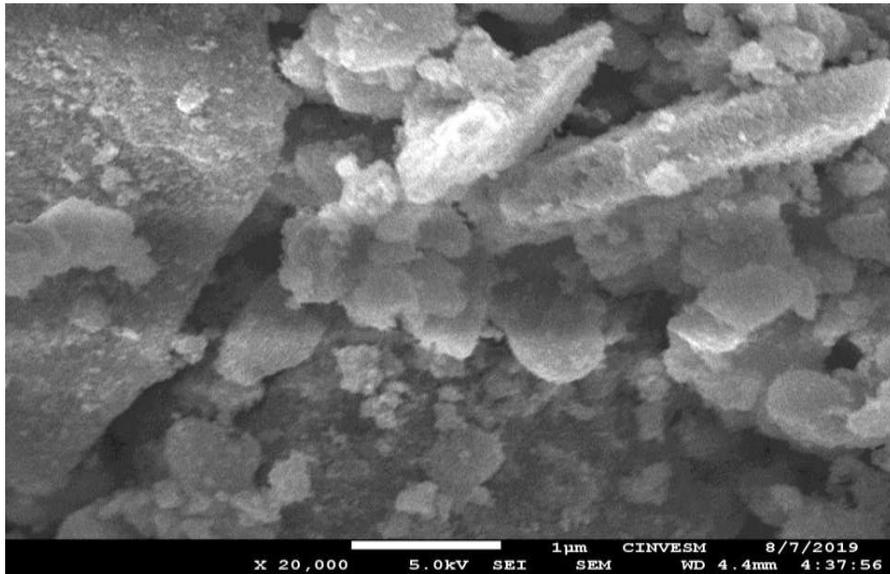
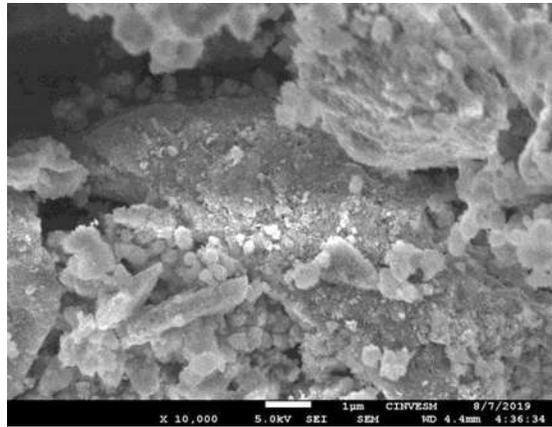
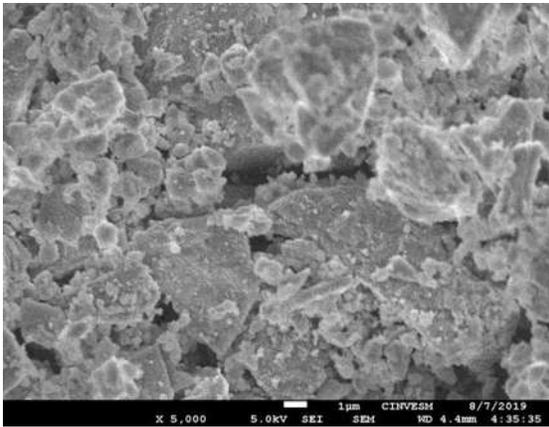




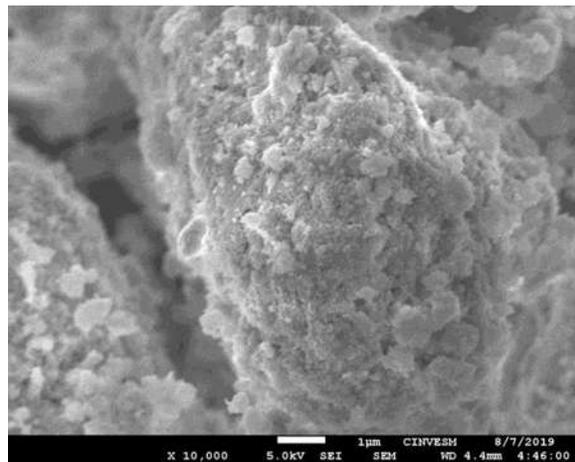
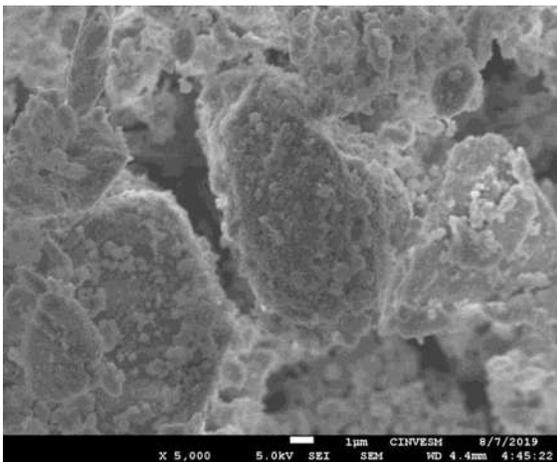
Fotomicrografías MEB que presentan la morfología de la muestra Ti<sub>0.98</sub>Ce<sub>0.02</sub>O<sub>2</sub> 3% a 5000X, 10000X y 20000X

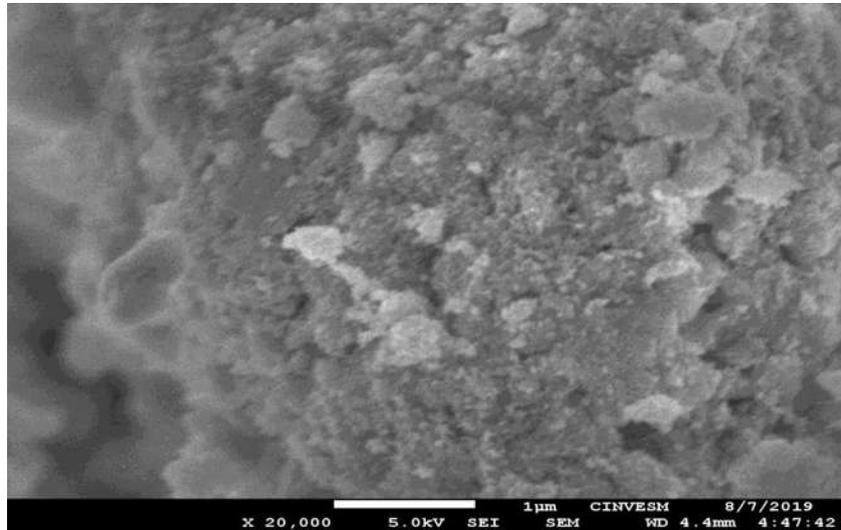


Fotomicrografías MEB que presentan la morfología de la muestra Ti<sub>0.96</sub>Ce<sub>0.04</sub>O<sub>2</sub> 3% a 5000X, 10000X y 20000X



Fotomicrografías MEB que presentan la morfología de la muestra  $Ti_{0.98}Ce_{0.02}O_2 H_2$  a 5000X, 10000X y 20000X



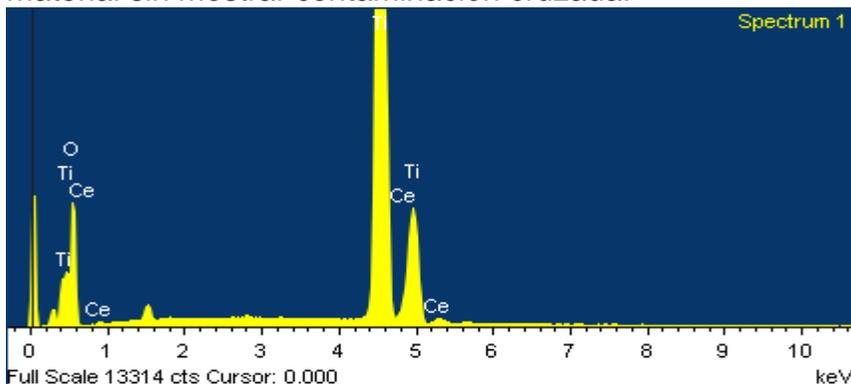


Fotomicrografías MEB que presentan la morfología de la muestra  $\text{Ti}_{0.96}\text{Ce}_{0.04}\text{O}_2 \text{H}_2$  a 5000X, 10000X y 20000X

El tamaño de los aglomerados crece en función directa con el contenido de cerio y plata, entre más concentración de ambas, mayor es la visibilidad de los aglomerados, se puede observar en los materiales a los cuales se les agrego 3% de Ag, esta se encuentra sobre la superficie del material, pero con un tamaño de nanopartícula muy pequeño en comparación con los materiales a los cuales se les deposito la Ag por vía húmeda incipiente y se redujeron con hidrogeno.

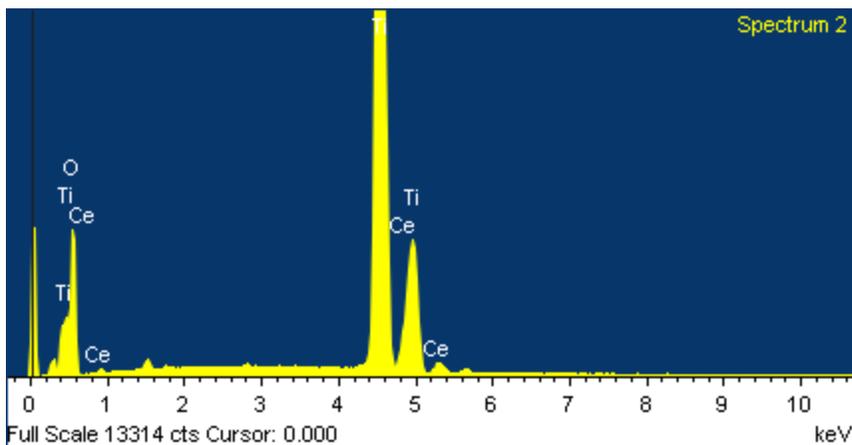
### 8.3.1 GRÁFICAS DE ESPECTRÓMETRO DISPERSIVO DE LA ENERGÍA (EDS) $\text{Ti}_{0.98}\text{Ce}_{0.02}\text{O}_2$

Las gráficas nos muestran los picos de los elementos que se encuentran en el material sin mostrar contaminación cruzada.



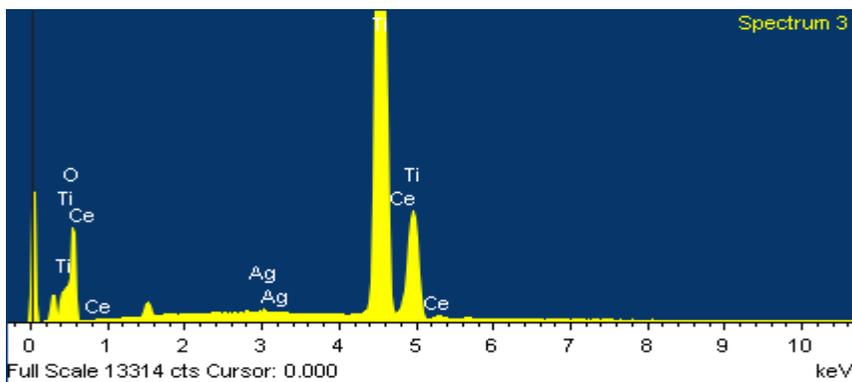
### 8.3.2 GRÁFICAS DE ESPECTRÓMETRO DISPERSIVO DE LA ENERGÍA (EDS)

$\text{Ti}_{0.96}\text{Ce}_{0.04}\text{O}_2$



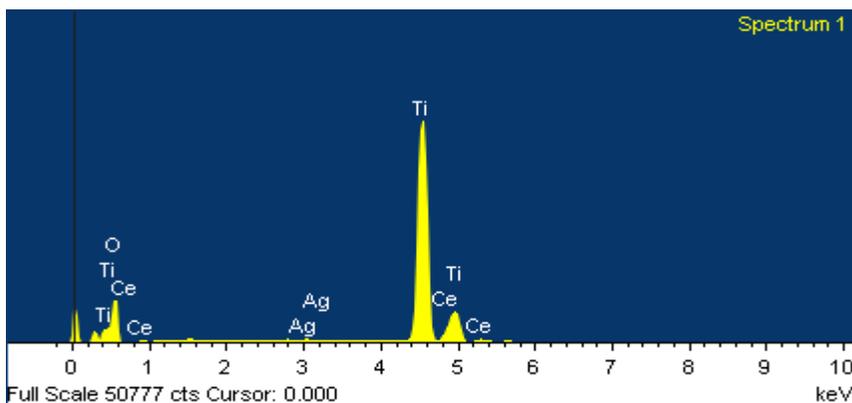
### 8.3.3 GRÁFICAS DE ESPECTRÓMETRO DISPERSIVO DE LA ENERGÍA (EDS)

$\text{Ag}/\text{Ti}_{0.98}\text{Ce}_{0.02}\text{O}_2$

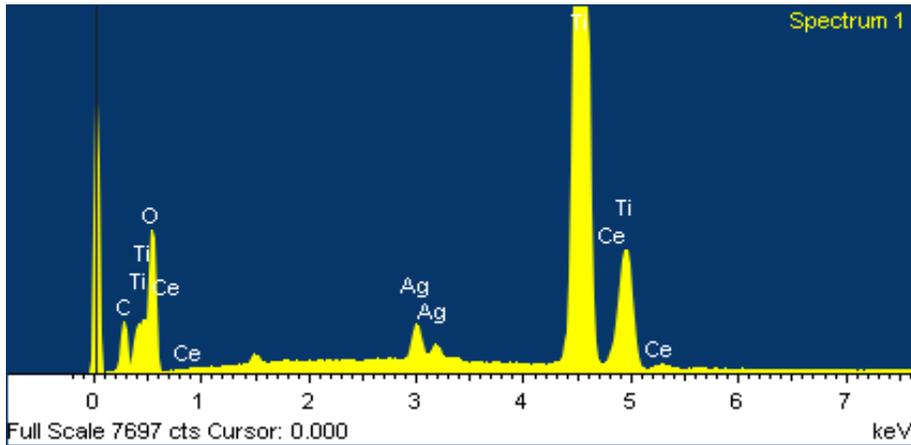


### 8.3.3 GRÁFICAS DE ESPECTRÓMETRO DISPERSIVO DE LA ENERGÍA (EDS)

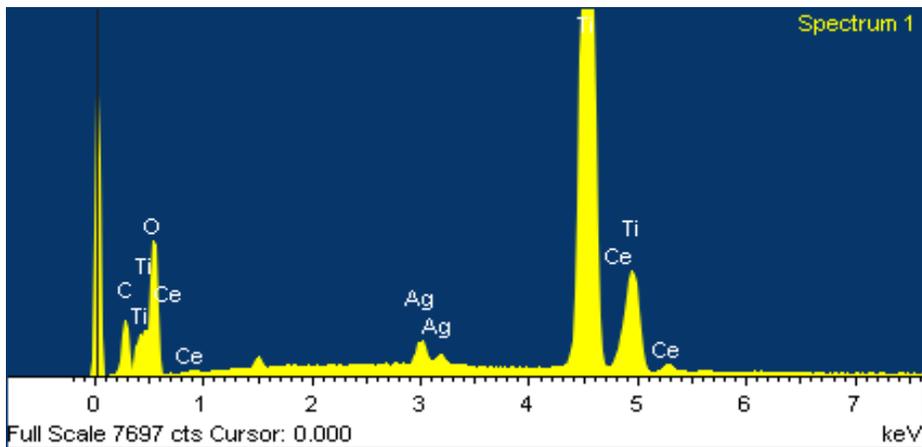
$\text{Ag}/\text{Ti}_{0.96}\text{Ce}_{0.04}\text{O}_2$



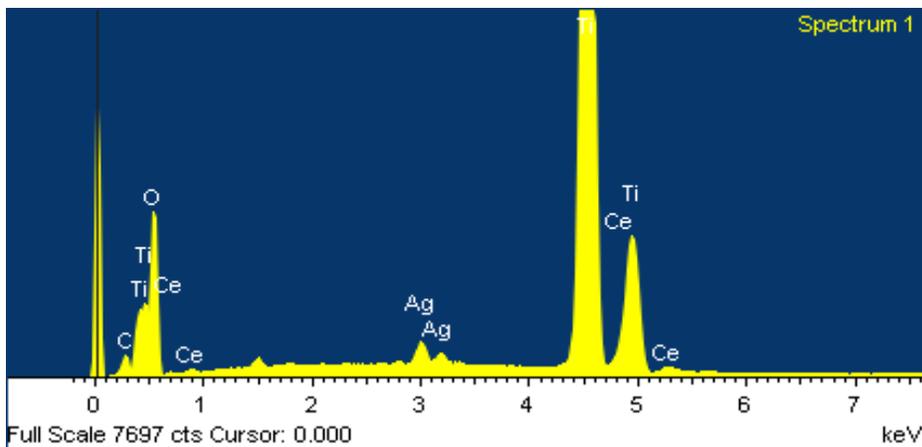
### 8.3.4 GRÁFICAS DE ESPECTRÓMETRO DISPERSIVO DE LA ENERGÍA (EDS) Ag/Ti<sub>0.98</sub>Ce<sub>0.02</sub>O<sub>2</sub> 3%



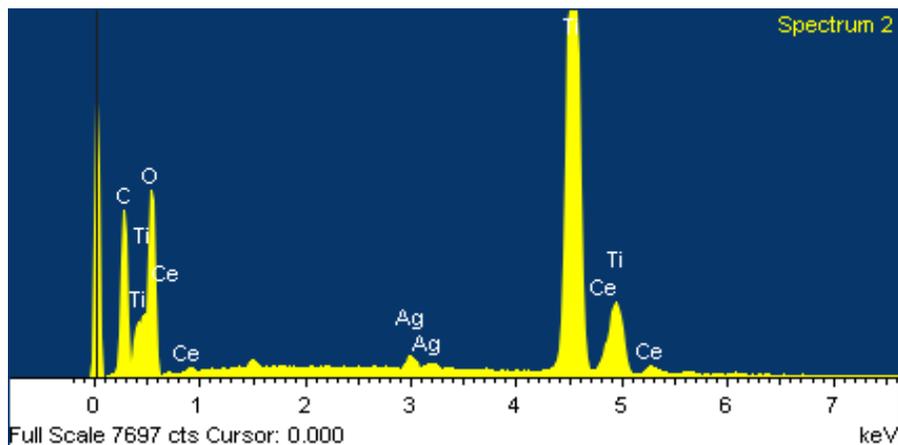
### 8.3.4 GRÁFICAS DE ESPECTRÓMETRO DISPERSIVO DE LA ENERGÍA (EDS) Ag/Ti<sub>0.96</sub>Ce<sub>0.04</sub>O<sub>2</sub> 3%



### 8.3.4 GRÁFICAS DE ESPECTRÓMETRO DISPERSIVO DE LA ENERGÍA (EDS) Ag/Ti<sub>0.98</sub>Ce<sub>0.02</sub>O<sub>2</sub> H<sub>2</sub>



### 8.3.4 GRÁFICAS DE ESPECTRÓMETRO DISPERSIVO DE LA ENERGÍA (EDS) Ag/Ti<sub>0.96</sub>Ce<sub>0.04</sub>O<sub>2</sub> H<sub>2</sub>



Se detectó plata en los espectros de los materiales a los cuales se les deposito Ag, pero en los materiales por reducción de alta dispersión muy poca cantidad (0.1% peso atómico), mientras que en los materiales a los que se les aumento cantidad de Ag, y los materiales por impregnación húmeda se encontró suficiente cantidad para poder trabajar contra las bacterias.

### 8.4 ÁREA SUPERFICIAL ESPECÍFICA (BET)

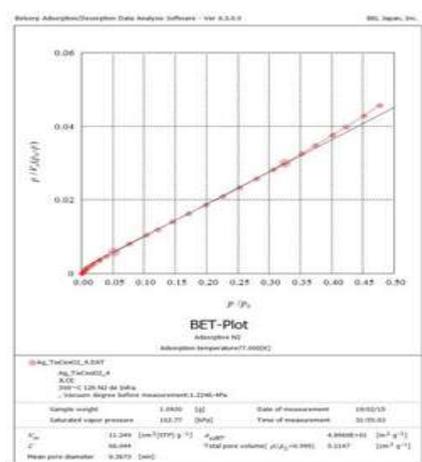
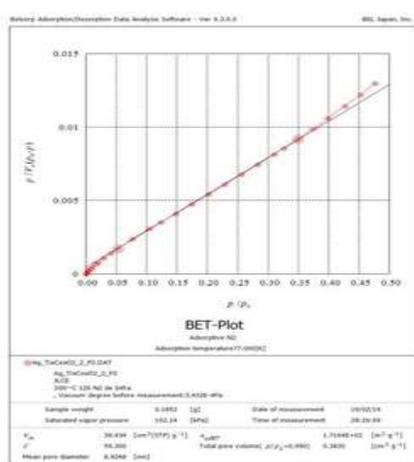
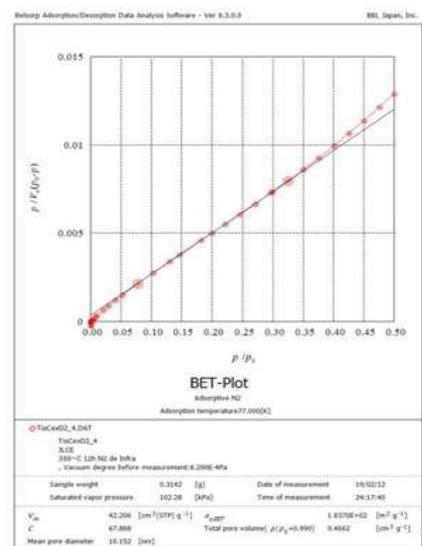
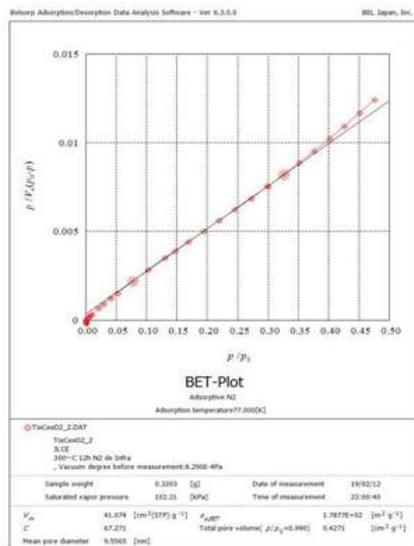
La presencia del cerio incrementa en un 30% el área comparada con el TiO<sub>2</sub> excepto en la impurificación con cerio al 4% y plata al 1.5% en peso, la cual disminuyo 60%, la presencia del cerio promueve una mayor área superficial. En todos los compuestos se obtuvieron estructuras mesoporosas, independientemente del método de depósito de la plata. El método sol-gel favorece la formación de estructuras mesoporosas, las cuales se obtienen durante el proceso de síntesis, específicamente en las reacciones de hidrólisis y condensación.

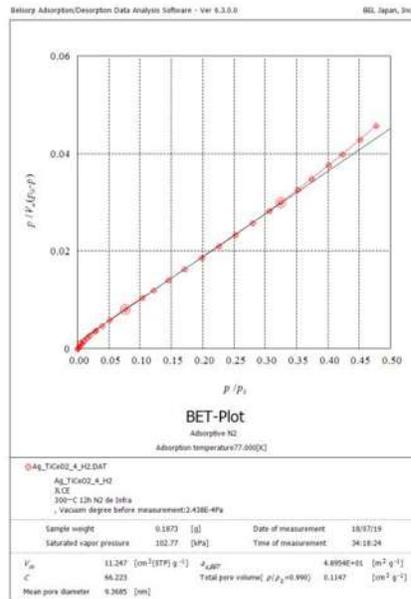
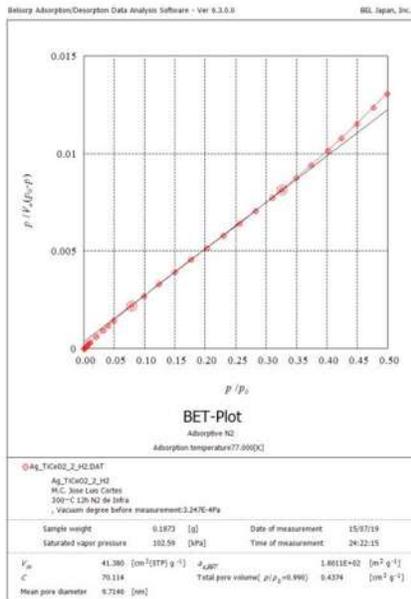
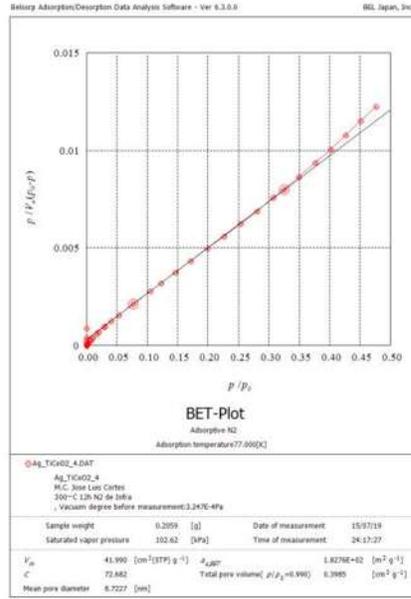
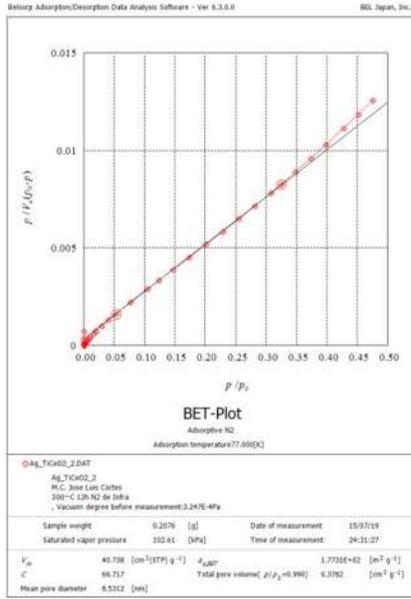
En cuanto a la gráfica de distribución de tamaño de poro, todos los compuestos tienen una distribución dentro del intervalo de mesoporos de entre 8 y 9 nm. El compuesto TiO<sub>2</sub> obtuvo un menor valor de tamaño de poro de 5 nm, muy cercano a los valores de microporo.

Propiedades texturales de los compuestos.

COMPUESTO	ÁREA SUPERFICIAL (m <sup>2</sup> /g)	DIÁMETRO DE PORO(nm)	VOLUMEN DE PORO (cm <sup>3</sup> /g)
TiO <sub>2</sub>	130.99	5.68	0.236

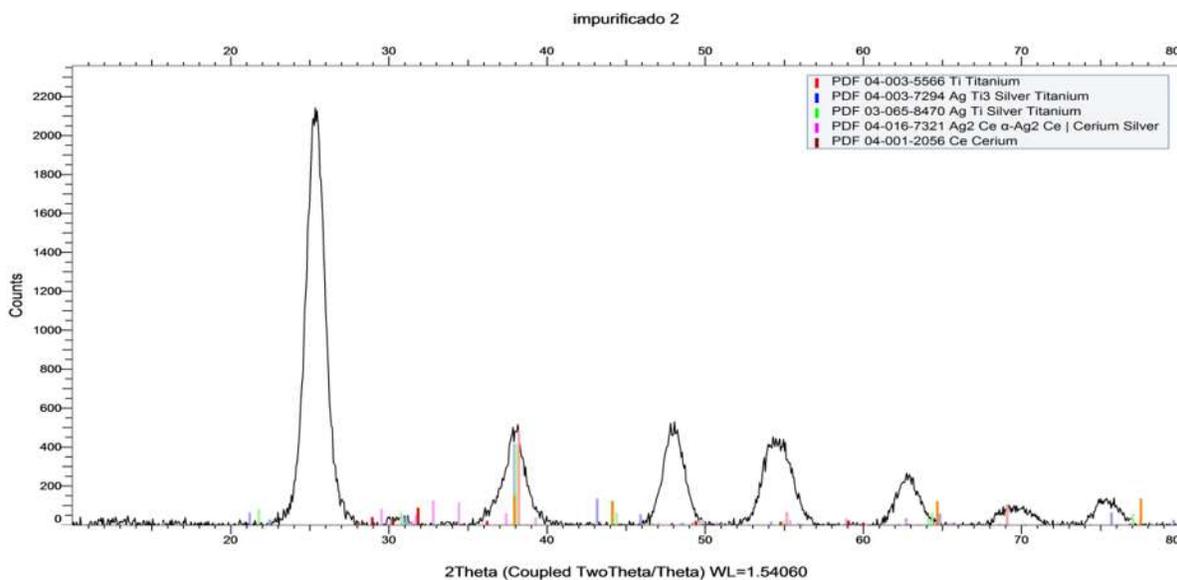
Ti <sub>x</sub> Ce <sub>x</sub> O <sub>2</sub> 2%	178.77	9.55	0.427
Ti <sub>x</sub> Ce <sub>x</sub> O <sub>2</sub> 4%	183.76	10.152	0.466
Ag/Ti <sub>x</sub> Ce <sub>x</sub> O <sub>2</sub> 2%	171.64	8.92	0.383
Ag/Ti <sub>x</sub> Ce <sub>x</sub> O <sub>2</sub> 4%	48.96	9.36	0.114
Ag/Ti <sub>x</sub> Ce <sub>x</sub> O <sub>2</sub> 2%-3%	177.31	8.53	0.378
Ag/Ti <sub>x</sub> Ce <sub>x</sub> O <sub>2</sub> 4%-3%	182.76	8.72	0.398
Ag/Ti <sub>x</sub> Ce <sub>x</sub> O <sub>2</sub> 2% H <sub>2</sub>	180.11	0.714	0.437
Ag/Ti <sub>x</sub> Ce <sub>x</sub> O <sub>2</sub> 4%-H <sub>2</sub>	48.95	9.36	0.114





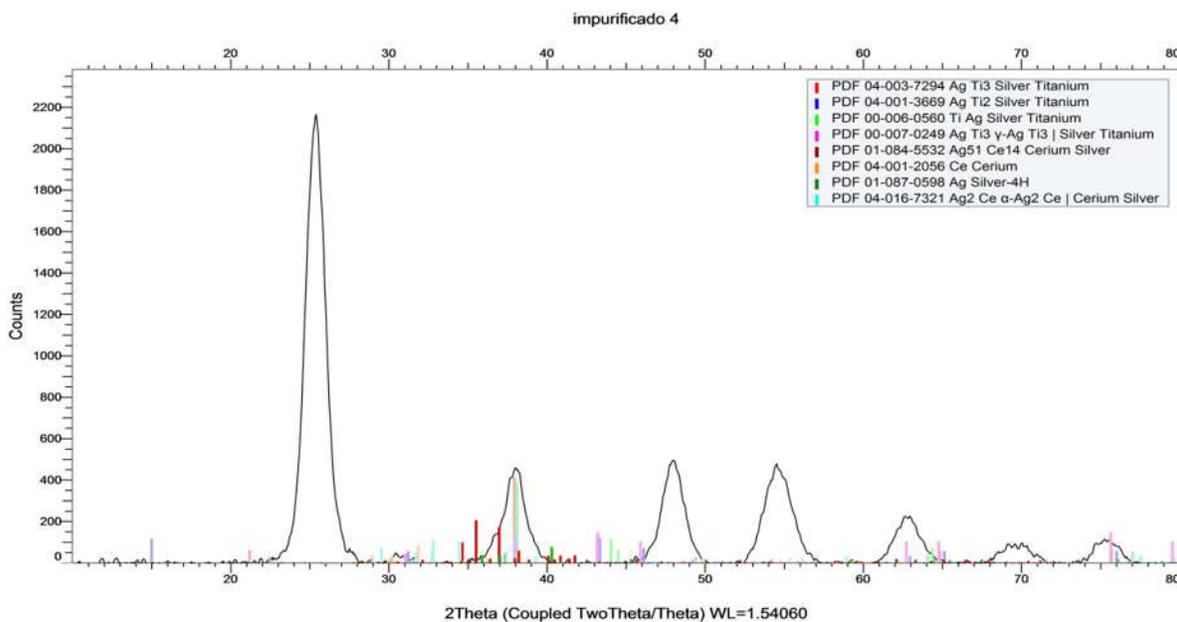
## 8.5 DIFRACCIÓN DE RAYOS X (DRX)

### 8.5.1 DIFRACCIÓN DE RAYOS X $\text{Ti}_{0.98}\text{Ce}_{0.02}\text{O}_2$



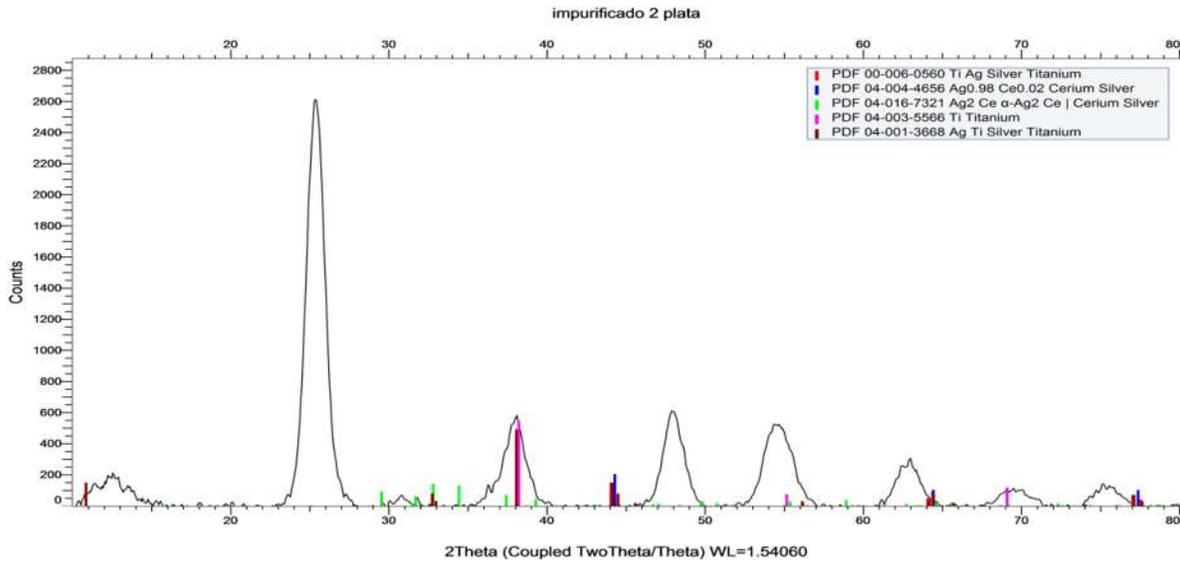
Se identifica al  $\text{TiO}_2$  en fase anatasa en el valor 2 theta = 25 grados, además se identificaron picos característicos de impurificación con Cerio.

### 8.5.2 DIFRACCIÓN DE RAYOS X $\text{Ti}_{0.96}\text{Ce}_{0.04}\text{O}_2$



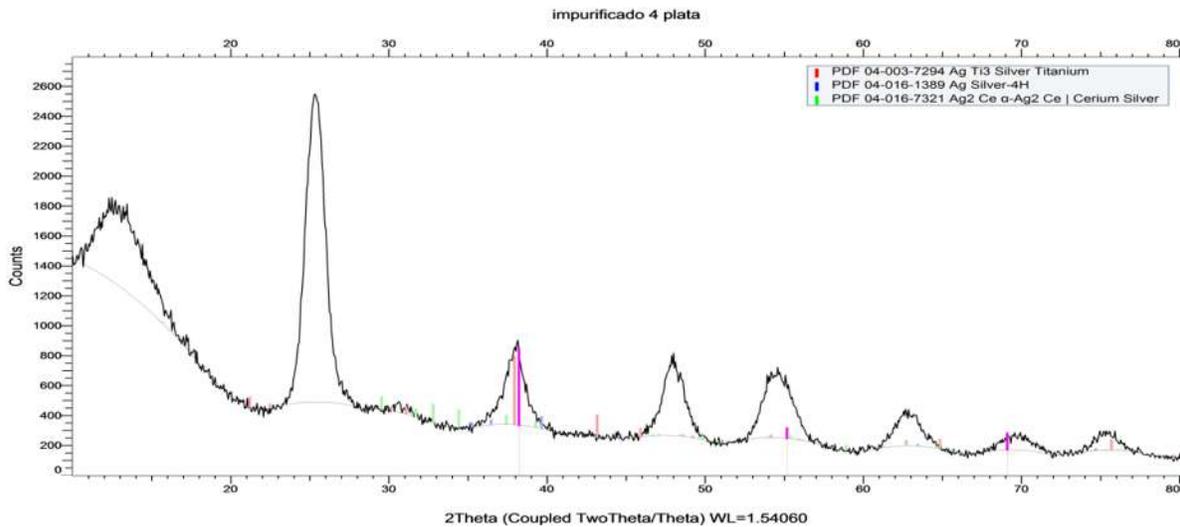
Se identifica al  $\text{TiO}_2$  en fase anatasa en el valor 2 theta = 25 grados, además se identificaron picos característicos de impurificación con Cerio.

### 8.5.3 DIFRACCIÓN DE RAYOS X Ag/Ti<sub>0.98</sub>Ce<sub>0.02</sub>O<sub>2</sub>



Se identifica al TiO<sub>2</sub> en fase anatasa en el valor 2 theta = 25 grados, además se identificaron picos característicos de impurificación con Cerio, la plata queda identificada en el valor 2 theta=38°, lo que demuestra que la cantidad de plata es insuficiente para eliminar a la bacteria.

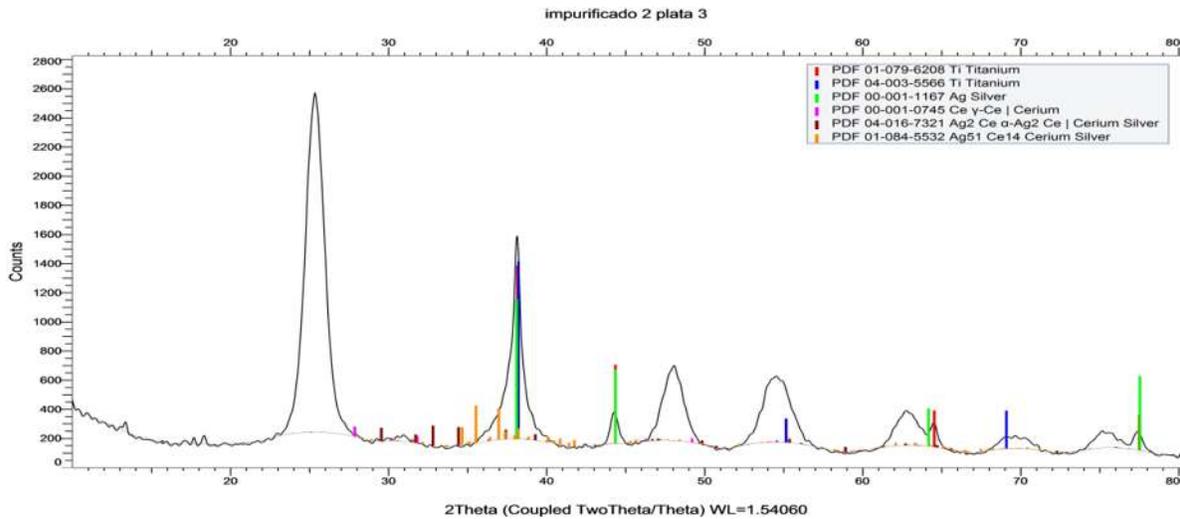
### 8.5.4 DIFRACCIÓN DE RAYOS X Ag/Ti<sub>0.96</sub>Ce<sub>0.04</sub>O<sub>2</sub>



Se identifica al TiO<sub>2</sub> en fase anatasa en el valor 2 theta = 25 grados, además se identificaron picos característicos de impurificación con Cerio, la plata queda

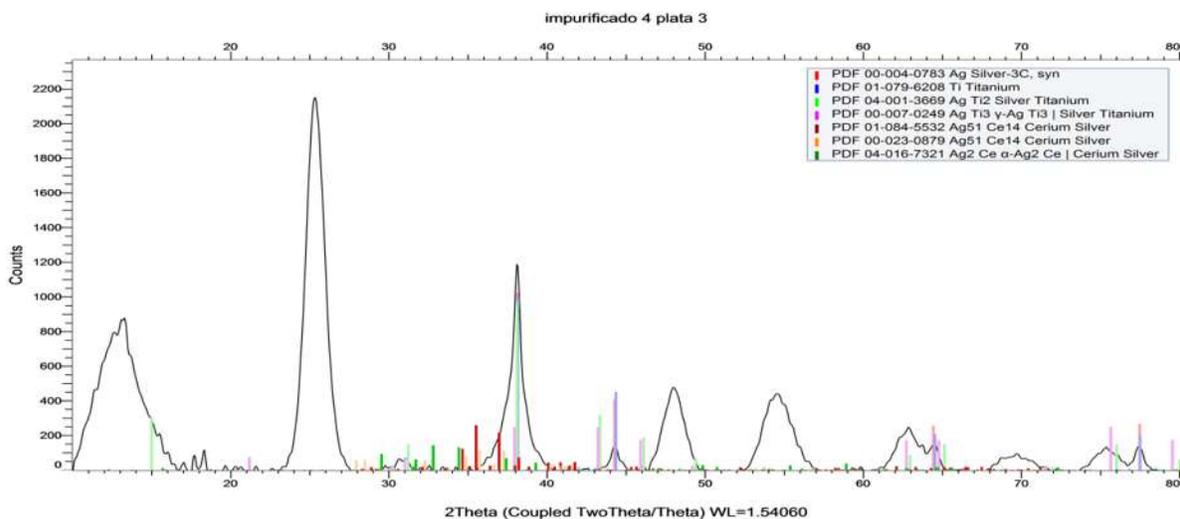
identificada en el valor  $2\theta=38^\circ$ , lo que demuestra que la cantidad de plata es insuficiente para eliminar a la bacteria.

### 8.5.5 DIFRACCIÓN DE RAYOS X $\text{Ag}/\text{Ti}_{0.98}\text{Ce}_{0.02}\text{O}_2$ 3%



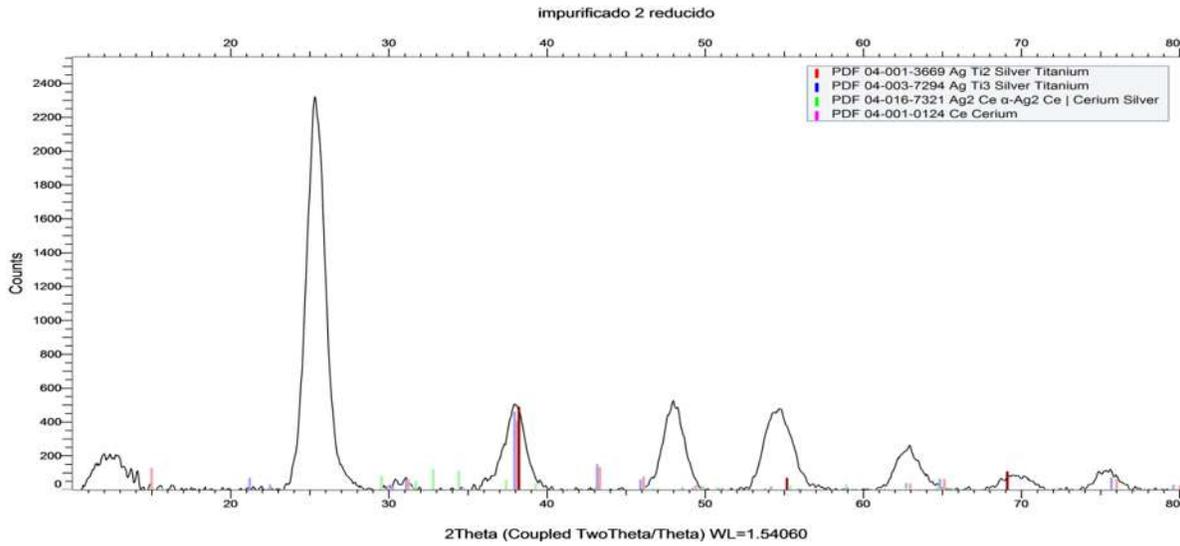
Se identifica al  $\text{TiO}_2$  en fase anatasa en el valor  $2\theta = 25$  grados, además se identificaron picos característicos de impurificación con Cerio, la plata queda identificada en el valor  $2\theta=38^\circ$ .

### 8.5.6 DIFRACCIÓN DE RAYOS X $\text{Ag}/\text{Ti}_{0.96}\text{Ce}_{0.04}\text{O}_2$ 3%



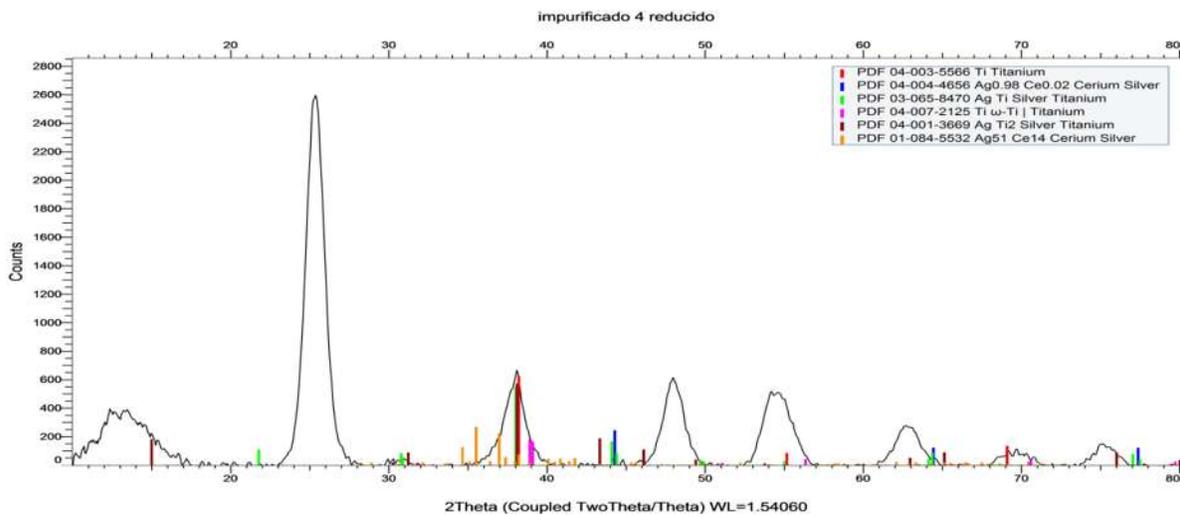
Se identifica al  $\text{TiO}_2$  en fase anatasa en el valor  $2\theta = 25$  grados, además se identificaron picos característicos de impurificación con Cerio, la plata queda identificada en el valor  $2\theta=38^\circ$ .

### 8.5.7 DIFRACCIÓN DE RAYOS X Ag/Ti<sub>0.98</sub>Ce<sub>0.02</sub>O<sub>2</sub> H<sub>2</sub>



Se identifica al TiO<sub>2</sub> en fase anatasa en el valor 2 theta = 25 grados, además se identificaron picos característicos de impurificación con Cerio, la plata queda identificada en el valor 2 theta=38°.

### 8.5.8 DIFRACCIÓN DE RAYOS X Ag/Ti<sub>0.98</sub>Ce<sub>0.02</sub>O<sub>2</sub> H<sub>2</sub>



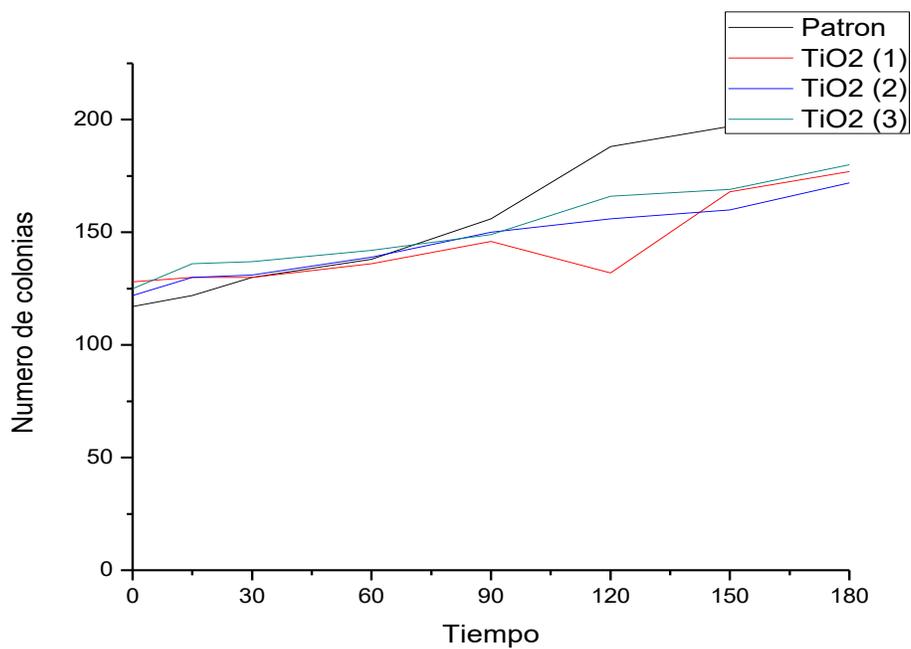
Se identifica al TiO<sub>2</sub> en fase anatasa en el valor 2 theta = 25 grados, además se identificaron picos característicos de impurificación con Cerio, la plata queda identificada en el valor 2 theta=38°.

## 8.6 EVALUACIÓN ANTIBACTERIAL

### 8.6.1 Salmonella typhimurium

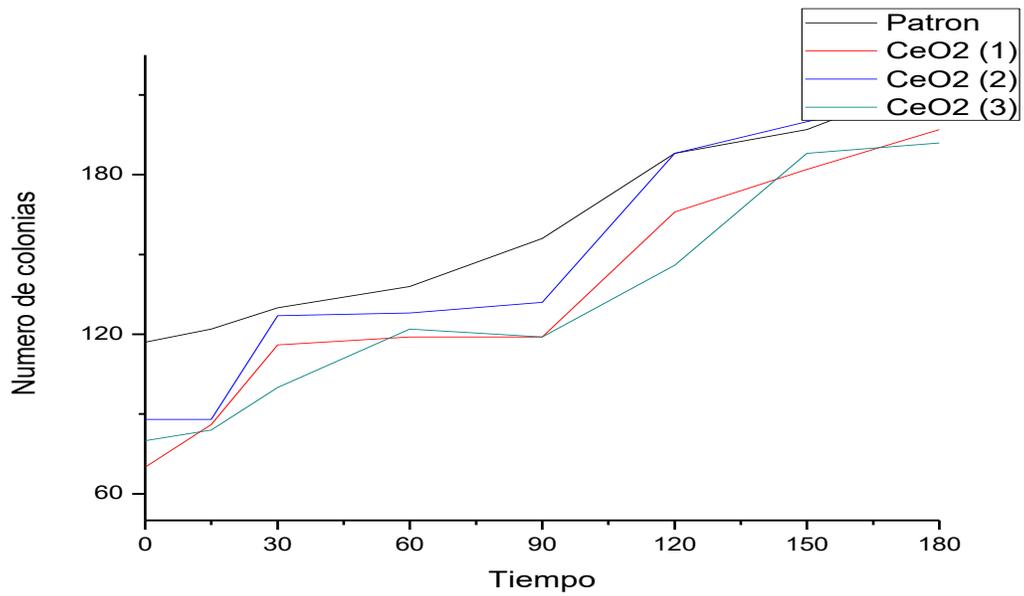
#### 8.6.1.1 TiO<sub>2</sub>

Patron	TiO <sub>2</sub> (1)	TiO <sub>2</sub> (2)	TiO <sub>2</sub> (3)
117	128	122	125
122	130	130	136
130	130	131	137
138	136	139	142
156	146	150	149
188	132	156	166
197	168	160	169
216	177	172	180



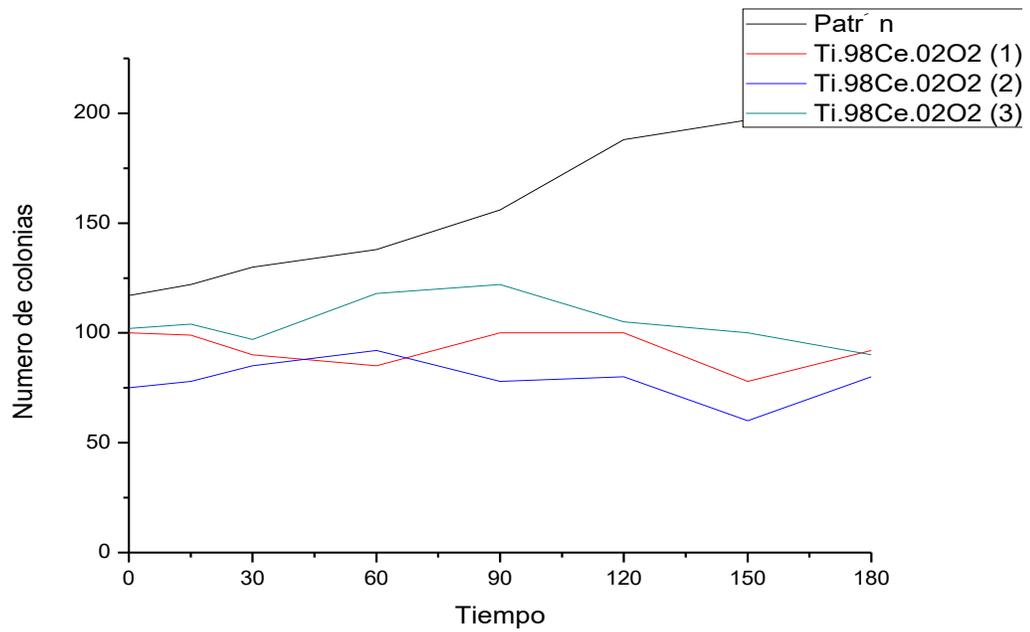
### 8.6.1.2 CeO<sub>2</sub>

Patrón	CeO <sub>2</sub> (1)	CeO <sub>2</sub> (2)	CeO <sub>2</sub> (3)
117	70	88	80
122	86	88	84
130	116	127	100
138	119	128	122
156	119	132	119
188	166	188	146
197	182	200	188
216	197	210	192



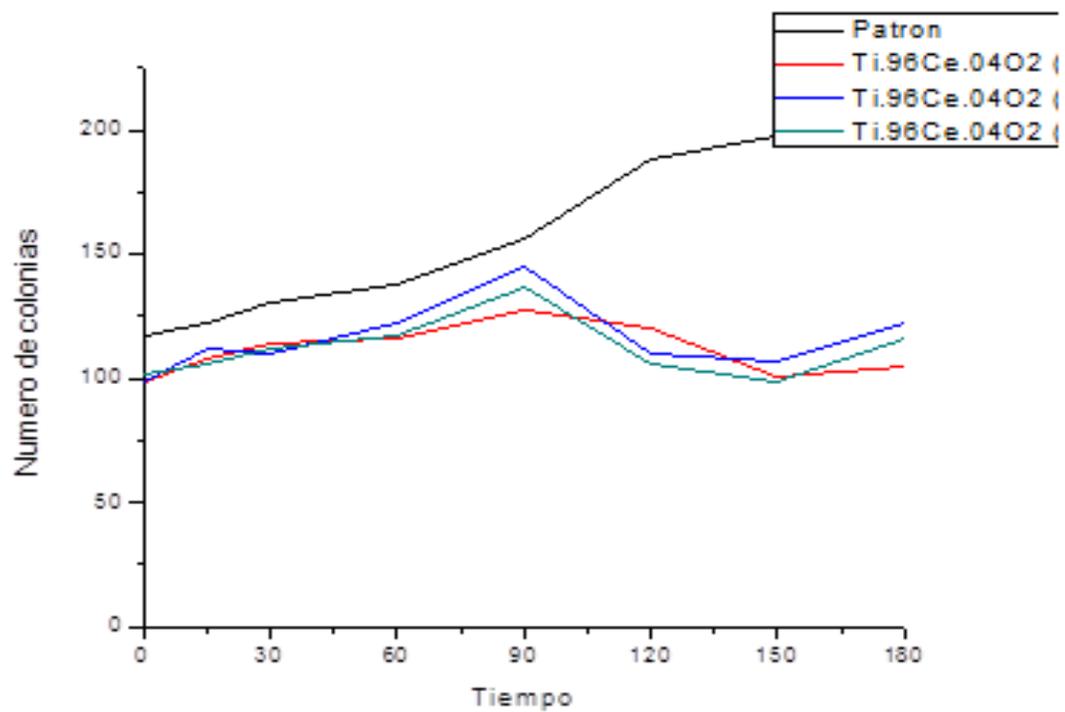
### 8.6.1.3 $Ti_{0.98}Ce_{0.02}O_2$

Patrón	$Ti_{0.98}Ce_{0.02}O_2$ (1)	$Ti_{0.98}Ce_{0.02}O_2$ (2)	$Ti_{0.98}Ce_{0.02}O_2$ (3)
117	100	75	102
122	99	78	104
130	90	85	97
138	85	92	118
156	100	78	122
188	100	80	105
197	78	60	100
216	92	80	90



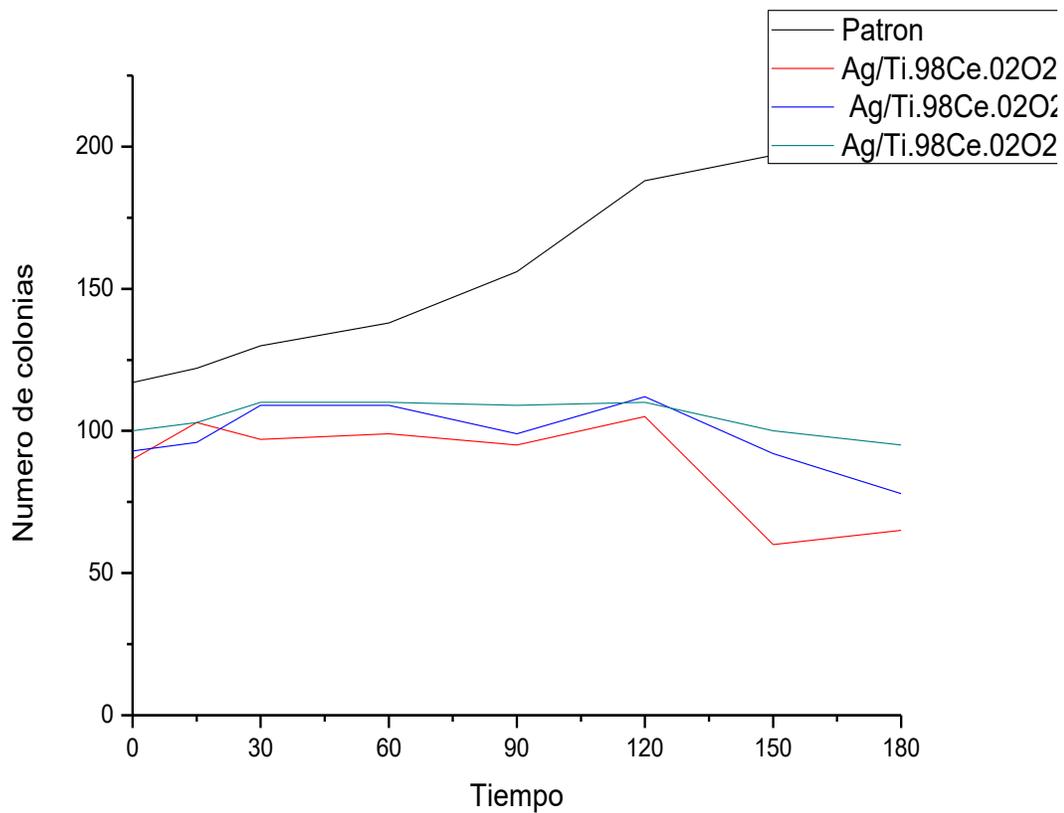
### 8.6.1.4 $Ti_{0.96}Ce_{0.04}O_2$

Patrón	$Ti_{0.96}Ce_{0.04}O_2$ (1)	$Ti_{0.96}Ce_{0.04}O_2$ (2)	$Ti_{0.96}Ce_{0.04}O_2$ (3)
117	99	102	100
122	112	106	108
130	110	112	114
138	122	117	116
156	145	137	128
188	110	106	120
197	107	99	102
216	122	116	103



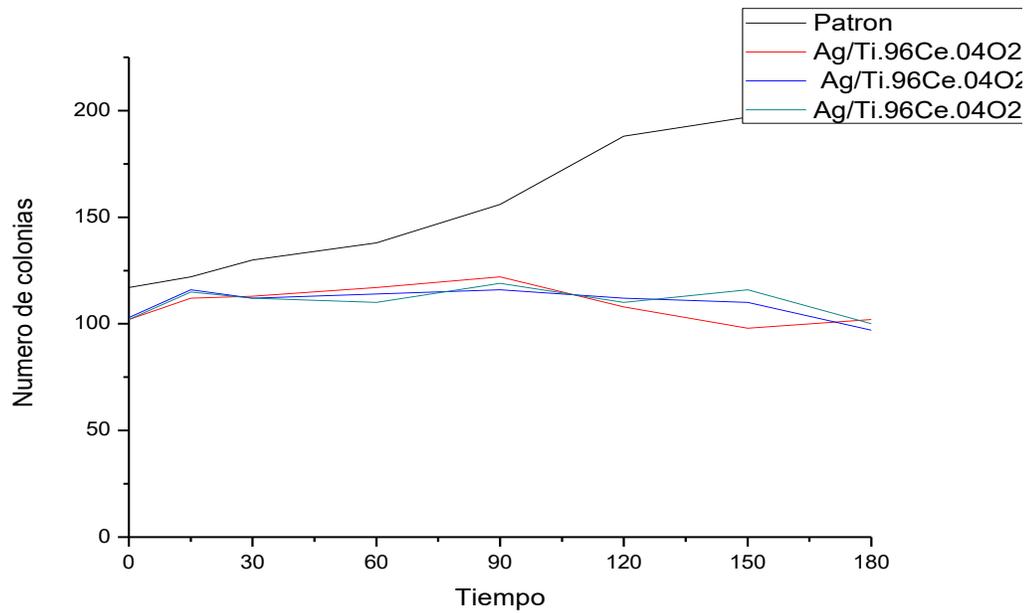
### 8.6.1.5 Ag/Ti<sub>0.98</sub>Ce<sub>0.02</sub>O<sub>2</sub>

Patrón	Ag/Ti <sub>0.98</sub> Ce <sub>0.02</sub> O <sub>2</sub> (1)	Ag/Ti <sub>0.98</sub> Ce <sub>0.02</sub> O <sub>2</sub> (2)	Ag/Ti <sub>0.98</sub> Ce <sub>0.02</sub> O <sub>2</sub> (3)
117	90	93	100
122	103	96	103
130	97	109	110
138	99	109	110
156	95	99	109
188	105	112	110
197	60	92	100
216	65	78	95



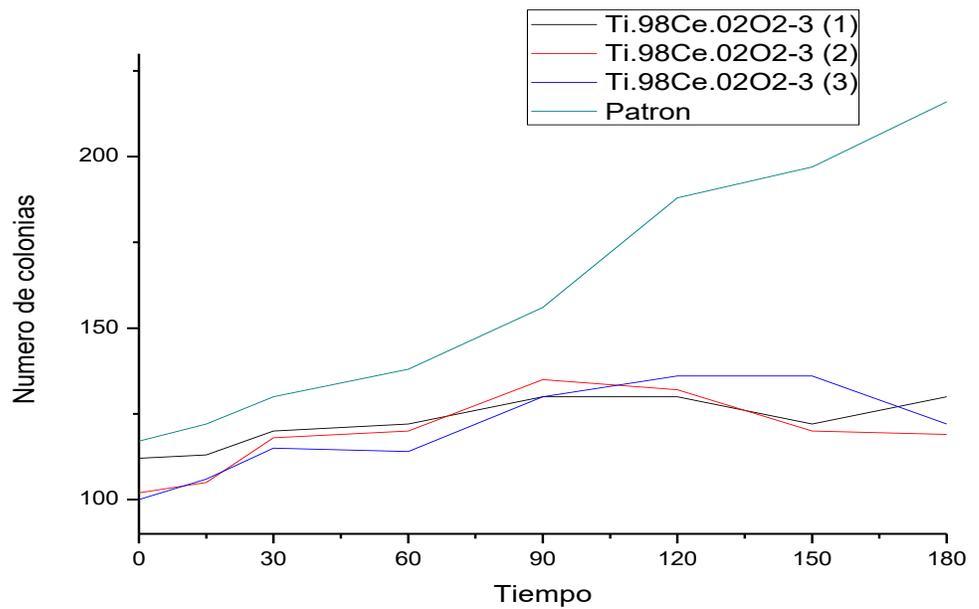
### 8.6.1.6 Ag/Ti<sub>0.96</sub>Ce<sub>0.04</sub>O<sub>2</sub>

Patron	Ag/Ti <sub>0.96</sub> Ce <sub>0.04</sub> O <sub>2</sub> (1)	Ag/Ti <sub>0.96</sub> Ce <sub>0.04</sub> O <sub>2</sub> (2)	Ag/Ti <sub>0.96</sub> Ce <sub>0.04</sub> O <sub>2</sub> (3)
117	102	103	102
122	112	116	115
130	113	112	112
138	117	114	110
156	122	116	119
188	108	112	110
197	98	110	116
216	102	97	100



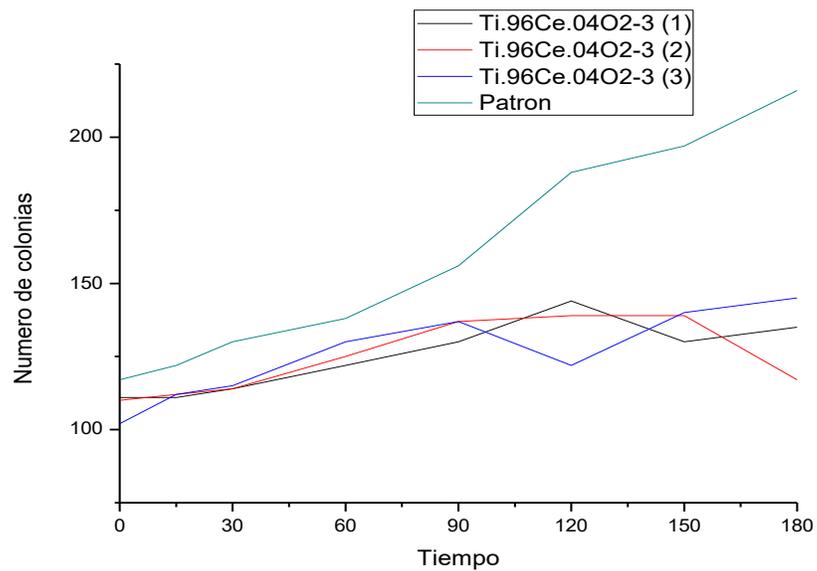
### 8.6.1.7 Ag/Ti<sub>0.98</sub>Ce<sub>0.02</sub>O<sub>2</sub> PLATA 3%

Patrón	Ti <sub>0.98</sub> Ce <sub>0.02</sub> O <sub>2</sub> (1)	Ti <sub>0.98</sub> Ce <sub>0.02</sub> O <sub>2</sub> (2)	Ti <sub>0.98</sub> Ce <sub>0.02</sub> O <sub>2</sub> (3)
117	112	102	100
122	113	105	106
130	120	118	115
138	122	120	114
156	130	135	130
188	130	132	136
197	122	120	136
216	130	119	122



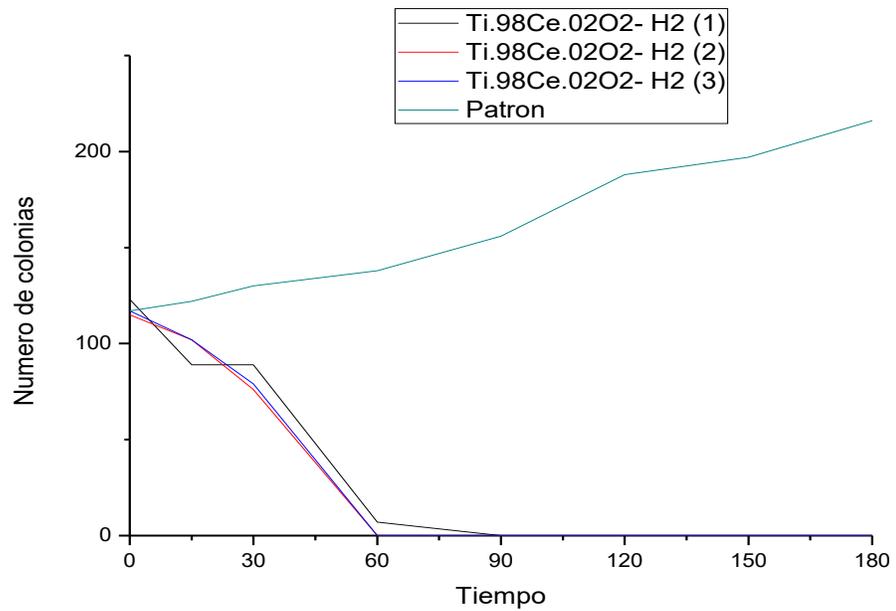
### 8.6.1.8 Ag/Ti<sub>0.96</sub>Ce<sub>0.04</sub>O<sub>2</sub> PLATA 3%

Patrón	Ti <sub>0.96</sub> Ce <sub>0.04</sub> O <sub>2</sub> (1)	Ti <sub>0.96</sub> Ce <sub>0.04</sub> O <sub>2</sub> (2)	Ti <sub>0.96</sub> Ce <sub>0.04</sub> O <sub>2</sub> (3)
117	111	110	102
122	111	112	112
130	114	114	115
138	122	125	130
156	130	137	137
188	144	139	122
197	130	139	140
216	135	117	145



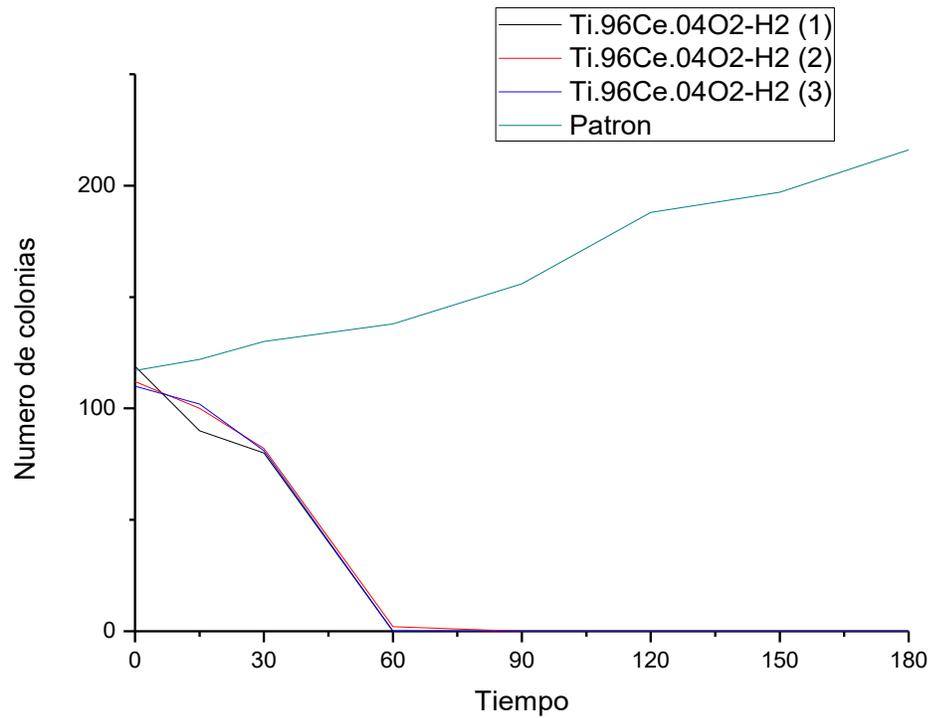
### 8.6.1.9 Ag/Ti<sub>0.98</sub>Ce<sub>0.02</sub>O<sub>2</sub> H<sub>2</sub>

Patrón	Ti <sub>0.98</sub> Ce <sub>0.02</sub> O <sub>2</sub> -H <sub>2</sub> (1)	Ti <sub>0.98</sub> Ce <sub>0.02</sub> O <sub>2</sub> -H <sub>2</sub> (2)	Ti <sub>0.98</sub> Ce <sub>0.02</sub> O <sub>2</sub> -H <sub>2</sub> (3)
117	123	115	117
122	89	102	102
130	89	76	79
138	7	0	0
156	0	0	0
188	0	0	0
197	0	0	0
216	0	0	0



### 8.6.1.10 Ag/Ti<sub>0.96</sub>Ce<sub>0.04</sub>O<sub>2</sub> H<sub>2</sub>

Patrón	Ti <sub>0.96</sub> Ce <sub>0.04</sub> O <sub>2</sub> -H <sub>2</sub> (1)	Ti <sub>0.96</sub> Ce <sub>0.04</sub> O <sub>2</sub> -H <sub>2</sub> (2)	Ti <sub>0.96</sub> Ce <sub>0.04</sub> O <sub>2</sub> -H <sub>2</sub> (3)
117	119	112	110
122	90	100	102
130	80	82	81
138	0	2	0
156	0	0	0
188	0	0	0
197	0	0	0
216	0	0	0

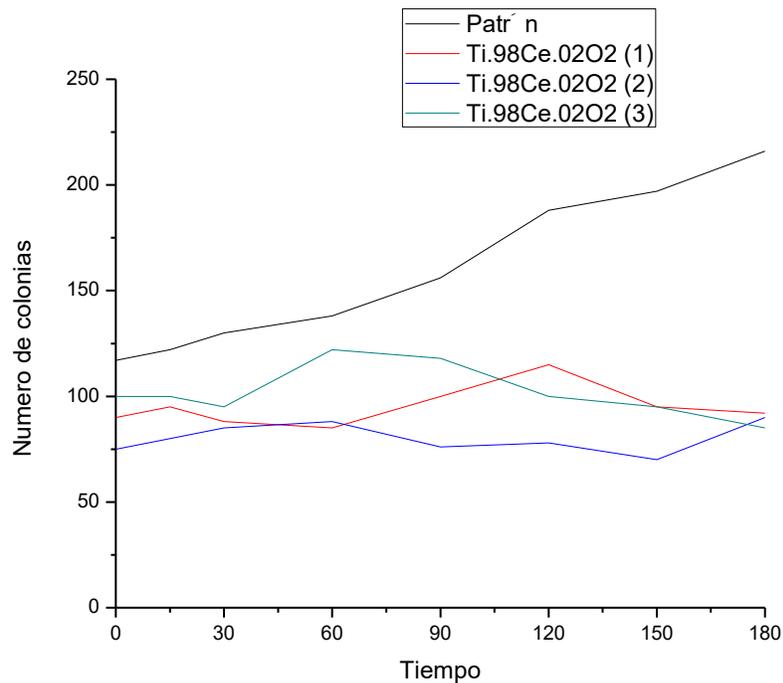


## 8.6.2 PRUEBAS CON LUZ VISIBLE

Se realizaron pruebas con una lámpara de luz blanca de 8W para determinar si la reducción de la banda prohibida podría mejorar el funcionamiento del material como bactericida.

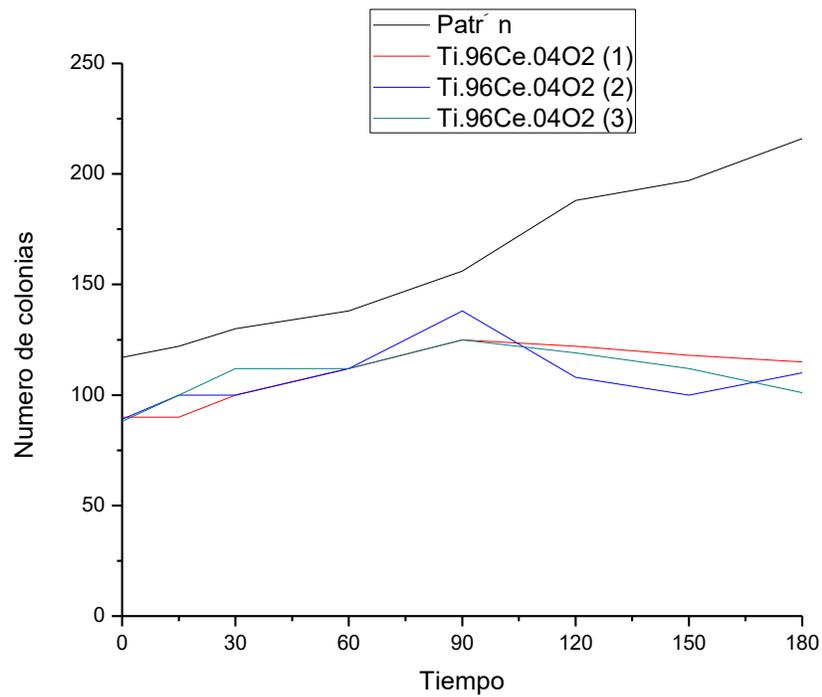
### 8.6.2.1 $Ti_{0.98}Ce_{0.02}O_2$

Pat rón	Ti.9	Ti.9	Ti.9
	8Ce.02O2 (1)	8Ce.02O2 (2)	8Ce.02O2 (3)
117	90	75	100
122	95	80	100
130	88	85	95
138	85	88	122
156	100	76	118
188	115	78	100
197	95	70	95
216	92	90	85



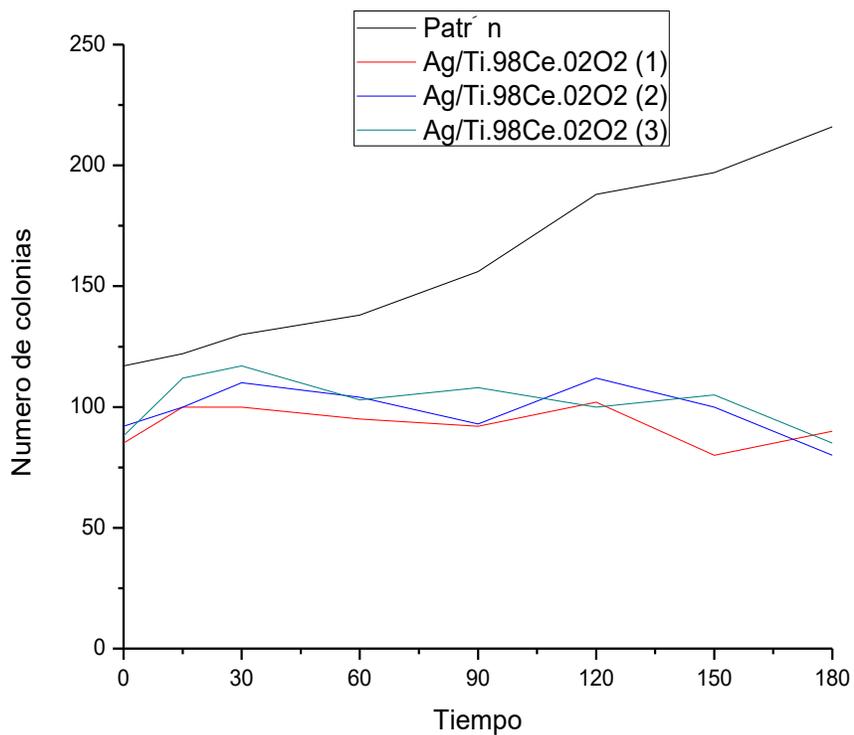
### 8.6.2.2 $Ti_{0.96}Ce_{0.04}O_2$

Patrón	$Ti_{0.96}Ce_{0.04}O_2$ (1)	$Ti_{0.96}Ce_{0.04}O_2$ (2)	$Ti_{0.96}Ce_{0.04}O_2$ (3)
117	90	89	88
122	90	100	100
130	100	100	112
138	112	112	112
156	125	138	125
188	122	108	119
197	118	100	112
216	115	110	101



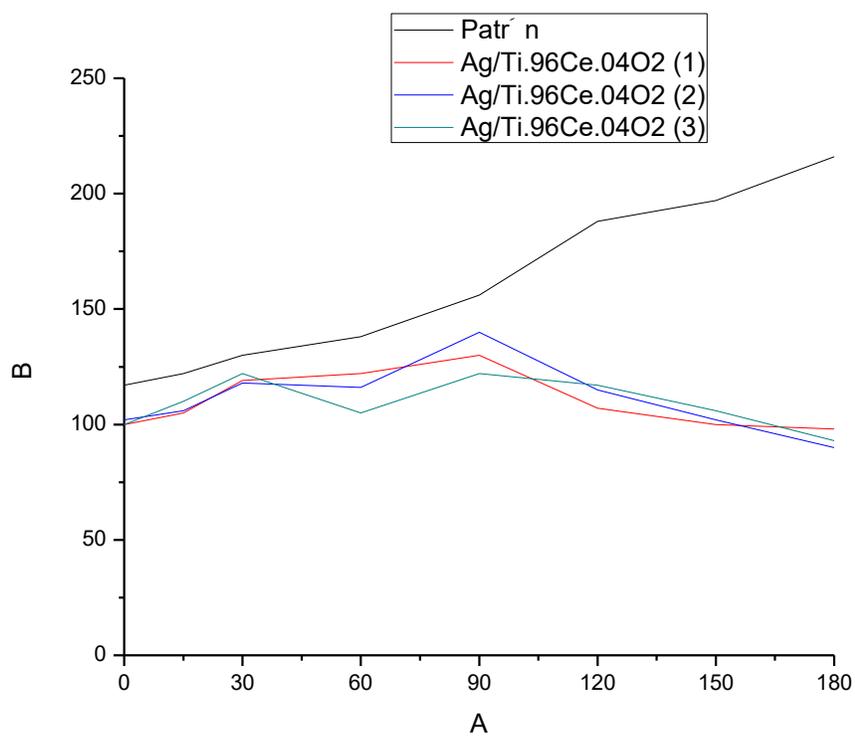
### 8.6.2.3 Ag/Ti<sub>0.98</sub>Ce<sub>0.02</sub>O<sub>2</sub>

Patrón	Ag/Ti <sub>0.98</sub> Ce <sub>0.02</sub> O <sub>2</sub> (1)	Ag/Ti <sub>0.98</sub> Ce <sub>0.02</sub> O <sub>2</sub> (2)	Ag/Ti <sub>0.98</sub> Ce <sub>0.02</sub> O <sub>2</sub> (3)
117	85	92	88
122	100	100	112
130	100	110	117
138	95	104	103
156	92	93	108
188	102	112	100
197	80	100	105
216	90	80	85



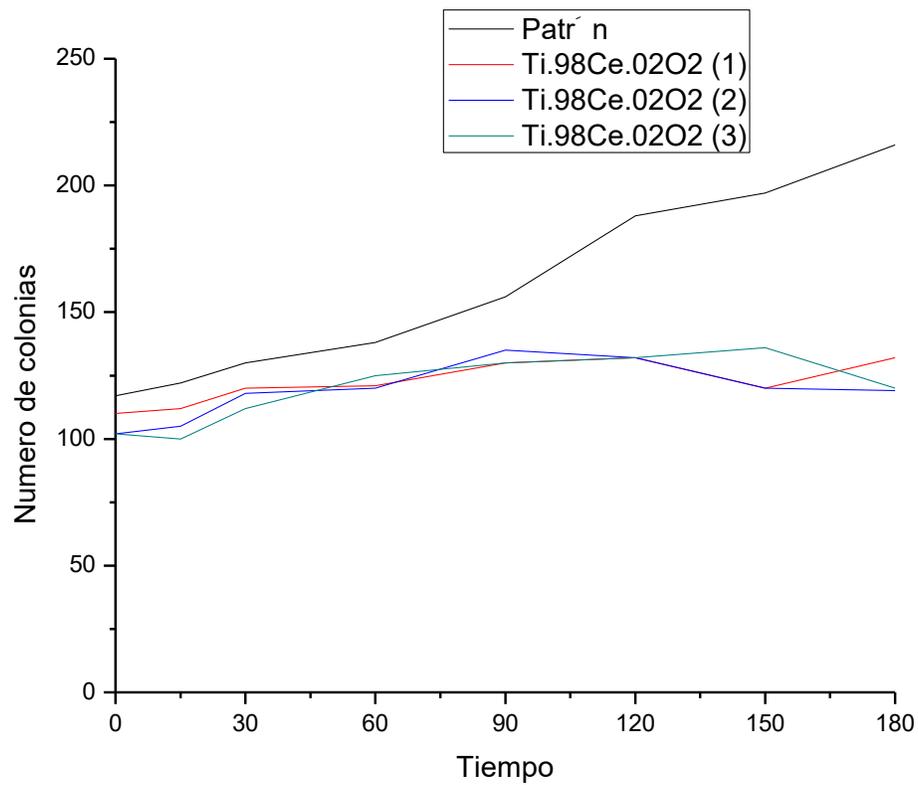
### 8.6.2.4 Ag/Ti<sub>0.96</sub>Ce<sub>0.04</sub>O<sub>2</sub>

Pat ron	Ag/Ti.9	Ag/Ti.9	Ag/Ti.9
	6Ce.04O2 (1)	6Ce.04O2 (2)	6Ce.04O2 (3)
117	100	102	100
122	105	106	110
130	119	118	122
138	122	116	105
156	130	140	122
188	107	115	117
197	100	102	106
216	98	90	93



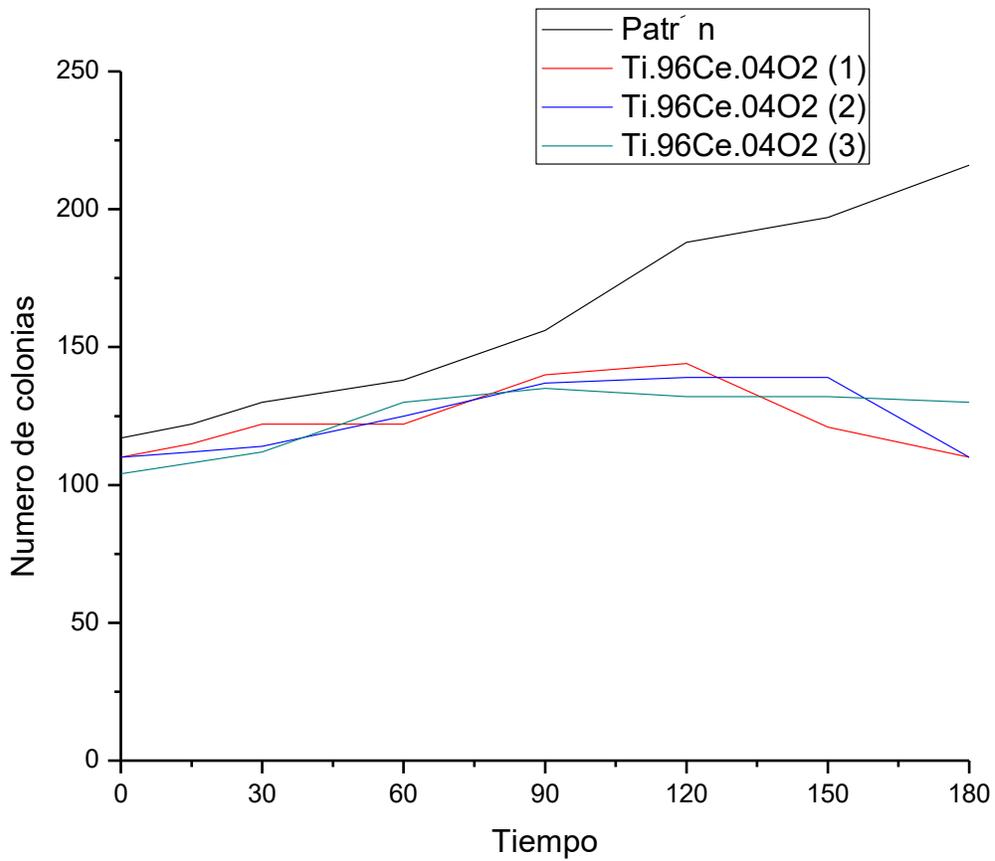
### 8.6.2.5 Ag/Ti<sub>0.98</sub>Ce<sub>0.02</sub>O<sub>2</sub> PLATA 3%

Patrón	Ti.98Ce.02O2 (1)	Ti.98Ce.02O2 (2)	Ti.98Ce.02O2 (3)
117	110	102	102
122	112	105	100
130	120	118	112
138	121	120	125
156	130	135	130
188	132	132	132
197	120	120	136
216	132	119	120



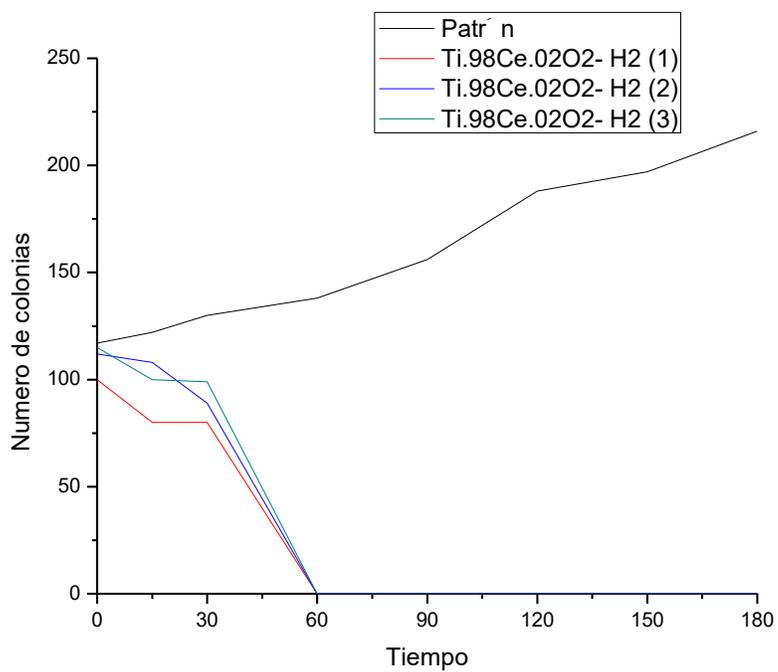
### 8.6.2.6 Ag/Ti<sub>0.96</sub>Ce<sub>0.04</sub>O<sub>2</sub> PLATA 3%

Patrón	Ti.96Ce.04O2 (1)	Ti.96Ce.04O2 (2)	Ti.96Ce.04O2 (3)
117	110	110	104
122	115	112	108
130	122	114	112
138	122	125	130
156	140	137	135
188	144	139	132
197	121	139	132
216	110	110	130



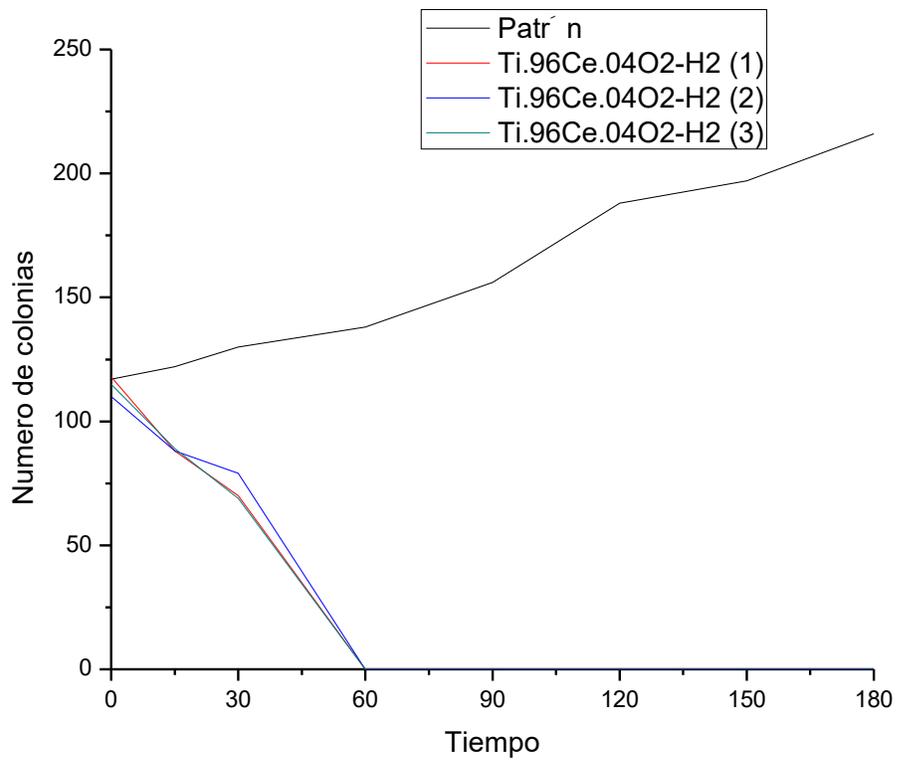
### 8.6.2.7 Ag/Ti<sub>0.98</sub>Ce<sub>0.02</sub>O<sub>2</sub> H<sub>2</sub>

Patrón	Ti.98Ce.02O2-H2 (1)	Ti.98Ce.02O2-H2 (2)	Ti.98Ce.02O2-H2 (3)
117	100	112	115
122	80	108	100
130	80	89	99
138	0	0	0
156	0	0	0
188	0	0	0
197	0	0	0
216	0	0	0



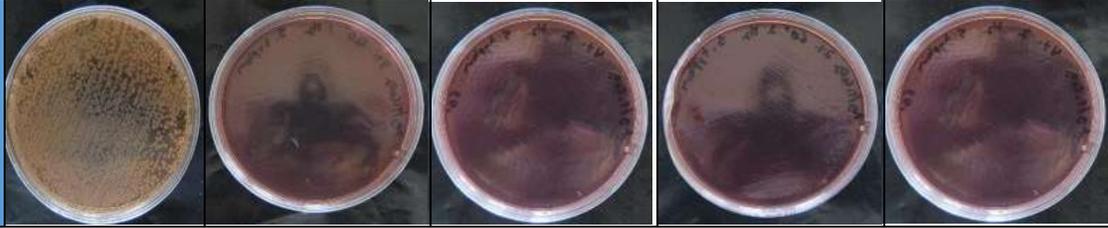
### 8.6.2.8 Ag/Ti<sub>0.96</sub>Ce<sub>0.04</sub>O<sub>2</sub> H<sub>2</sub>

Patrón	Ti.96Ce.04O2-H2 (1)	Ti.96Ce.04O2-H2 (2)	Ti.96Ce.04O2-H2 (3)
117	118	110	115
122	88	88	89
130	70	79	69
138	0	0	0
156	0	0	0
188	0	0	0
197	0	0	0
216	0	0	0



Tiempo	Patrón	Ag/Ti <sub>0.98</sub> Ce <sub>0.0</sub> 2O <sub>2</sub> H <sub>2</sub>	Ag/Ti <sub>0.96</sub> Ce <sub>0.0</sub> 4O <sub>2</sub> H <sub>2</sub>	Ag/Ti <sub>0.98</sub> Ce <sub>0.0</sub> 2O <sub>2</sub> H <sub>2</sub> Luz visible	Ag/Ti <sub>0.96</sub> Ce <sub>0.0</sub> 4O <sub>2</sub> H <sub>2</sub> Luz visible
0					
15					
30					
60					
90					
120					
150					

18  
0

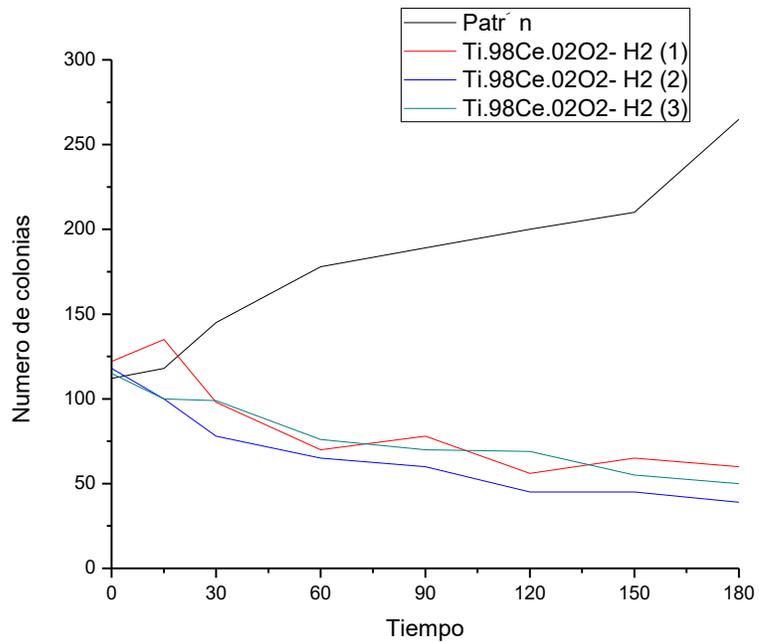


### 8.6.3 Staphylococcus aureus

Dados los resultados de los materiales impregnados con Ag y reducidos con hidrogeno, los cuales presentaron una inhibición al 100% contra la bacteria *Salmonella typhimurium*, se determinó probarlos con la bacteria gram positiva *Staphylococcus aureus* la cual es una bacteria altamente resistente obteniendo los siguientes resultados.

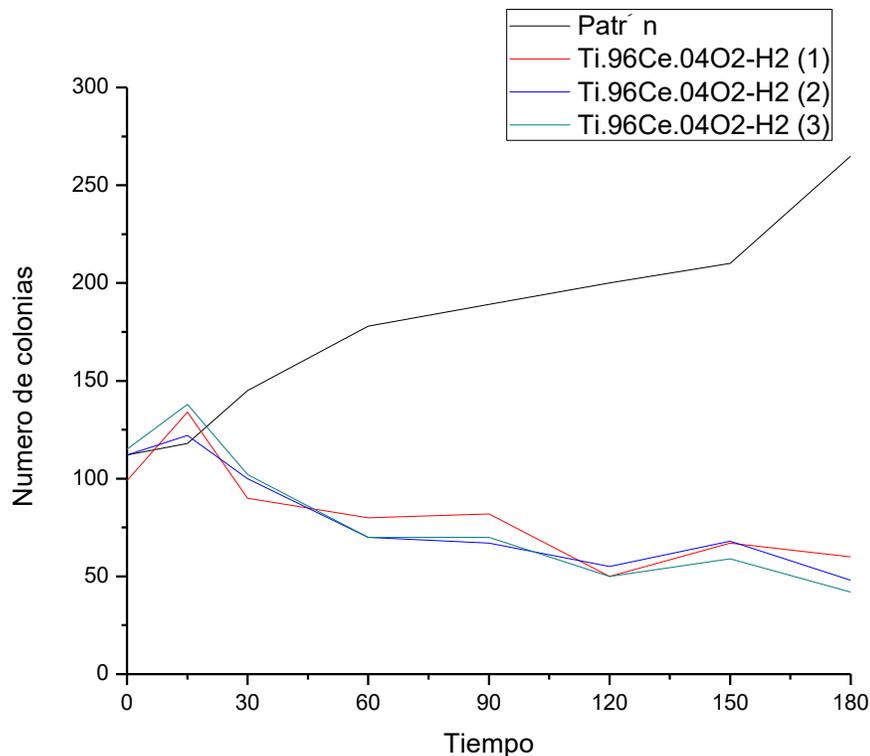
#### 8.6.3.1 Ag/Ti<sub>0.98</sub>Ce<sub>0.02</sub>O<sub>2</sub> H<sub>2</sub>

Patrón	Ti.98Ce.02O2-H2 (1)	Ti.98Ce.02O2-H2 (2)	Ti.98Ce.02O2-H2 (3)
112	122	118	115
118	135	100	100
145	98	78	99
178	70	65	76
189	78	60	70
200	56	45	69
210	65	45	55
265	60	39	50



### 8.6.3.2 Ag/Ti<sub>0.96</sub>Ce<sub>0.04</sub>O<sub>2</sub> H<sub>2</sub>

Patrón	Ti.96Ce.04O <sub>2</sub> -H <sub>2</sub> (1)	Ti.96Ce.04O <sub>2</sub> -H <sub>2</sub> (2)	Ti.96Ce.04O <sub>2</sub> -H <sub>2</sub> (3)
112	99	112	115
118	134	122	138
145	90	100	102
178	80	70	70
189	82	67	70
200	50	55	50
210	67	68	59
265	60	48	42



## 9 CONCLUSIONES

A través del desarrollo del presente proyecto fue posible lograr el objetivo principal de inhibir a las bacterias *salmonella typhimurium* y *Staphylococcus aureus*, siendo más efectivo la impregnación vía húmeda incipiente en la inhibición de *salmonella typhimurium* al eliminar en 100%; mientras que la reducción de alta dispersión solo logro detener su crecimiento, teniendo un efecto bacteriostático. Por lo tanto, se determina probar solo los materiales que presentaron el efecto bactericida contra la bacteria *Staphylococcus aureus* por su alta resistencia a los bactericidas, demostrando una disminución del crecimiento bacteriano y muerte a las 24 horas de exponer a la bacteria contra el material, para su prueba confirmatoria de eliminación.

El conjunto de resultados y su análisis nos permite formular las siguientes observaciones;

- Fue posible llevar a cabo la síntesis química del material propuesto a través del método de sol-gel asistido por microondas en un tiempo mucho menor que al método convencional de sol-gel.

- Fue posible soportar nanopartículas de plata por el método de vía húmeda incipiente sobre los soportes, mientras que en la reducción de alta dispersión es probable que la mayor cantidad de plata penetrara los poros del material la cual se depositó en su interior.
- Se observó que la cantidad de 1.5% de nanopartículas de plata (porcentaje en peso) fue suficiente para impregnar la totalidad de la superficie del soporte por el método de vía húmeda incipiente, mientras que en la reducción de alta dispersión se incrementó al 3% (porcentaje en peso) pero no logró hacer un cambio significativo en el crecimiento de la bacteria, lo que se concluye que el incremento de la cantidad de plata es insuficiente.
- Las pruebas con irradiación del espectro visible no presentaron una diferencia significativa con respecto a los materiales sin irradiar, el PH del medio de cultivo con la bacteria aumento de 5 a 6 en los materiales irradiados, presumiblemente por la liberación de radicales hidroxilos (OH), determinando que la impurificación química fue lograda, modificando las propiedades fotocatalíticas del material, pero aún no es suficiente para mostrar un efecto bactericida.
- Se obtuvieron resultados importantes en las gráficas de BET, para la cual se obtuvieron áreas superficiales entre 170 y 180 m<sup>2</sup>/g, y tamaños de poro entre 8 y 10 nm mientras que para los materiales impurificados a 4% con plata se observaron áreas superficiales de 48 m<sup>2</sup>/g, lo que significa una disminución del área.
- Como observación general, es recomendable continuar investigando cómo es posible mejorar los sistemas de soporte Ti<sub>x-1</sub>Ce<sub>x</sub>O<sub>2</sub> para mejorar sus propiedades fotocatalíticas e investigar la forma de las nanopartículas de plata para mejorar sus propiedades bactericidas.

## 10. BIBLIOGRAFÍA

1. Sanchez Gil, J. J. (2013). Síntesis y Estudios de Catalizadores Nanoestructurados de Óxido de Cerio soportado sobre Óxido de Magnesio con baja cantidad en Lantánido, 104.
2. Massey, R. C., Horsburgh, M. J., Lina, G., Höök, M. and Recker, M., The evolution and maintenance of virulence in *Staphylococcus aureus*: a role for host-to-host transmission?, *Nature Reviews Microbiology*, 4, 953-958, 2006.
3. Raúl Garza-Velasco,<sup>1</sup> \* Oliva Zúñiga-Rangel <sup>1</sup> y Luis Manuel Perea-Mejía (2013). La importancia clínica actual de *Staphylococcus aureus* en el ambiente intrahospitalario.
4. Edmundo Calva. *Salmonella typhi* y la fiebre tifoidea: de la biología molecular a la salud pública. *Instituto de Biotecnología, UNAM*.
5. Goldberg, M.B. & R.H. Rubin. 1988. The spectrum of *Salmonella* infection. *Infect. Dis. Clin. North. Am.*
6. Sarwari, A.R., L. S. Magder, P. Levine, A.M. McNamara, S. Kowner, G.L. Armstrong, R. Etzel, J. Hollingsworth & J.G. Morris, Jr. 2001. Serotype distribution of *Salmonella* isolates from food animals after slaughter differs from that of isolates found in humans. *J. Infect.*
7. Zaidi, M.B., P.F. McDermott, P. Fedorka-Cray, V. León, C. Canché, S.K. Hubert, J. Abbott, M. León, S. Zhao, M. Headrick, L. Tollefson. 2006. Non-typhoidal *Salmonella* from human clinical cases, asymptomatic children, and raw retail meats in Yucatan, Mexico. *Clin. Infect.*
8. Harbarth, S., Fankhauser, C., Schrenzel, J., Christenson, J., Gervaz, P., Bandiera-Clerc, C., Renzi, G., Vernaz, N., Sax H. and Pittet, D., Universal

screening for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* at hospital admission and nosocomial infection in surgical patients, *The Journal of the American Medical Association*, 299(10), 1149-1157, 2008.

9. Hugonnet, S., Sax, H., Eggimann, P., Chevrolet, J.C. and Pittet D., Nosocomial bloodstream infection and clinical sepsis, *Emerging Infectious Diseases Journal*, 10(1), 76-81, 2004
10. Optar, (2008). Síntesis y caracterización de nanopartículas de óxido de cerio dopado con itrio”.
11. Pulido-Reyes, G., Rodea-Palomares, I., Das, S., Sakthivel, T. S., Leganes, F., Rosal, R., ... Fernández-Pinãs, F. (2015). Untangling the biological effects of cerium oxide nanoparticles: The role of surface valence states. *Scientific Reports*, 5, 1–14.
12. Verónica Janette Cedeño Garcidueñas (2011). Tesis Estudio de Degradación de Lignina Asistida por por Fotosemiconductores  $TiO_2$ ,  $CeO_2$ ,  $Bi_2MoO_6$  y  $Bi_2W_2O_9$  Impurificados con Nitrógeno en Presencia de Energía UV y visible.
13. Josué Daniel García Espinoza. (2011). Tesis Síntesis de Estructuras Mesoporosas de  $NyTi_{1-x}CexO_2$ -y y su Actividad Fotocatalítica en la Degradación de Lignina, 1–119.

14. Shameli, K., Ahmad, M. Bin, Jazayeri, S. D., Shabanzadeh, P., Sangpour, P., Jahangirian, H., & Gharayebi, Y. (2012). Investigation of antibacterial properties silver nanoparticles prepared via green method. *Chemistry Central Journal*, 6(1), 469. <https://doi.org/10.1186/1752-153X-6-73>
15. Zhong, H. X., Wei, Y., Yue, Y. Z., Zhang, L. H., & Liu, Y. (2016). Preparation of core-shell Ag@CeO<sub>2</sub>nanocomposite by LSPR photothermal induced interface reaction. *Nanotechnology*, 27(13), 135701. <https://doi.org/10.1088/0957-4484/27/13/135701>
16. Kasinathan, K., Kennedy, J., Elayaperumal, M., Henini, M., & Malik, M. (2016). Photodegradation of organic pollutants RhB dye using UV simulated sunlight on ceria based TiO<sub>2</sub>nanomaterials for antibacterial applications. *Scientific Reports*, 6(1), 38064. <https://doi.org/10.1038/srep38064>
17. Chinnamuthu, P., Dhar, J. C., Mondal, A., Bhattacharyya, A., & Singh, N. K. (2012). Ultraviolet detection using TiO<sub>2</sub> nanowire array with Ag Schottky contact. *Journal of Physics D: Applied Physics*, 45(13), 135102. <https://doi.org/10.1088/0022-3727/45/13/135102>
18. Beranová, J., Seydlová, G., Kozak, H., Benada, O., Fišer, R., Artemenko, A., ... Kromka, A. (2014). Sensitivity of bacteria to diamond nanoparticles of various size differs in gram-positive and gram-negative cells. *FEMS Microbiology Letters*, 351(2), 179–186. <https://doi.org/10.1111/1574-6968.12373>
19. Bekkum H., Flanigen E., *Studies in Surface Science and Catalysis*; Elsevier Science B., 1991, 58-59.

20. Beveridge, D. L.; Cheatham, T. E.; Mezei, M. *J Biosciences* 2012, 37, (3), 379-397.
21. Cervantes C., Bacterias que expulsan metales pesados. *Información Científica y Tecnológica*, 1992, 14, 13-17.
22. Cervantes C., Minerales que expulsan metales pesados. Instituto de Investigaciones Químico-Biológicas, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. *SPECTRA*, 1992.
23. Damm C., Münnstedt H., Rösch A., The antimicrobial efficacy of polyamide 6/silver-nano and microcomposites. *Materials Chemistry and Physics*, 2008, 108, 61-66.
24. Enrique Lima, Roberto Guerra, Víctor Lara, Ariel Guzmán, Gold nanoparticles as efficient antimicrobial agents for *Escherichia coli* and *Salmonella typhi* *Chemistry Central Journal*, 2013, 7:11.
25. NOM-002-SEMARNAT-1996, Norma Oficial Mexicana que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las recargas de aguas residuales a los sistemas de alcantarillado urbano o municipal, 1998.
26. NOM-127-SSA1-1994, Norma Oficial Mexicana, Salud ambiental, agua para uso y consumo humano-Límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización, 1995.

27. Panáček A., Kvítek L., Pruček R., Kolár M., Vecerová R., Pizúrová N. et al., Silver colloid nanoparticles: synthesis, characterization, and their antibacterial activity. *Journal of Physical Chemistry B*, 2006, 110, 16248-16253.
28. Roberto Guerra, Enrique Lima, Margarita Viniegra, Ariel Guzmán, Víctor Lara, Growth of *Escherichia coli* and *Salmonella typhi* inhibited by fractal silver nanoparticles supported on zeolites, Microporous and Mesoporous Material, 2012, 147, 267-273.
29. Roberto Guerra, Enrique Lima, Ariel Guzmán, Antimicrobial supported nanoparticles: Gold versus silver for the cases of *Escherichia coli* and *Salmonella typhi*, Microporous and Mesoporous Material, 2013, 170, 62-66.
30. Shaw C.F. III. Gold complexes with anti-arthritis, antitumoral and anti-HIV activity, in uses of inorganic chemistry in medicine, Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK, 26-57, 1999.
31. Silver S., Bacterial silver resistance: molecular biology and uses and misuses of silver compounds, *FEMS Microbiology*, 2003, 27, 341-354.
32. Silver S., Bacterial interactions with mineral cations and anions: good ions and bad, Eds. P. Westbroek & W. Jong, 1983, 439-457.
33. Silver S., Misra T., Laddaga R., ADN sequence analysis of bacterial toxic heavy metal resistances, *Biological Trace Element Research*, Humana Press Inc., 1989, 21, 145-163.

34. Stoimenov, P. K., Klinger, R. L., Marchin, G. L., Klabunde, K. J., Metal oxide nanoparticles as bactericidal agents. *Langmuir*, 18,6679-6686(2002).
35. Stobie N., Duffy B., McCormack D., Colreavy J., Hidalgo M., McHale P. et al., Prevention of *Staphylococcus epidermidis* biofilm formation using a low-temperature processed silver-doped phenyltriethoxysilane sol-gel coating. *Biomaterials*, 2008, 29, 963-972.
36. Thurman R., Gerba C., The molecular mechanisms of copper and silver ion disinfection of bacteria and viruses, *Critical Reviews of environmental control*, 1989, 18, 295-315.
37. Tortora G., Berdell R. Funke, Christine L. Case, *Introducción a la microbiología*, 9a edición, Ed. Médica Panamericana, 2007, 69-89.
38. Yan J., Cheng J., Antimicrobial yarn having nanosilver particles and methods for manufacturing the same. 2005, US 6979491.
39. Pulido-Reyes, G.; Rodea-Palomares, I.; Das, S.; Sakthivel, T. S.; Leganes, F.; Rosal, R.; Seal, S. & Fernández-Piñas, F. Untangling the biological effects of cerium oxide nanoparticles: the role of surface valence states. *Scientific Reports*, 2015, 5: 15613. doi: 10.1038/srep15613
40. Lin, K.-S. & Chowdhury, S. (2010). Synthesis, characterization, and application of 1-d cerium oxide nanomaterials: a review. *Int. J. Mol. Sci.*, 11(9), 3226-3251.

41. Solanki, P. R., Dhand, C., Kaushik, A., Ansari, A. A., Sood, K. N. & Malhotra, B. D. (2009). Nanostructured cerium oxide film for triglyceride sensor. *Sens. and Act. B: Chem.*, 141(2), 551-556.
42. Salazar, G.R., Moraes, S.R., Motheo, A. J. & Machado, S. A. S. (2009). Anticorrosive cerium-based coatings prepared by the sol-gel method. *J. Sol-Gel Sci. Techn.* 52(3), 415-423.
43. Mendoza, E. & García, C. (2007). Recubrimientos por sol-gel sobre sustratos de Acero inoxidable, revisión del estado del arte. *DYNA*, 74, 101-110.
44. Rahman, M.M., Saleh Ahammad, J., Jin, J.-H., Ahn, S. J. & Lee J.-J. (2010). A comprehensive review of glucose biosensors based on nanostructured metal-oxides. *Sensors*, 10(5), 4855-4886.
45. Štangar, U. L., Opara, U. & Orel, B. (1997). Structural and Electrochemical Properties of Sol-Gel Derived Mo: CeO<sub>2</sub>, Si: Mo: CeO<sub>2</sub> and Si : CeO<sub>2</sub> Nanocrystalline Films for Electrochromic Devices. *J. Sol-Gel Sci. Techn.*, 8(1-3), 751-758.
46. Zhu Z-, Long Z-, Cui D-, Zhang S-, Zhang G-. Preparation of ultra-fine particle-sized CeO<sub>2</sub> powder and its UV absorbance. *Zhongguo Youse Jinshu Xuebao* 2005;15(3):435-40.

47. Ivanov VK, Polezhaeva OS, Tret'Yakov YD. Nanocrystalline ceria: Synthesis, structure-sensitive properties, and promising applications. Russ J Gen Chem 2010;80(3):604-17.

## APÉNDICE A

Ficha cristalográfica TiO<sub>2</sub> anatasa.

84-1286	Quality: C	TiO <sub>2</sub>
CAS Number:		Titanium Oxide
Molecular Weight: 79.90		Ref: Calculated from ICSD using POWD-12++, (1997)
Volume[CD]: 135.93		Ref: Burdett, J.K et al., J. Am. Chem. Soc., 109, 3639 (1987)
Dx: 3.904	Dm:	
Sys: Tetragonal		
Lattice: Body-centered		
S.G.: I4 <sub>1</sub> /amd (141)		
Cell Parameters:		
a 3.782	b	c 9.502
$\alpha$	$\beta$	$\gamma$
I/Cor: 5.05		
Rad: CuK $\alpha$ 1		
Lambda: 1.54060		
Filter:		
d-sp: calculated		
ICSD #: 202243		
Mineral Name:		
Anatase - synthetic		
Non-Ambient Temperature		

2 $\theta$	Int-f	h	k	l	2 $\theta$	Int-f	h	k	l	2 $\theta$	Int-f	h	k	l
25.324	999*	1	0	1	62.163	27	2	1	3	78.752	1	2	0	6
36.988	62	1	0	3	62.748	118	2	0	4	80.857	4	0	0	8
37.840	190	0	0	4	68.840	51	1	1	6	82.233	6	3	0	3
38.600	72	1	1	2	70.344	55	2	2	0	82.756	43	2	2	4
48.073	249	2	0	0	74.153	5	1	0	7	83.230	18	3	1	2
53.950	158	1	0	5	75.127	85	2	1	5					
55.104	155	2	1	1	76.098	23	3	0	1					

## APÉNDICE B

### SINTESIS SOL-GEL ASISTIDA POR MICROONDAS:

Cálculos:

Compuesto	Peso Molecular	DENSIDAD
Propóxido de titanio	284.26 g/mol	1.04g/mL
Acetato de cerio	317.26 g/mol	
Ti <sub>0.98</sub> Ce <sub>0.02</sub> O <sub>2</sub>	81.74 g/mol	
ETILENGLICOL	62.07 g/mol	1.112g/mL

Para 5 gramos de Ti<sub>1-x</sub>Ce<sub>x</sub>O<sub>2</sub>:

$$n = \frac{5 \text{ g}}{81.74 \text{ g/mol}} = 0.0612 \text{ mol} \quad (317.26 \text{ g/mol})(0.02) = 0.388326 \text{ g}$$

Gramos reales de acetato de cerio:

$$G \text{ reales} = \frac{0.388 \text{ g}}{0.99} = 0.389 \text{ g}$$

$$n = \frac{5 \text{ g}}{81.74 \text{ g/mol}} = 0.0612 \text{ mol} \quad (284.26 \text{ g/mol})(0.98) = 17.048 \text{ g}$$

Gramos reales de propóxido de titanio:

$$G \text{ reales} = \frac{17.048 \text{ g}}{0.98} = 17.4 \text{ g}$$

$$V = \frac{17.4 \text{ g}}{1.04 \text{ g/mL}} = 16.7 \text{ mL de propóxido de titanio}$$

ETILENGLICOL:

$$0.0612 \text{ moles} \times 62.07 \text{ g/mol} = 3.79 \text{ g}$$

$$3.79 \text{ g} \times 1.2 = 4.56 \text{ g}$$

$$V = \frac{4.56 \text{ g}}{1.112 \text{ g/mL}} = 4.1 \text{ mL de etilenglicol en 45 mL de H}_2\text{O}$$

Compuesto	Peso Molecular	DENSIDAD
Nitrato de plata	169.89g/mol	4.35g/cm <sup>3</sup>

Plata 107.87g/mol

$1.5\%/100\% = 0.015$

$Ag = 3g (0.015) = 0.045g$

Moles de plata de plata =  $0.045g/107.87g/mol = 0.000417 \text{ mol}$

PM/PUREZA =  $169.89/0.9999 = 169.89$

Gramos de sal

Nitrato de plata =  $169.89 (0.000417) = 0.070g$  de Nitrato de Plata

$3g - 0.070g = 2.93g$  de  $TiO_2$ .

**APÉNDICE C**  
**Salmonella typhiurium**  
**Pruebas sin luz visible**

Patrón	Ti <sub>.98</sub> Ce <sub>.02</sub> O <sub>2</sub> (1)	Ti <sub>.98</sub> Ce <sub>.02</sub> O <sub>2</sub> (2)	Ti <sub>.98</sub> Ce <sub>.02</sub> O <sub>2</sub> (3)	Promedio	Incertidum bre
117	100	75	102	92.3333333	15.0
122	99	78	104	93.6666667	13.8
130	90	85	97	90.6666667	6.0
138	85	92	118	98.3333333	17.4
156	100	78	122	100	22.0
188	100	80	105	95	13.2
197	78	60	100	79.3333333	20.0
216	92	80	90	87.3333333	6.4

Patrón	Ti <sub>.96</sub> Ce <sub>.04</sub> O <sub>2</sub> (1)	Ti <sub>.96</sub> Ce <sub>.04</sub> O <sub>2</sub> (2)	Ti <sub>.96</sub> Ce <sub>.04</sub> O <sub>2</sub> (3)	Promedio	Incertidum bre
117	99	102	100	100.3333333	1.5
122	112	106	108	108.6666667	3.1
130	110	112	114	112	2.0
138	122	117	116	118.3333333	3.2
156	145	137	128	136.6666667	8.5
188	110	106	120	112	7.2
197	107	99	102	102.6666667	4.0
216	122	116	103	113.6666667	9.7

Patrón	Ag/Ti <sub>.98</sub> Ce <sub>.02</sub> O <sub>2</sub> (1)	Ag/Ti <sub>.98</sub> Ce <sub>.02</sub> O <sub>2</sub> (2)	Ag/Ti <sub>.98</sub> Ce <sub>.02</sub> O <sub>2</sub> (3)	Promedio	Incertidum bre
117	90	93	100	94.3333333	5.1
122	103	96	103	100.6666667	4.0
130	97	109	110	105.3333333	7.2
138	99	109	110	106	6.1
156	95	99	109	101	7.2
188	105	112	110	109	3.6
197	60	92	100	84	21.2
216	65	78	95	79.3333333	15.0

Patron	Ag/Ti. <sub>96</sub> Ce. <sub>04</sub> O <sub>2</sub> (1)	Ag/Ti. <sub>96</sub> Ce. <sub>04</sub> O <sub>2</sub> (2)	Ag/Ti. <sub>96</sub> Ce. <sub>04</sub> O <sub>2</sub> (3)	Promedio	Incertidum bre
117	102	103	102	102.333333	0.6
122	112	116	115	114.333333	2.1
130	113	112	112	112.333333	0.6
138	117	114	110	113.666667	3.5
156	122	116	119	119	3.0
188	108	112	110	110	2.0
197	98	110	116	108	9.2
216	102	97	100	99.666667	2.5

Patrón	Ti. <sub>98</sub> Ce. <sub>0</sub> 2O <sub>2</sub> (1)	Ti. <sub>98</sub> Ce. <sub>0</sub> 2O <sub>2</sub> (2)	Ti. <sub>98</sub> Ce. <sub>0</sub> 2O <sub>2</sub> (3)	Promedio	Incertidumbre
117	112	102	100	104.666667	6.4
122	113	105	106	108	4.4
130	120	118	115	117.666667	2.5
138	122	120	114	118.666667	4.2
156	130	135	130	131.666667	2.9
188	130	132	136	132.666667	3.1
197	122	120	136	126	8.7
216	130	119	122	123.666667	5.7

Patrón	Ti. <sub>96</sub> Ce. <sub>0</sub> 4O <sub>2</sub> (1)	Ti. <sub>96</sub> Ce. <sub>0</sub> 4O <sub>2</sub> (2)	Ti. <sub>96</sub> Ce. <sub>0</sub> 4O <sub>2</sub> (3)	Promedio	Incertidum bre
117	111	110	102	107.666667	4.9
122	111	112	112	111.666667	0.6
130	114	114	115	114.333333	0.6
138	122	125	130	125.666667	4.0
156	130	137	137	134.666667	4.0
188	144	139	122	135	11.5
197	130	139	140	136.333333	5.5
216	135	117	145	132.333333	14.2

Patrón	Ti.98Ce.0 2O2- H2 (1)	Ti.98Ce.0 2O2- H2 (2)	Ti.98Ce.0 2O2- H2 (3)	Promedio	Incertidumbre
117	123	115	117	118.333333	4.2
122	89	102	102	97.666667	7.5
130	89	76	79	81.333333	6.8
138	7	0	0	2.333333	4.0
156	0	0	0	0	0.0
188	0	0	0	0	0.0
197	0	0	0	0	0.0
216	0	0	0	0	0.0

Patrón	Ti.96Ce.0 4O2-H2 (1)	Ti.96Ce.0 4O2-H2 (2)	Ti.96Ce.0 4O2-H2 (3)	Promedio	Incertidumbre
117	119	112	110	113.666667	4.7
122	90	100	102	97.333333	6.4
130	80	82	81	81	1.0
138	0	2	0	0.666667	1.2
156	0	0	0	0	0.0
188	0	0	0	0	0.0
197	0	0	0	0	0.0
216	0	0	0	0	0.0

### Pruebas con luz visible

Patrón	Ti. <sub>98</sub> Ce. <sub>02</sub> O <sub>2</sub> (1)	Ti. <sub>98</sub> Ce. <sub>02</sub> O <sub>2</sub> (2)	Ti. <sub>98</sub> Ce. <sub>02</sub> O <sub>2</sub> (3)	Promedio	Incertidumbre
117	90	75	100	88.333333	12.6
122	95	80	100	91.666667	10.4
130	88	85	95	89.333333	5.1
138	85	88	122	98.333333	20.6
156	100	76	118	98	21.1
188	115	78	100	97.666667	18.6
197	95	70	95	86.666667	14.4
216	92	90	85	89	3.6

Patrón	Ti <sub>0.96</sub> Ce <sub>0.04</sub> O <sub>2</sub> (1)	Ti <sub>0.96</sub> Ce <sub>0.04</sub> O <sub>2</sub> (2)	Ti <sub>0.96</sub> Ce <sub>0.04</sub> O <sub>2</sub> (3)	Promedio	Incertidum bre
117	90	89	88	89	1.0
122	90	100	100	96.6666667	5.8
130	100	100	112	104	6.9
138	112	112	112	112	0.0
156	125	138	125	129.3333333	7.5
188	122	108	119	116.3333333	7.4
197	118	100	112	110	9.2
216	115	110	101	108.6666667	7.1

Patrón	Ag/Ti <sub>0.98</sub> Ce <sub>0.02</sub> O <sub>2</sub> (1)	Ag/Ti <sub>0.98</sub> Ce <sub>0.02</sub> O <sub>2</sub> (2)	Ag/Ti <sub>0.98</sub> Ce <sub>0.02</sub> O <sub>2</sub> (3)	Promedio	Incertidum bre
117	85	92	88	88.33333333	3.5
122	100	100	112	104	6.9
130	100	110	117	109	8.5
138	95	104	103	100.6666667	4.9
156	92	93	108	97.6666667	9.0
188	102	112	100	104.6666667	6.4
197	80	100	105	95	13.2
216	90	80	85	85	5.0

Patron	Ag/Ti <sub>0.96</sub> Ce <sub>0.04</sub> O <sub>2</sub> (1)	Ag/Ti <sub>0.96</sub> Ce <sub>0.04</sub> O <sub>2</sub> (2)	Ag/Ti <sub>0.96</sub> Ce <sub>0.04</sub> O <sub>2</sub> (3)	Promedio	Incertidum bre
117	100	102	100	100.6666667	1.2
122	105	106	110	107	2.6
130	119	118	122	119.6666667	2.1
138	122	116	105	114.3333333	8.6
156	130	140	122	130.6666667	9.0
188	107	115	117	113	5.3
197	100	102	106	102.6666667	3.1
216	98	90	93	93.6666667	4.0

Patrón	Ti.98Ce.0 2O2 (1)	Ti.98Ce.0 2O2 (2)	Ti.98Ce.0 2O2 (3)	Promedio	Incertidum bre
117	110	102	102	104.666667	4.6
122	112	105	100	105.666667	6.0
130	120	118	112	116.666667	4.2
138	121	120	125	122	2.6
156	130	135	130	131.666667	2.9
188	132	132	132	132	0.0
197	120	120	136	125.333333	9.2
216	132	119	120	123.666667	7.2

Patrón	Ti.96Ce.0 4O2 (1)	Ti.96Ce.0 4O2 (2)	Ti.96Ce.0 4O2 (3)	Promedio	Incertidum bre
117	110	110	104	108	3.5
122	115	112	108	111.666667	3.5
130	122	114	112	116	5.3
138	122	125	130	125.666667	4.0
156	140	137	135	137.333333	2.5
188	144	139	132	138.333333	6.0
197	121	139	132	130.666667	9.1
216	110	110	130	116.666667	11.5

Patrón	Ti.98Ce.0 2O2- H2 (1)	Ti.98Ce.0 2O2- H2 (2)	Ti.98Ce.0 2O2- H2 (3)	Promedio	Incertidum bre
117	100	112	115	109	7.9
122	80	108	100	96	14.4
130	80	89	99	89.333333	9.5
138	0	0	0	0	0.0
156	0	0	0	0	0.0
188	0	0	0	0	0.0
197	0	0	0	0	0.0
216	0	0	0	0	0.0

Patrón	Ti.96Ce.0 4O2-H2 (1)	Ti.96Ce.0 4O2-H2 (2)	Ti.96Ce.0 4O2-H2 (3)	Promedio	Incertidum bre
117	118	110	115	114.333333	4.0
122	88	88	89	88.333333	0.6
130	70	79	69	72.666667	5.5
138	0	0	0	0	0.0
156	0	0	0	0	0.0
188	0	0	0	0	0.0
197	0	0	0	0	0.0
216	0	0	0	0	0.0

Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas iguales		
	<i>Ti.98Ce.02O2- H2</i>	<i>Ti.96Ce.04O2-H2</i>
Media	37.45833333	36.58333333
Varianza	2705.299603	2606.944444
Observaciones	8	8
Varianza agrupada	2656.122024	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	14	
Estadístico t	0.033955805	
P(T<=t) una cola	0.486695885	
Valor crítico de t (una cola)	1.761310136	
P(T<=t) dos colas	0.97339177	
Valor crítico de t (dos colas)	2.144786688	
Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas iguales		
	Prueba con luz visible	
	<i>Ti.98Ce.02O2- H2</i>	<i>Ti.96Ce.04O2-H2</i>
Media	36.79166667	36.58333333
Varianza	2606.918651	2606.944444
Observaciones	8	8
Varianza agrupada	2606.931548	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	14	
Estadístico t	0.008160635	
P(T<=t) una cola	0.496801988	
Valor crítico de t (una cola)	1.761310136	
P(T<=t) dos colas	0.993603975	
Valor crítico de t (dos colas)	2.144786688	

Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas iguales		
	Sin luz visible	Con luz visible
Media	37.0208333	35.6041667
Varianza	2479.25139	2330.01806
Observaciones	16	16
Varianza agrupada	2404.63472	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	30	
Estadístico t	0.08171243	
P(T<=t) una cola	0.46770907	
Valor crítico de t (una cola)	1.69726089	
P(T<=t) dos colas	0.93541813	
Valor crítico de t (dos colas)	2.04227246	

### **Staphylococcus aureus**

Patrón	Ti.98Ce.0 2O2- H2 (1)	Ti.98Ce.0 2O2- H2 (2)	Ti.98Ce.0 2O2- H2 (3)	Promedio	Incertidum bre
112	122	118	115	118.333333	3.5
118	135	100	100	111.666667	20.2
145	98	78	99	91.666667	11.8
178	70	65	76	70.333333	5.5
189	78	60	70	69.333333	9.0
200	56	45	69	56.666667	12.0
210	65	45	55	55	10.0
265	60	39	50	49.666667	10.5

Patrón	Ti.96Ce.0 4O2-H2 (1)	Ti.96Ce.0 4O2-H2 (2)	Ti.96Ce.0 4O2-H2 (3)	Promedio	Incertidum bre
112	99	112	115	108.666667	8.5
118	134	122	138	131.333333	8.3
145	90	100	102	97.333333	6.4
178	80	70	70	73.333333	5.8
189	82	67	70	73	7.9
200	50	55	50	51.666667	2.9
210	67	68	59	64.666667	4.9
265	60	48	42	50	9.2

Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas iguales		
	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Media	77.8333333	81.25
Varianza	695.365079	825.166667
Observaciones	8	8
Varianza agrupada	760.265873	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	14	
Estadístico t	-0.24782771	
P(T<=t) una cola	0.40393281	
Valor crítico de t (una cola)	1.76131014	
P(T<=t) dos colas	0.80786562	
Valor crítico de t (dos colas)	2.14478669	