



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE
HIDALGO



FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA

**SÍNTESIS DE MATERIALES HÍBRIDOS A BASE DE
ÓXIDOS MIXTOS $ZnAl$ Y $MgAl$ COMO LIBERADORES
CONTROLADOS DE FÁRMACOS PARA ELIMINACIÓN
DE BACTERIA E. COLI.**

TESIS QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE LICENCIATURA EN
INGENIERÍA QUÍMICA PRESENTA:

PIQ. ACIREMA VALDÉZ GÓMEZ

ASESORES:

Dr. Roberto Guerra González

Dr. José Luis Rivera Rojas

Morelia, Mich., Junio 2020

Agradecimientos

A mis Padres:

Con mucho cariño y amor, por siempre ofrecerme
su apoyo y comprensión a lo largo de
mi vida y de mis estudios.
Ma. Guadalupe y José Guadalupe.

A mi Abuelita:

Por siempre aconsejarme, escucharme y darme su amor para seguir adelante.
Con cariño y amor para ti.
Ma. Guadalupe Gómez Rabadan

A mi Hermano:

Por estar conmigo, cuidarme y compartir mis alegrías y tropiezos.
Emmanuel Valdéz Gómez

Gerardo Mejía Carreño:

A ti por cuidarme y ayudarme a lo largo de mi carrera, por estos 7 años
juntos en los cuales has compartido conmigo el proceso de mi carrera. Con
amor y cariño para ti.

A mis asesores:

Por trasmitirme sus conocimientos, por brindarme su apoyo para esta etapa
final de mi carrera. Gracias.

ÍNDICE

RESUMEN.....	1
ABSTRACT	2
1. INTRODUCCIÓN.	3
2. JUSTIFICACIÓN.....	5
3. OBJETIVOS E HIPÓTESIS.....	6
Objetivo general	6
Objetivos específicos.....	6
Hipótesis.....	6
4. MARCO TEÓRICO	7
Materiales Híbridos	8
Hidróxidos Dobles Laminares	8
Métodos de Síntesis	9
Método de coprecipitación a baja saturación de sales metálicas.....	9
Método de coprecipitación a alta sobresaturación de sales metálicas.	9
Método de coprecipitación homogénea con urea.....	10
Efecto memoria de los HDL	11
Intercambio iónico.....	11
Bacterias	12
La Escherichia coli.....	12
Ácido Nalidíxico.	13
5. METODOLOGÍA.....	14
Método de coprecipitación homogénea con urea.....	14
Síntesis de Materiales Híbridos.	16
Intercalación por Efecto Memoria	16
Técnicas experimentales de caracterización.....	17
Difracción de Rayos X.	17
Espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier.	17
Análisis Termogravimétrico (TGA).....	18
Técnicas de evaluación para la inhibición del crecimiento de Microorganismos	18

Índice

Método de dilución por agar.....	18
Método de dilución en caldo.....	18
Cepas bacterianas.....	19
Pruebas de pureza.....	19
Turbidez estándar para la preparación del inóculo.....	20
Preparación de los inóculos.....	20
Crecimiento bacteriano en presencia de materiales híbridos	20
6. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	22
Caracterización de materiales ZnAl-X.....	22
Caracterización de materiales híbridos	23
CMI y CMBs del Ácido Nalidíxico.	25
Pruebas microbiológicas para evaluar tiempos de inhibición.....	27
Pruebas de inhibición de los Materiales Híbridos	30
7. CONCLUSIONES.....	33
8. RECOMENDACIONES	34
9. SUGERENCIAS PARA TRABAJO FUTURO	35
10. BIBLIOGRAFÍA	36
11. GLOSARIO	39

Índice de Figuras

Figura 1. Esquema para la descomposición de la urea en solución acuosa	10
Figura 2. Síntesis de ZnAl-NO ₃	10
Figura 3 Estructura química del anión del ácido nalidixico.....	13
Figura 4. Obtención de ZnAl-NO ₃ y ZnAl-CO ₃	15
Figura 5. Rutas de obtención de materiales híbridos a partir de hidróxidos dobles laminares.....	16
Figura 6. Antibiograma en medio líquido y sólido de E. Coli frente a Cloxacilina Sódica, CMBs (mg/mL) de: a) 0.17, b) 0.22, c) 0.27, d) 0.33 y e) 0.38.....	26

Índice de Tablas

Tabla 1. CMI de diferentes concentraciones de ácido nalidixico.	25
Tabla 2. CBI de diferentes concentraciones de ácido nalidixico.....	25
Tabla 3. Colonias de E. coli vs materiales ZnAl-CO ₃ , ZnAl-NO ₃ MgAl-CO ₃ y MgAl-NO ₃	27
Tabla 4. Colonias de E. coli vs materiales ZnAl y MgAl-NO ₃ con ácido nalidixico.....	31
Tabla 5. Efecto inhibitorio de los HDL-NAD recuperado en primera ocasión.	31
Tabla 6. Efecto inhibitorio de los HDL-NAD recuperado en segunda ocasión.	32

Índice de Graficas

Gráfica 1. Difractograma de Rayos-X de los HDL ZnAl-X	22
Gráfica 2. Espectros de infrarrojo de HDL ZnAl-X frescos. a) ZnAl-CO ₃ y b) ZnAl-NO ₃ . ..	23
Gráfica 3. Caracterización de la molécula de ácido nalidixico. a) Espectro FTIR, b) DRX.	24
Gráfica 4. Colonias de E. coli que sobrevivieron a MgAl-NO ₃	28
Gráfica 5. Colonias de E. coli que sobrevivieron a ZnAl-CO ₃	28
Gráfica 6. Colonias de E. coli que sobrevivieron a MgAl-CO ₃	29
Gráfica 7. Colonias de E. coli que sobrevivieron a ZnAl-NO ₃	29
Gráfica 8. Colonias de E. Coli que sobrevivieron frente a los materiales.....	30

RESUMEN

En este trabajo se prepararon distintos materiales híbridos orgánico/inorgánicos y se estudió su desempeño como bactericidas de *Escherichia coli* (*E. Coli*). Los materiales híbridos sintetizados consistieron en la asociación de un hidróxido doble laminar inorgánico, o compuesto tipo hidrotalcita, con aniones de moléculas orgánicas con actividad antibacterial. Las moléculas biológicamente activas fueron hospedadas en los sólidos aprovechando las propiedades de intercambio iónico y de efecto memoria de los hidróxidos dobles laminares. Para la preparación del material híbrido se utilizó compuesto tipo hidrotalcita ZnAl y aniones orgánicos provenientes del ácido nalidíxico. Se hicieron experimentos de inhibición de *E. coli* frente a los materiales, los materiales se reutilizaron para determinar si el fármaco fue liberado de manera controlada.

La caracterización del material se llevó a cabo por difracción de rayos X, espectroscopia de IR por transformada de Fourier y por análisis termogravimétrico.

Palabras clave: *actividad antibacterial, ácidos nalidixico, hidrotalcita, E. coli.*

ABSTRACT

In this work, different organic / inorganic hybrid materials were prepared and their performance as *Escherichia coli* (E. Coli) bactericides was studied. The synthesized hybrid materials consisted of the association of an inorganic double lamellar hydroxide, or hydrotalcite-like compound, with anions of organic molecules with antibacterial activity. The biologically active molecules were hosted in the solids taking advantage of the ion exchange and memory effect properties of the double lamellar hydroxides. For the preparation of the hybrid material, ZnAl hydrotalcite type compound and organic anions from nalidixic acid were used. *E. coli* inhibition experiments were done against the materials, the materials were reused to determine if the drug was released in a controlled way.

The characterization of the material was carried out by X-ray diffraction, Fourier transform IR spectroscopy and thermogravimetric analysis.

1. INTRODUCCIÓN.

El tratamiento de enfermedades requiere de diferentes tipos de fármacos que se administran principalmente por vía oral o intravenosa. Dicha administración conlleva varios inconvenientes como son el poco control de los niveles necesarios del medicamento, lo que hace ineficiente el tratamiento además de los efectos colaterales que se derivan del paso de estos fármacos por regiones ajenas al lugar donde se produce la afección. El estudio de la liberación controlada de sustancias activas en los sistemas vivos se presenta como una alternativa de solución a la anterior situación y por tanto ha concentrado gran atención en las últimas dos décadas, y ha sido abordado con especial interés desde las ciencias de nuevos materiales y las ciencias farmacéuticas, lo que ha permitido conocer en detalle la mayor parte de los factores que intervienen en este proceso con el objeto de proponer formas de administración de fármacos de una manera controlada y para hacer los procesos terapéuticos más efectivos y cómodos para el paciente.

Desde el punto de vista de los materiales, la tendencia es obtener sistemas inteligentes, cargados con el principio activo del medicamento, que respondan a estímulos del ambiente y puedan liberar su carga en el lugar, el tiempo y a la velocidad deseada. Es así como en las últimas décadas los polímeros han recibido mucha atención para su aplicación en esta área dado que sus propiedades pueden ser diseñadas de acuerdo a los requerimientos que se deseen para atender las necesidades en la liberación de medicamentos. Los biomateriales como sistemas de liberación de medicamentos, como se ha reportado a través de trabajos de investigación en el mundo durante los últimos años. Además, se pretende mostrar las aplicaciones que en este campo se han alcanzado con éxito indicando los nuevos desarrollos que vienen y que motivan la investigación en esta área de la biomedicina.

Entre los biomateriales, los llamados materiales híbridos (orgánica e inorgánica) han mostrado muy buenas propiedades para ser cargados con

Introducción

medicamentos, por ser biocompatibles, lo que los perfila como una buena opción para ser usados en la liberación controlada de medicamentos.

2. JUSTIFICACIÓN

El objetivo ideal de los sistemas de liberación controlada de moléculas activas biológicamente contempla dos aspectos importantes, la localización espacial, la cual se relaciona con el hecho que la molécula pueda alcanzar un tejido u órgano específico y la liberación temporal o controlada que se refiere al control de la velocidad de liberación de la especie activa en lugar donde se requiere, esto en la molécula químicamente activa.

Estos dos aspectos no pueden alcanzarse repetidamente, por lo que siempre se debe de tomar en consideración sistemas de administración y liberación controlada de las moléculas activas. Así mismo se debe tomar en cuenta tanto al vehículo como a la ruta de administración para proponer una estrategia que permita incrementar la eficiencia terapéutica y disminuir los efectos.

3. OBJETIVOS E HIPÓTESIS

Objetivo general

Sintetizar y caracterizar materiales híbridos biocompatibles (cartuchos) inmovilizando moléculas con actividad antibacterial.

Objetivos específicos

- Sintetizar los hidróxidos dobles laminares biocompatibles MgAl y ZnAl de relación molar $M^{+2}/M^{+3} = 2$, por el método de coprecipitación de sales metálicas a baja sobresaturación.
- Caracterizar la interacción vehículo-bacteria en los materiales híbridos.
- Evaluar la cinética de inhibición de *Escherichia coli*.
- Evaluar la inhibición bacteriana con los materiales híbridos en cascara de frutas.

Hipótesis

Es posible preparar materiales híbridos a partir de hidróxidos dobles laminares y moléculas con actividad antimicrobiana para *Escherichia coli*.

4. MARCO TEÓRICO

Debido al gran avance que ha sufrido la medicina, se puede decir que nadie está completamente sano, poco a poco las personas sanas se convierten en pacientes. Anteriormente, la industria farmacéutica se enfrentaba a problemas relacionados con la síntesis de fármacos sin preocuparse por los efectos secundarios derivados de la administración de éstos. Pasado el tiempo, se le ha dado la preocupación necesaria a las consecuencias que trae consigo el uso de fármacos. Se pueden producir interacciones entre fármacos que compiten por el mismo receptor o que actúan sobre el mismo sistema fisiológico. Las interacciones se pueden producir cuando un fármaco altera la absorción, distribución o eliminación de otro fármaco, puesto que aumenta o disminuye la cantidad que llega a la zona de acción. Las interacciones fármaco-fármaco son algunas de las causas más frecuentes de efectos adversos. Cuando se administran dos fármacos a un paciente, pueden actuar de manera independiente o interactuar entre sí. La interacción puede aumentar o disminuir los efectos de los fármacos implicados y puede causar toxicidad inesperada.

En la actualidad, de manera general, se busca que la terapia con medicamentos sea más eficaz procurando que éstos sean colocados justo en el sitio adecuado para lograr así la respuesta farmacológica deseada sin ocasionar daños (*Colin R. Gardner, 1985*).

De esta forma, las condiciones para que la terapia con medicamentos sea adecuada son: que el fármaco llegue al objetivo sin dañar otros órganos o tejidos y que haya una correcta cantidad del fármaco absorbido en el blanco. El conjunto de condiciones que favorecen el mejor aprovechamiento de los fármacos es llamado, sistema de liberación controlada; está basado en la creación de nuevos sistemas que faciliten la administración, transporten y liberen el principio activo en el lugar adecuado.

Una parte de la estrategia actual consiste en el diseño de nuevas formas de administración-liberación mediante el uso materiales híbridos que consisten en matrices biocompatibles en las cuales se encapsulan los fármacos.

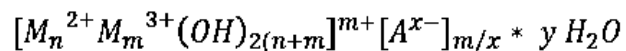
Materiales Híbridos

La combinación de materiales de distinta naturaleza (orgánica e inorgánica) da lugar a los llamados Materiales Híbridos, con propiedades muy superiores a la de sus constituyentes. Se organizan en niveles discretos, dando lugar a materiales con una estructura jerárquica a escala molecular, nanoscópica, microscópica y macroscópica. Estos materiales tienen la capacidad de actuar como matrices inorgánicas receptoras de moléculas orgánicas de interés biológico y dar lugar a la formación de materiales híbridos interesantes (*J. Oh et al., 2009; S.J. Ryu et al., 2010*). Dentro de la variedad de matrices inorgánicas laminares con características biocompatibles podemos encontrar a los hidróxidos dobles laminares (HDL) comúnmente llamados materiales tipo hidrotalcita, que son materiales fáciles de sintetizar en el laboratorio y poseen una textura nano-organizada.

Hidróxidos Dobles Laminares

Los hidróxidos dobles laminares (HDL) son estructuras sintéticas formadas por láminas de hidróxidos metálicos cargadas positivamente los cuales son estabilizadas con aniones interlaminares. La presencia de grupos hidroxilo en las superficies de sus láminas y los aniones intercambiables los hace compuestos ideales para preparar productos de funcionalización o hibridación con moléculas orgánicas permitiendo la obtención de nuevos materiales en escala nanométrica que cubren una gama amplia de aplicaciones.

Pueden representarse con la formula general (*S. Miyata, 1980*):



Dónde M^{+2} y M^{+3} son cationes de metales divalentes y trivalentes, respectivamente. a , representa al anión que se encuentra en la región interlaminar (normalmente el ion carbonato), finalmente, y , es el número de moléculas de agua del espacio interlaminar. El ion divalente puede ser Mg^{+2} , Ca^{+2} , Zn^{+2} , Cu^{+2} , Co^{+2} , Ni^{+2} , etc., y el ion trivalente puede ser Al^{+3} , Fe^{+3} , Cr^{+3} , etc.

Métodos de Síntesis

Existen numerosos métodos para la preparación de hidróxidos dobles laminares (A. de Roy et al., 2001). Entre los principales se encuentran los métodos electroquímicos, de precipitación a pH constante (S. Miyata, 1980), de precipitación a pH variable, de precipitación en emulsión (J. He et al., 2004), sol-gel (T. López et al., 1997) y de cristalización hidrotérmica usando radiación de microondas (P. Benito et al., 2009; P. Benito, M. Herrero et al., 2008; G. Fetter et al., 1997) o no, entre otros. En este trabajo solamente se describirán los métodos de coprecipitación a baja y a alta sobresaturación, así como la coprecipitación homogénea por descomposición de urea. Esta elección es debida a que estos métodos son los más adecuados para la síntesis de grandes cantidades de materiales y son los más comunes.

Método de coprecipitación a baja saturación de sales metálicas.

En general, las precipitaciones a baja sobresaturación se realizan por adición lenta de una solución que contiene una mezcla de sales de cationes divalentes y trivalentes a un recipiente que contiene agua. Una segunda solución alcalina, que contiene los aniones que se desean tener en la región interlaminar, se añade simultáneamente al recipiente a una velocidad tal que permita mantener el pH constante en un valor seleccionado para que conduzca a la coprecipitación del HDL. En general, este método de baja sobresaturación da lugar a precipitados con mayor cristalinidad que los obtenidos en condiciones de alta sobresaturación, ya que en este caso la velocidad de crecimiento del cristal es superior a su velocidad de nucleación (J.A.D. Jianyi Shen et al., 1994).

Método de coprecipitación a alta sobresaturación de sales metálicas.

Se parte de 2 soluciones; una que contiene los cationes M^{+2} y M^{+3} y otra, de características alcalinas, que también contiene a los aniones que se desean tener en el espacio interlaminar. La solución que contiene los cationes se agrega sobre la solución básica o viceversa. En este caso la velocidad de nucleación de los cristales es mayor a su velocidad de crecimiento por lo que se producen

materiales con menor cristalinidad. De igual forma, debido a que se observa un cambio continuo en el pH de la solución, la formación de impurezas de tipo $M(OH)_2$ o $M(OH)_3$ es común. En este método no hay control de pH (J. He, M. Wei et al., 2006).

Método de coprecipitación homogénea con urea.

Los cationes Zn^{+2} y Al^{+3} precipitan en forma de HDL gracias a la hidrólisis de urea a 90 °C a partir de una solución de nitratos de Zn y Al durante 10 h. Para evitar la intercalación del CO_3^{-2} que proviene de la hidrólisis de la urea se introduce un exceso de NH_4NO_3 que proporciona iones NO_3^- en la solución.

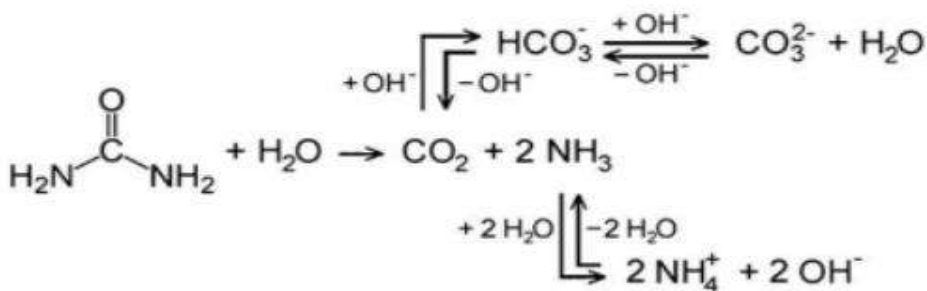


Figura 1. Esquema para la descomposición de la urea en solución acuosa

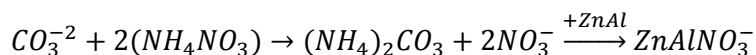
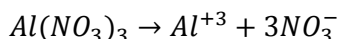
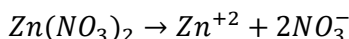


Figura 2. Síntesis de ZnAl-NO3

El sólido de $ZnAl-NO_3$ (ion nitrato) fue sintetizado por el método de hidrólisis de urea, para evitar la intercalación del CO_2 , en forma de CO_3^{-2} , que

proviene de la hidrólisis de la urea, se introduce un exceso de NH_4NO_3 (nitrato de amonio) que proporciona iones NO_3^{-1} en la solución (A. Inayat et al., 2011).

Efecto memoria de los HDL

La evolución estructural de un HDL en función de la temperatura del tratamiento térmico conlleva lo siguiente:

- A temperaturas menores a $150\text{ }^\circ\text{C}$ se observa una pérdida de moléculas de Agua adsorbidas físicamente sin que exista modificación de la estructura laminar.
- Entre 300 y $500\text{ }^\circ\text{C}$ tiene lugar la deshidroxilación de las láminas que trae consigo el colapso del arreglo laminar.

En todos los estados, excepto cuando el HDL se somete a temperaturas superiores a $600\text{ }^\circ\text{C}$ y se ha formado la fase perovskita, si el sólido se pone en contacto con una solución que contenga aniones, éste recobrará su estructura laminar original. La capacidad de reconstruir la estructura laminar recibe el nombre de efecto memoria. Esta propiedad es muy útil cuando se quiere intercalar un anión diferente al original, sobre todo en el caso de aniones orgánicos de gran tamaño (A.L. McKenzie et al., 1992).

Intercambio iónico

Esta afinidad tiene una influencia directa sobre las propiedades del intercambio aniónico de los HDL. Los aniones divalentes son más afines con el espacio interlaminar (S. Miyata, 1983) que los cationes monovalentes; es decir, es fácil reemplazar aniones monovalentes inicialmente presentes en la región interlaminar por aniones divalentes. De igual forma, es más fácil intercambiar aniones NO_3^- que aniones Cl^- .

Aniones divalentes: $\text{CO}_3^{-2} > \text{SO}_4^{-2}$

Aniones monovalentes: $\text{OH}^{-1} > \text{F}^{-1} > \text{Cl}^{-1} > \text{Br}^{-1} > \text{NO}_3^{-1} > \text{I}^{-1}$

De esta forma, en muchos procesos de intercambio aniónico se utilizan HDL en su forma HDL- NO_3 y se evita la presencia del CO_2 atmosférico porque

Metodología

este se absorbe fácilmente y forma iones CO_3^{2-} que, por su gran afinidad con los HDL.

Bacterias

Las bacterias son microorganismos que se reproducen mediante fisión binaria, y que presentan tres formas básicas:

- Las bacterias esféricas o cocos
- Las alargadas o bacilos
- Las bacterias curvadas o espirilos que pueden ser también comas, espiroquetas y vibrias.

Algunos cocos, reciben otro nombre, por ser achatados se denominan cocobacilos.

Las bacterias pueden presentar ciertas variaciones morfológicas, entre estas se encuentran las que tienen forma de estrella, las planas y rectangulares, las alargadas en forma de pera y por último aquellas que forman pedúnculos no celulares.

La Escherichia coli

Escherichia coli (E. coli) es una bacteria que se encuentra normalmente en el intestino del ser humano y de los animales de sangre caliente. La mayoría de las cepas de E. coli son inofensivas. Sin embargo algunas de ellas, como E. coli productora de toxina Shiga, pueden causar graves enfermedades a través de los alimentos. La bacteria se transmite al hombre principalmente por el consumo de alimentos contaminados, como productos de carne picada cruda o poco cocida, leche cruda, y hortalizas y semillas germinadas crudas contaminadas.

Ácido Nalidíxico.

El ácido nalidíxico (NAD) es un agente antimicrobiano perteneciente a la primera generación de las quinolonas. Dado que se concentra en la orina produciéndose concentraciones en plasma muy bajas, el ácido nalidíxico sólo se utiliza en el tratamiento de las infecciones urinarias producidas por bacterias gramnegativas susceptibles (D.C. Hooper et al., 1995; V.T. Andriole et al., 1988). Entre los gérmenes que suelen ser sensibles al ácido nalidíxico se encuentran las *Enterobacter* sp. , *Escherichia coli* , *Klebsiella* sp. , *Morganella morganii*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Providencia rettgeri* y *Salmonella* sp. y *Shigella* sp. Las *Pseudomonas* son indefectiblemente resistentes a este fármaco. Como mecanismo de acción, el ácido nalidíxico interfiere con la ADNpolimerasa bacteriana, interfiriendo con la síntesis de ADN. La resistencia al ácido nalidíxico se suele desarrollar con bastante rapidez. El ácido Nalidíxico cuya fórmula molecular es $C_{12}H_{12}N_2O_3$, es conocido químicamente como ácido 1-etil-7-metil-4-oxo-[1,8] naftiridina-3- carboxílico.

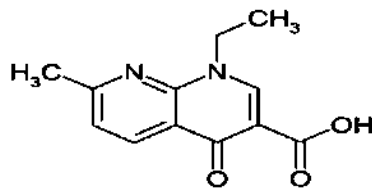


Figura 3 Estructura química del anión del ácido nalidíxico.

5. METODOLOGÍA

En el siguiente capítulo se describe el método de preparación del HDL ZnAl, así como la preparación de los materiales híbridos a partir de los HDL y del anión orgánico del ácido nalidíxico. De igual forma se describen las técnicas utilizadas para la caracterización de los diferentes materiales.

Método de coprecipitación homogénea con urea.

El sólido de ZnAl-NO₃ fue sintetizado por el método de hidrólisis de urea, tradicionalmente, debido a los productos de la hidrólisis de la urea (A. Inayat et al., 2011), este método conduce a la formación de HDL con aniones carbonato en la región interlamina. Este resultado es independiente del tipo de sales metálicas utilizadas en las síntesis (cloruros o nitratos). Así, los cationes Zn⁺² y Al⁺³ precipitan en forma de HDL gracias a la hidrólisis controlada de la urea a 90°C a partir de una solución de nitratos de Zn y Al. Durante la síntesis, el pH de la solución se incrementa de manera gradual conforme la hidrólisis de la urea transcurre a la vez que se logran concentraciones locales homogéneas que resultan en la formación de sólidos de mayor cristalinidad, mayor tamaño de cristal (del orden de los µm) y una distribución de tamaño de cristal homogénea; todo esto en comparación con los sólidos sintetizados por el método de coprecipitación en condiciones de alta o baja sobresaturación. Para evitar la intercalación del CO₂, en forma de CO₃⁻², que proviene de la hidrólisis de la urea, se introduce un exceso de NH₄NO₃ que proporciona iones NO₃⁻¹ en la solución. Para la síntesis del sólido ZnAl-NO₃ se disolvieron 0.335 moles de Zn(NO₃)₂·6H₂O y 0.165 moles de Al(NO₃)₃·9H₂O en 500 ml de agua desionizada libre de CO₂ a temperatura ambiente. Posteriormente, se agregaron 1.65 moles de urea y 1 de mol NH₄NO₃ y la solución resultante se colocó en un matraz de bola de tres bocas de 500 ml equipado con un sistema de reflujo. El sistema se purgó por burbujeo de gas argón durante 1 h y la temperatura se incrementó a 90°C con ayuda de un baño termostatizado con arena.

Metodología

Después de 10 h a esta temperatura, el precipitado blanco obtenido se centrifugó durante 15min, se lavó varias veces con agua des-ionizada caliente y libre de CO₂. Finalmente, el sólido se secó a 120 °C durante 12 h en una estufa. El sólido preparado tiene una relación $Zn^{+2} / Al^{+3} = 2$.

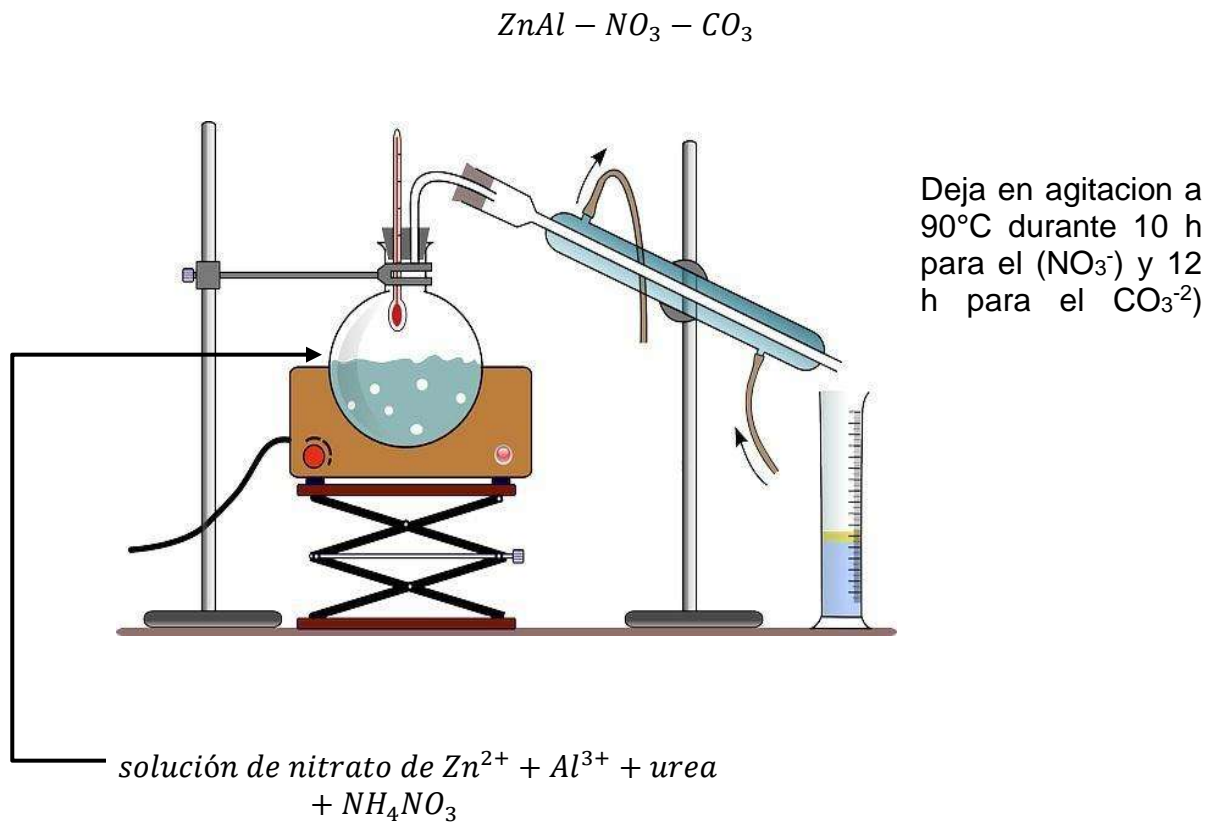
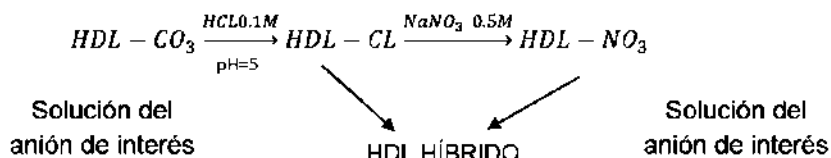


Figura 4. Obtención de ZnAl-NO₃ y ZnAl-CO₃.

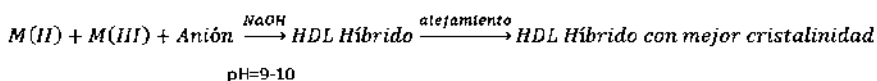
Síntesis de Materiales Híbridos.

Como ya se mencionó, una reacción de intercalación en los HDL puede llevarse a cabo por varias vías, o por una sola dependiendo del sistema HDL/anión estudiado. En este trabajo se abordó una estrategia similar a la reportada en la literatura a fin de realizar las reacciones de intercalación para cada sistema HDL/anión (*U. Costantino et al., 2008*). La estrategia empleada se ilustra en la figura 5.

Intercambio iónico



Coprecipitación



Reconstrucción por efecto memoria

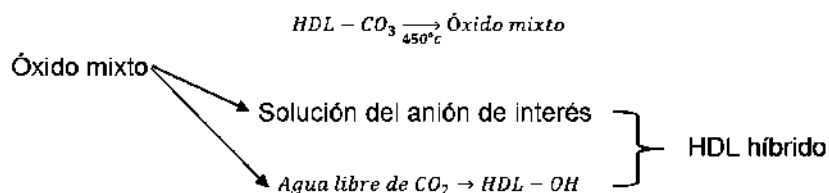


Figura 5. Rutas de obtención de materiales híbridos a partir de hidróxidos dobles laminares.

Intercalación por Efecto Memoria

En el siguiente caso se trata de un método de intercalación indirecto en el cual el óxido mixto obtenido después del tratamiento térmico del HDL correspondiente, se pone en contacto con una solución que contenga el anión de interés. Después de un cierto tiempo el HDL recobrará su estructura laminar original y en la región interlaminar residirán los aniones contenidos en la solución. Esta propiedad es muy útil cuando se quiere intercalar un anión diferente al original, sobre todo en el caso de aniones orgánicos de gran tamaño.

Metodología

En primer lugar, 0.5 g del HDL se sometieron a un tratamiento térmico a 500°C (5°/min) durante 5 h en un flujo de N₂. El óxido mixto obtenido se puso en contacto con 30 ml de una solución, previamente burbujeada con argón, que contiene al anión de interés (4.8 mmol) y ajustado el pH a un valor de 9 con NaOH (0.1 M). La suspensión obtenida se dejó en agitación durante 7 días. Transcurrido este tiempo, el sólido se separó de la solución por centrifugación y se lavó con H₂O desionizada libre de CO₂ para finalmente secarlo a 50 °C durante 48 h. De esta forma se obtuvieron los sólidos ZnAl-X y MgAl-X, donde X= NAD.

Técnicas experimentales de caracterización

La metodología de las técnicas se siguieron de acuerdo con lo reportado por (*Alejandra Santana Cruz, 2014*).

Difracción de Rayos X.

Los difractogramas de Rayos-X (DRX) de las muestras en polvo se obtuvieron en un difractómetro Philips X'PERT PRO; las muestras se analizaron en un rango de 3.4-80 (2θ) y con longitud de onda CuKα1 =1.5418 Å. Se utilizó un voltaje-amperaje de 45 kV y 40 mA respectivamente.

Espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier.

Los espectros de infrarrojo se obtuvieron mediante un espectrofotómetro NICOLET MAGNA IR 750. La región analizada fue de 4000-400 cm⁻¹. La metodología utilizada para obtener los espectros fue por formación de una pastilla mezclando la muestra con KBr en una relación muestra: KBr de 1:100 en peso en una prensa manual. Los espectros de IR se obtuvieron en el modo Transmitancia.

Análisis Termogravimétrico (TGA).

Los termogramas se obtuvieron del equipo de análisis termogravimétrico SDT Q 60. Se utilizó una masa de entre 5 y 20 mg de las muestras y se analizaron en un rango de temperatura de 25 a 850 °C a razón de 10 °C/min, en atmosfera de nitrógeno.

Técnicas de evaluación para la inhibición del crecimiento de Microorganismos

Método de dilución por agar.

El antibiograma disco-placa es uno de los métodos que el National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) recomienda para la determinación de la sensibilidad bacteriana a los agentes antimicrobianos. El antibiograma disco-placa consiste en depositar, en la superficie de agar de una placa de petri previamente inoculada con el microorganismo, discos de papel secante impregnados con los diferentes antibióticos. Tan pronto el disco impregnado de antibiótico se pone en contacto con la superficie húmeda del agar, el filtro absorbe agua y el antibiótico difunde hacia el agar radialmente formándose un gradiente de concentración. Transcurridas 18-24 horas de incubación los discos aparecen rodeados por una zona de inhibición. La concentración de antibiótico en la interfase formada entre las bacterias en crecimiento y las bacterias inhibidas se conoce como concentración crítica y se aproxima a la concentración mínima inhibitoria (CMI) obtenida por métodos de dilución. Sin embargo, los métodos disco-placa no permiten una lectura directa del valor de la CMI.

Método de dilución en caldo.

En la dilución en caldo se colocan concentraciones decrecientes del agente antimicrobiano, generalmente diluciones 1:2 en tubos con un caldo de

Metodología

cultivo que sostenga el desarrollo del microorganismo. El National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) recomienda, para la mayoría de los microorganismos, utilizar caldo Mueller-Hinton, al que se añadirán los suplementos necesarios para asegurar el crecimiento de organismos exigentes. Se emplea por cada combinación microorganismo/antimicrobiano una batería de tubos. Regularmente se prepara la batería de tubos con 1mL de medio estéril sin antimicrobiano. Al primero de ellos se añade 1 ml de la solución inicial del tubo de antimicrobiano hasta conseguir la concentración más alta a estudiar (teniendo en cuenta que este primer paso supone la dilución a la mitad de la solución madre, y que una vez inoculados los tubos, con 1 ml de inóculo, se diluirá nuevamente la concentración del antimicrobiano a la mitad). Tras mezclar adecuadamente, se pasa 1 ml al siguiente tubo; el proceso se repite tantas veces como diluciones se quieran estudiar, eliminando del último tubo de la serie 1 ml de medio con agente antimicrobiano con objeto de mantener el volumen final igual a 1 ml. Para cada paso de dilución se debe emplear una pipeta diferente. La serie de tubos se completa con uno de control sin agente antimicrobiano que solamente tiene 1 ml de caldo.

Cepas bacterianas.

Se utilizaron cepas de E. coli con el Número de Colección de Cepas Americana en ingles American Type Culture Collection (ATCC) 14028. Las cepas fueron obtenidas del Laboratorio Estatal de Salud Pública de Michoacán, las cuales se hicieron crecer en cuñas de agar soya tripticaseína a 37°C por 24 h y se sembraron cada 12 h por 5 días para garantizar la fase exponencial de crecimiento. Estas cepas fueron conservadas a 4°C, con el fin de mantener la viabilidad.

Pruebas de pureza

Se realizó coloración de Gram para verificar pureza de las cepas de E. coli, observando su morfología en microscopio óptico a 100x. por lo que se realizó el frotis correspondiente sobre la cepa a analizar con cristal violeta y una

Metodología

solución de yodo, todas se tiñeron de un color violáceo. Posteriormente se les trató con una solución de decolorante (alcohol-cetona), las bacterias gram-positivas retuvieron el colorante, debido a la composición de su pared, mientras que las gram-negativas no lo retuvieron, siendo el colorante eliminado. A continuación, se les trató con un colorante de contraste (fucsina diluida), las bacterias gram-negativas se tiñeron, lo que nos da como resultado, bacterias gram-negativas.

Turbidez estándar para la preparación del inóculo

Para estandarizar la densidad del inóculo se usó una suspensión de sulfato de bario como estándar de turbidez (0.5 de la escala de McFarland). Las pruebas de turbidez se realizaron en un espectrofotómetro UV-Vis Varian Cary 4000. Se midió la absorbancia a 625 nm, incubándose bajo las mismas condiciones hasta alcanzar un crecimiento en un rango comprendido entre 0.7 y 0.8 de densidad óptica. Los estándares se mantuvieron almacenados a temperatura ambiente al abrigo de la luz.

Preparación de los inóculos

Para la preparación de los inóculos se tomaron 3 colonias aisladas del mismo tipo de morfología de las cepas mantenidas en cuñas de agar soya tripticaseína, y se hicieron crecer en tubos con 5 ml de caldo de soya tripticaseína a 37 °C hasta alcanzar la turbidez estándar. Esta suspensión contiene aproximadamente 1×10^8 Unidad Formadora de Colonias (UFC)/ml de E. coli. Los inóculos se resembraron cada 12 h por 5 días para confirmar la fase exponencial de crecimiento. Estas cepas fueron conservadas a 4 °C, con el fin de mantener la viabilidad.

Crecimiento bacteriano en presencia de materiales híbridos

Se determinó el crecimiento de las bacterias en presencia de los materiales biosidas. Para ello, se valoró la capacidad bactericida de los

Metodología

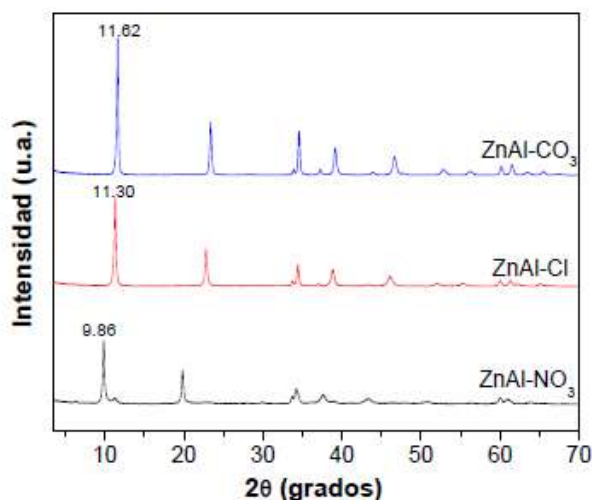
materiales en relación con el tiempo y la CMB promedio. Se enfrentó un inóculo normalizado a concentraciones fijas de antimicrobiano en un caldo. Se inoculó 0.5 ml de muestra de los sistemas líquidos con bacterias (*E. coli*), en 10 ml de caldo de soya tripticaseína contenido en tubos de ensaye con tapa rosca. Se agregó una cantidad de material biocida (cantidad determinada como CMB promedio) a cada tubo incubándose a 37°C con agitación a 30 rpm. Se tomaron muestras a diferentes tiempos (5, 15, 30, 60, 90, 120 y 150 min). La muestra tomada se sembró en cajas Petri con 20 ml de agar MacConkey por la técnica de estriado masivo en placa. Como control, una placa se inoculó con cultivo sin material bactericida, al comienzo y al final. Las placas se incubaron invertidas a 37 °C por 24 h en atmósfera aeróbica y finalmente ya pasado las 24 h se realizó el conteo de las colonias de bacterias de cada placa.

6. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Con el fin de facilitar la identificación de los hidróxidos dobles laminares y los materiales híbridos se siguió la siguiente nomenclatura para los HDL: ZnAl-X, donde X indica el anión residente en la región interlaminar. En nuestro caso en específico, X puede ser NO_3^- , Cl^- o CO_3^{2-} .

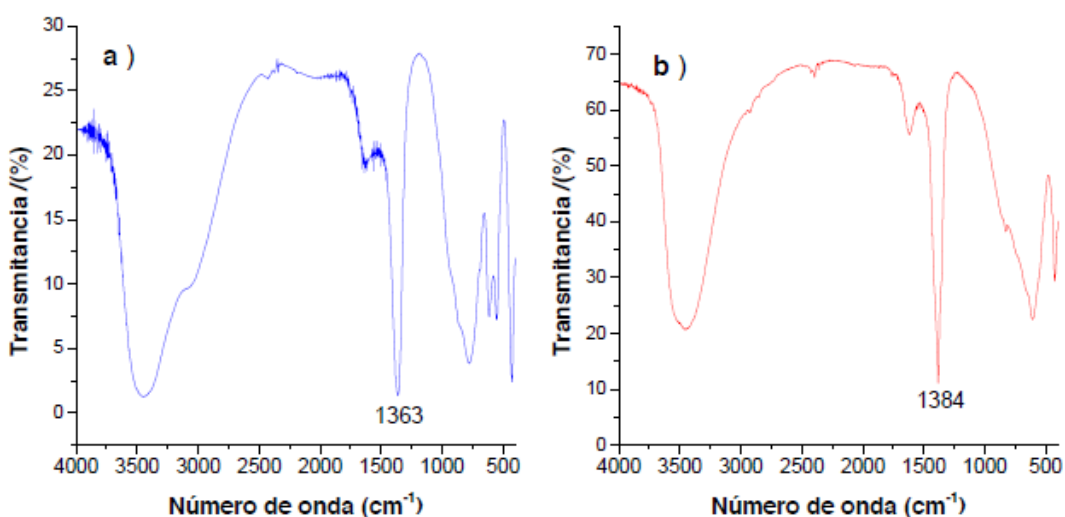
Caracterización de materiales ZnAl-X

Los hidróxidos dobles laminares a base de Zn y Al se sintetizaron con diferentes aniones por diferentes métodos para así obtener los sólidos ZnAl- CO_3 , ZnAl-Cl y ZnAl- NO_3 . En la gráfica 1 se muestran los difractogramas de rayos-X de estos sólidos y las distancias interplanares d_{003} . Todos los difractogramas muestran picos asociados a los planos característicos de la hidrotalcita, no se observan otras fases ajenas a este mineral; es decir que se obtuvieron HDL puros.



Gráfica 1. Difractograma de Rayos-X de los HDL ZnAl-X

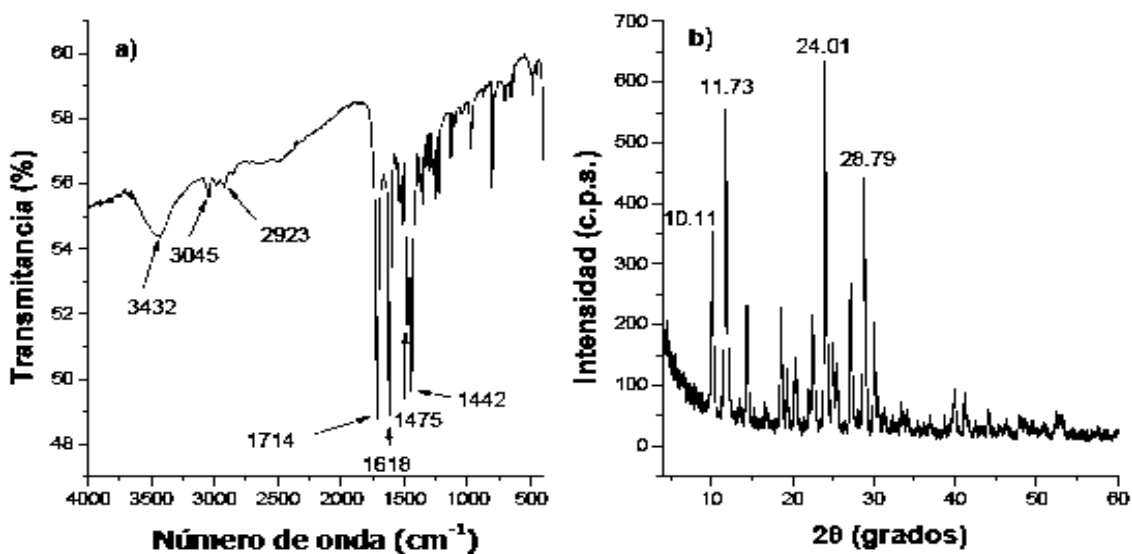
Por otra parte, los espectros de infrarrojo mostrados en la gráfica 2 (por razones de claridad no se muestra el espectro de infrarrojo para el sólido ZnAl-Cl) son congruentes con lo reportado en la literatura. Siendo así, ambos sólidos ZnAl-NO₃ y ZnAl-CO₃ muestran una banda de absorción ancha y muy intensa, centrada alrededor de 3445 cm⁻¹, que se atribuye a la frecuencia de vibración del modo de estiramiento V_{OH} de los grupos O-H que forman las láminas tipo brucita, por lo que se puede afirmar que hasta aquí se dispone de tres diferentes tipos de sólidos ZnAl-X que se usaron como materiales de partida para la posterior preparación de materiales híbridos.



Gráfica 2. Espectros de infrarrojo de HDL ZnAl-X frescos. a) ZnAl-CO₃ y b) ZnAl-NO₃.

Caracterización de materiales híbridos

Para entender mejor la caracterización de los materiales híbridos, conviene aquí presentar tanto el espectro de infrarrojo como el patrón de difracción de rayos-X de las moléculas que se estudiaron; como son los ácidos de partida o de las sales sódicas generadas a partir de estas. Esto es con la finalidad de tenerlos en mente como resultados de análisis de referencia. Así, en la gráfica 3 se muestran el espectro de IR y el patrón de DRX del ácido nalidíxico.



Gráfica 3. Caracterización de la molécula de ácido nalidíxico. a) Espectro FTIR, b) DRX.

A partir de la fórmula general de los HDL y de las cargas de los aniones entrante y saliente, se conoce la cantidad necesaria de aniones que pueden entrar al espacio interlamilar, teniendo en cuenta la estequiometría del intercambio; por ejemplo, un ión NO_3^{-1} sería reemplazado por un ión Cl^{-1} y viceversa; sin embargo, un solo anión CO_3^{-2} tendría que ser reemplazado por dos iones NO_3^{-1} o por dos iones Cl^{-1} para que no crear un desbalance de cargas en la región interlamilar. Por lo que de esta forma se deben tomar en cuenta las cargas, tanto del anión inicialmente presente en la región interlamilar, como del anión que se desea introducir para determinar la cantidad mínima estequiométrica del anión entrante necesaria para lograr el 100% de reemplazo. Sin embargo, el proceso de intercalación no asegura que el anión ocupe todo ese espacio entre las láminas o logre una tasa de reemplazo de 100%. Debido a lo anterior, cuando sólo se coloca la cantidad mínima estequiométrica de anión entrante en contacto con un HDL, es probable que el intercambio sea sólo parcial (Y. T. Kameda et al., 2006). En este caso se debe jugar con la relación anión entrante/HDL para asegurar tasas de intercambio más elevadas (U.

Costantino et al.,2008). Este fue el caso en las síntesis de materiales híbridos reportadas en este trabajo; por ello se reportan los resultados obtenidos haciendo variar la relación anión/HDL, en los casos donde fue necesario.

CMI y CMBs del Ácido Nalidíxico.

Con la finalidad de comprobar la concentración de Ácido Nalidixico para que surja efecto bactericida para la *E. coli*, se realizaron pruebas de CMI y CMB para este proposito. En las tablas 1 y 2, se muestran los valores de las CMIs y CMBs respectivamente del fármaco como inhibidor de la *E. coli*, utilizando el método de diluciones y siembra en agar. La reproducibilidad se hizo por triplicado para la cepa bacteriana. Los valores reportados son el promedio de las CMIs y CMBs para cada prueba, en caldo y agar Müller-Hinton respectivamente. La turbidez en los tubos inoculados, permitió determinar la CMI después de las 24 horas de exposición de las bacterias frente a los diferentes materiales. La cuantificación de colonias bacterianas que crecieron en placas con agar MH, se realizó después de 24 horas de incubación a 37 °C.

Tabla 1. CMIs de diferentes concentraciones de ácido nalidixico.

CMI (mg/ml)						
Fármaco	0.17	0.22	0.27	0.33	0.38	0.43
Ácido nalidixico	+	+	+	+	-	-

+: significa presencia de bacterias y el - : significa ausencia se bacterias.

Tabla 2. CBIs de diferentes concentraciones de ácido nalidixico.

CBI (mg/ml)						
Fármaco	0.17	0.22	0.27	0.33	0.38	0.43
Ácido nalidixico	+	+	+	+	-	-

+: significa presencia de bacterias y el - : significa ausencia se bacterias.

Análisis y discusión de resultados

Las muestras expuestas que no presentaron turbidez fueron sembradas en cajas petri con agar Müller-Hinton (figura 6), observándose que el crecimiento de las bacterias fue nulo. Esto demuestra que los materiales tienen efecto bactericida para *E. coli*. Cabe señalar que se consideraron sistemas en donde no hubo crecimiento, aquellos tubos traslúcidos cuya turbidez era muy baja (menos de 50 NTU) o cercana a cero. Aquellos tubos con turbidez aparente y valores mayores a 50 NTU se consideraron sistemas con crecimiento microbiano. Con este método descriptivo de ensayo turbidimétrico se pueden obtener algunas respuestas sobre el comportamiento de las bacterias, en presencia de los agentes bactericidas, tales como supresión en el nivel de crecimiento en la fase estacionaria, disminución de la velocidad de crecimiento y la letalidad (*Davidson and Parish, 1989*).

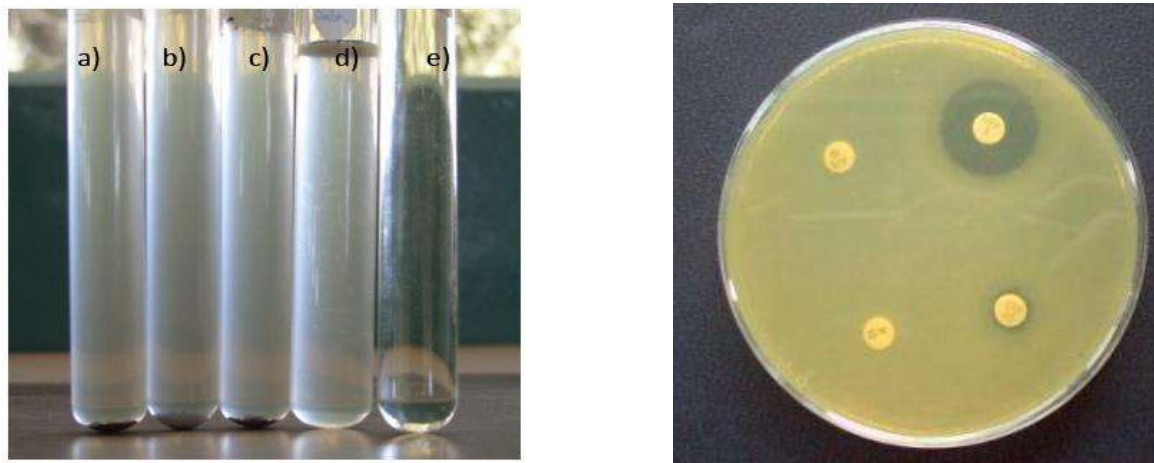


Figura 6. Antibiograma en medio líquido y sólido de *E. Coli* frente a Cloxacilina Sódica, CMBs (mg/mL) de: a) 0.17, b) 0.22, c) 0.27, d) 0.33 y e) 0.38.

Las CMI y CMBs obtenidas por los dos métodos ensayados (microdilución en líquido y microdilución en agar) no presentaron diferencias significativas. La eficacia, reflejó un radio CMB/CMI menor a 1.2, indicando que los materiales son bactericidas.

Pruebas microbiológicas para evaluar tiempos de inhibición

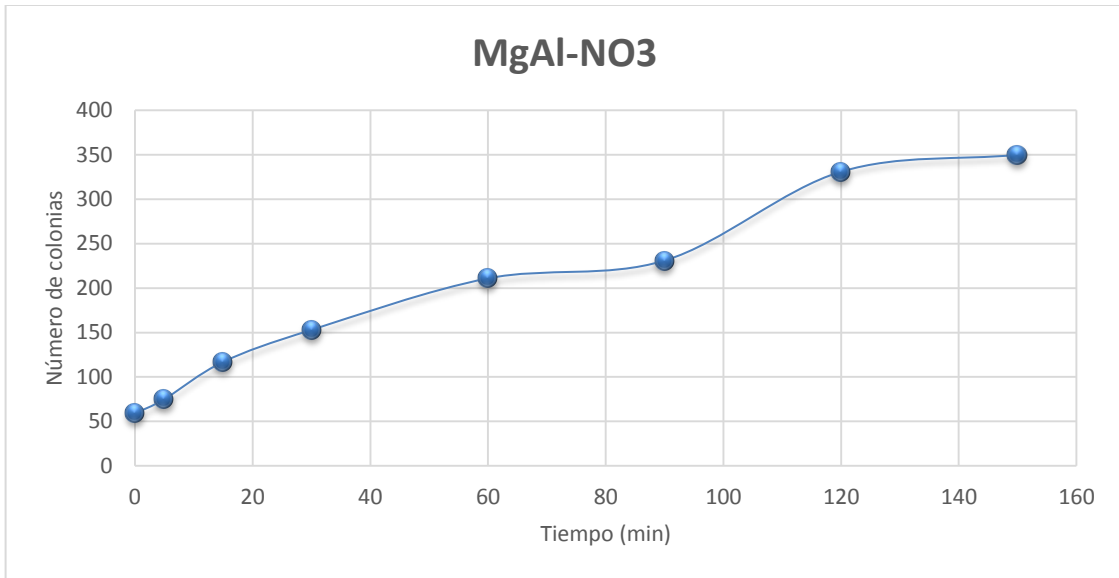
Antes de evaluar el carácter bactericida de los materiales se realizó los controles de calidad a las cepas de trabajo por microdiluciones. Los resultados de los controles de calidad (viabilidad y pureza) de *E. coli*, empleados en la evaluación bactericida, cumplieron con los criterios de aceptación al obtenerse valores de viabilidad del orden de 1×10^8 , de modo que los resultados de pureza cumplen con la condición de cultivos libres de contaminación microbiana. Se realizaron pruebas con $ZnAl-CO_3$, $ZnAl-NO_3$, $MgAl-CO_3$ y $MgAl-NO_3$ antes de imponerles el fármaco para comprobar que el cartucho no es bactericida frente a colonias de *E. coli* estos resultados se reportan en la tabla 3 y gráfica 4. La valoración del efecto bactericida de los materiales se implementó para medir la viabilidad celular a los 5, 30, 60, 90, 120 y 150 minutos después de la exposición e incubación de las bacterias con los distintos materiales. Las pruebas se realizaron por triplicado en placas con agar McConkey.

Los resultados expuestos en la tabla 3, muestran que de las pruebas microbiológicas, se observan que las colonias de *E. coli* sobrevivieron en cada uno de los ensayos, para cada uno de los tiempos de exposición a los diferentes materiales evaluados para validar si es biocidas, mostrando que el material no es bacterioestático o bactericida para la bacteria *E. coli*.

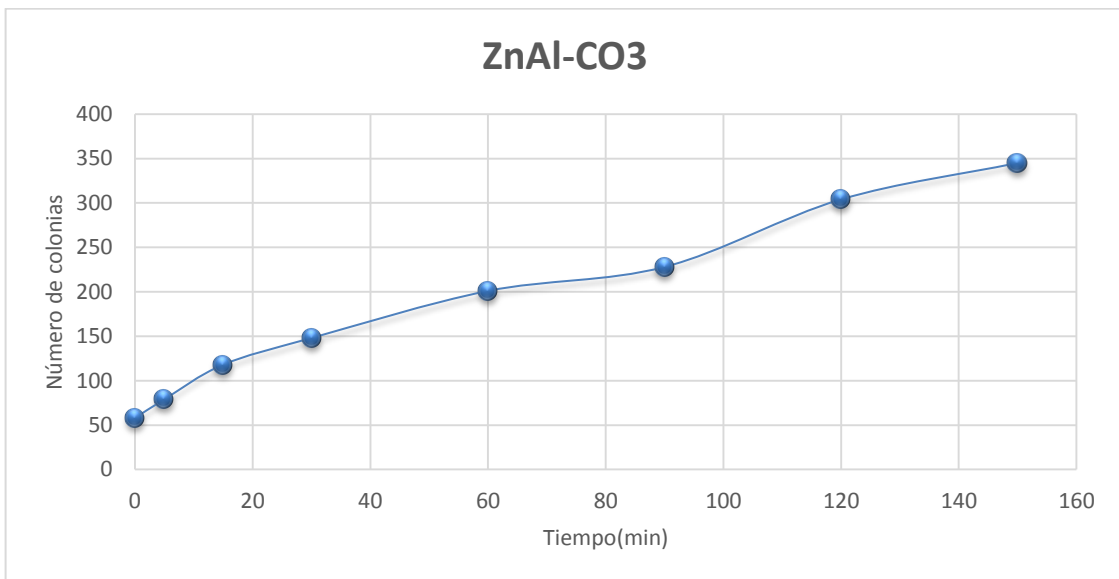
Tabla 3. Colonias de *E. coli* vs materiales $ZnAl-CO_3$, $ZnAl-NO_3$, $MgAl-CO_3$ y $MgAl-NO_3$

TIEMPO	$MgAl-CO_3$	$MgAl-NO_3$	$ZnAl-CO_3$	$ZnAl-NO_3$
0	57	59	58	60
5	76	75	79	83
15	121	117	118	126
30	143	153	148	161
60	203	211	201	217
90	221	231	228	245
120	307	331	304	337
150	341	>350	345	>350

Análisis y discusión de resultados

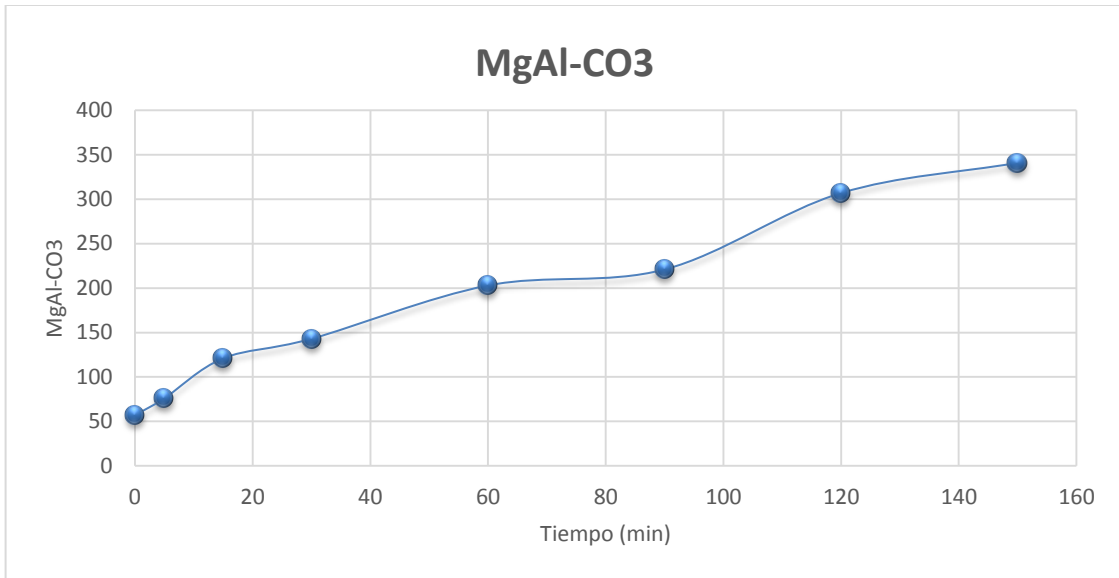


Gráfica 4. Colonias de E. coli que sobrevivieron a MgAl-NO₃

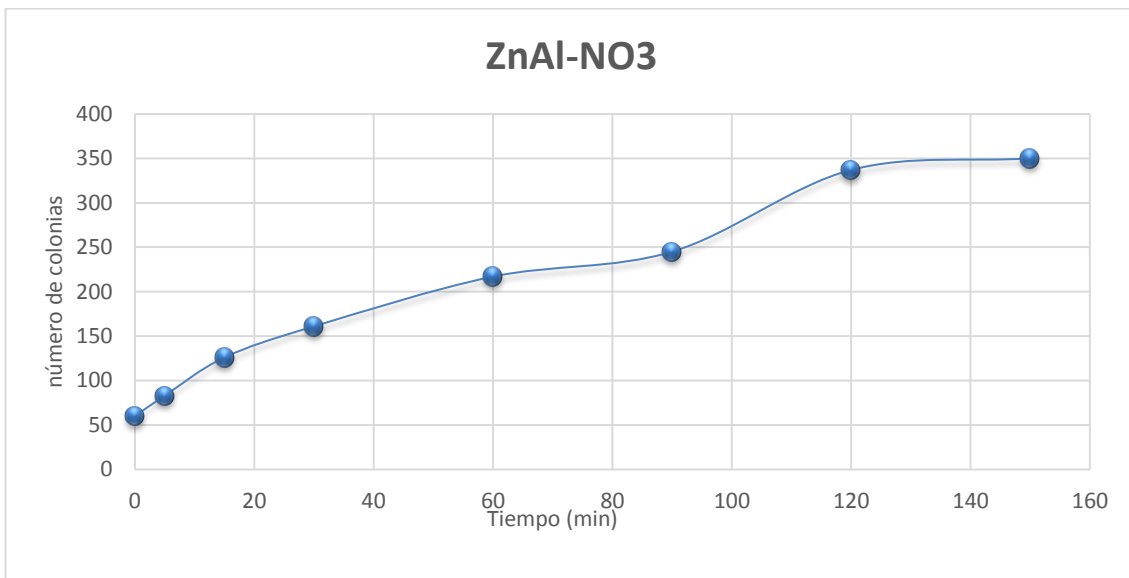


Gráfica 5. Colonias de E. coli que sobrevivieron a ZnAl-CO₃

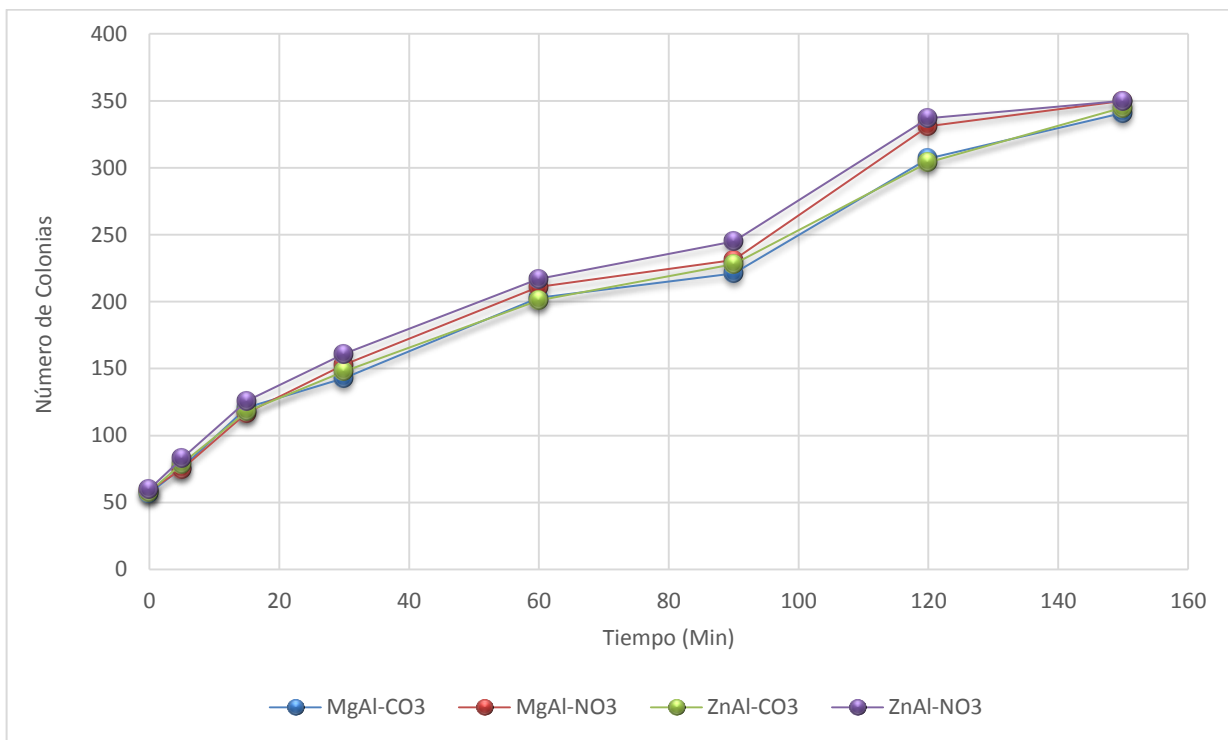
Análisis y discusión de resultados



Gráfica 6. Colonias de *E. coli* que sobrevivieron a $MgAl-CO_3$



Gráfica 7. Colonias de *E. coli* que sobrevivieron a $ZnAl-NO_3$



Gráfica 8. Colonias de *E. coli* que sobrevivieron frente a los materiales.

Pruebas de inhibición de los Materiales Híbridos

Estas pruebas permitieron definir el momento en el que el agente biocida actúa sobre el ciclo de replicación bacteriano, de tal forma que cada prueba con el ácido nalidíxico (NAD) presenta una gráfica diferente que va de acuerdo a su mecanismo de acción. Los resultados de las curvas corresponden a la media de los tres experimentos. La pauta de administración de los bactericidas está en función a la CMB promedio determinada por la bacteria. En la Tabla 4 se muestran las pruebas microbiológicas, dónde se observan el número de las colonias de *E. coli* que sobrevivieron en cada uno de los ensayos, para cada uno de los tiempos de exposición al fármaco evaluado como biocidas.

Tabla 4. Colonias de *E. coli* vs materiales ZnAl y MgAl-NO₃ con ácido nadilixico.

TIEMPO (min)	ZnAl-NAD	MgAl-NAD
0	63	61
5	30	50
15	5	45
30	0	13
60	0	1
90	0	0
120	0	0
150	0	0

La actividad de los materiales híbridos con NAD al romper su estructura presentan un efecto bactericida en todo momento. Los resultados de los estudios microbiológicos “in vitro” han mostrado que el ZnAl-NAD presenta mayor actividad bactericida comparable con la de MgAl-NAD.

Los materiales híbridos se recuperaron en dos ocasiones y se realizaron exposiciones frente a la bacteria. En las tablas 5, se muestra el número de colonias que sobrevivieron al exponerse los materiales híbridos reciclados por primera ocasión, donde se puede apreciar que el híbrido ZnAl-NAD elimina el total de las bacterias en un tiempo de 90 minutos, en tanto que el MgAl-NAD presenta un comportamiento bacterioestático después de los 90 minutos de exposición.

Tabla 5. Efecto inhibitorio de los HDL-NAD recuperado en primera ocasión.

TIEMPO	ZnAl-NAD	MgAl-NAD
0	108	112
5	60	90
15	24	60
30	8	55
60	2	52
90	0	30
120	0	32
150	0	29

Análisis y discusión de resultados

La tabla 6, presenta los resultados al exponerse por segunda ocasión los materiales híbridos reciclados. El híbrido ZnAl-NAD presentó un comportamiento bactericida los primero 30 minutos y posterior a este tiempo se observa un crecimiento en las colonias, lo anterior puede deberse a que el fármaco en el interior del HDL se elimino, en tanto que el MgAl-NAD presenta un comportamiento bacterioestático desde los 15 minutos de exposición.

Tabla 6. Efecto inhibitorio de los HDL-NAD recuperado en segunda ocasión.

TIEMPO (min)	ZnAl-NAD	MgAl-NAD
0	105	108
5	90	99
15	52	102
30	23	105
60	42	109
90	63	121
120	97	129
150	111	138

7. CONCLUSIONES

- De acuerdo a los resultados obtenidos el HDL **ZnAl-NAD** presenta una liberación controlada, ya que al exponer el material tres veces frente a las bacterias de E.Coli, este continuaba presentando eliminación de bacterias, presentando un efecto bacterioestático en la tercera exposición, ya que no elimino por completo a las bacterias.
- El material **ZnAl-NAD** obtenido por efecto memoria, es un material laminar y muy cristalino pero con un grado de intercalación muy bajo, lo cual hasta cierto punto es una ventaja porque no se requiere de mucho antibiótico para que presente buena actividad antibacterial, esto se debe a un efecto sinérgico entre la matriz inorgánica y el antibiótico.
- En general, sobre los sistemas híbridos analizados la actividad antibacteriana no siempre es función directa de la cantidad de antibiótico intercalado. Parece ser que la actividad depende justamente del sistema matriz inorgánica-antibiótico estudiados.
- De lo anterior surge la idea de que existe, en algunos sistemas, un efecto sinérgico entre la matriz inorgánica y el antibiótico que resulta en un sistema de inhibición eficiente.

8. RECOMENDACIONES

Para obtener una mejor valoración de los materiales, se deberá estudiar las especificaciones respecto a los siguientes aspectos: propiedades organolépticas (color, sabor, olor); pureza (TLC, HPLC, IR); densidad (densidad verdadera, densidad de empaquetamiento, entre otras); forma cristalina (si la tiene); tamaño/distribución de partículas (tamaño medio, homogeneidad, factor de forma, área superficial).

9. SUGERENCIAS PARA TRABAJO FUTURO

Deberá evaluarse cuidadosamente las propiedades fisico-químicas de un fármaco que se considere como un potencial candidato para su empleo en sistemas de liberación controlada.

Debe evaluarse las características del sistema de liberación y en la fisiología y/o anatomía de la zona de aplicación en el organismo.

Se deben investigar materiales que presenten especificaciones estrictas respecto a las propiedades organolépticas (color, sabor, olor), pureza, densidad, forma cristalina (si la tiene) y tamaño/distribución de partículas (tamaño medio, homogeneidad, factor de forma, área superficial).

10. BIBLIOGRAFÍA

- Baker, William H. " Perspectives on Acute Enteric Disease Epidemiology and Control"(Perspectivas en la epidemiología y control de las enfermedades entéricas agudas.) PanAmerican Health Organization Bulletin. 9 (2):148-156.1975.
- Gwatkin, Davison. "How Many Die? A Set of Demographic Estimates of the Annual Number of Infant and Child Deaths in the World"(¿Cuántos mueren?)
- NORMA Oficial Mexicana NOM-112-SSA1-1994, Bienes y servicios. Determinación de bacterias coliformes. Técnica del número más probable.
- Chopra, "The increasing use of silver-based products as antimicrobial agents: a useful development or a cause for concern?" Journal of Antimicrobial Chemotherapy 59 (2007) 587.
- J.-M. Oh, T.T. Biswick, J.-H. Choy, "Layered nanomaterials for green materials". *Journal of Materials Chemistry* (2009) 2553.
- X. Wang, W. Lu, W. Shi, F. Li, W. Min, D.G. Evans, X. Duan, "A thermochromic thin film based on host-guest interactions in a layered double hydroxide". *Langmuir* (2010) 1247.
- S.-J. Choi, J.-M. Oh, J.-H. Choy, "Toxicological effects of inorganic nanoparticles on human lung cancer A549 cells". *Journal of Inorganic Biochemistry* (2009) 463.
- J.-H. Choy, S.-J. Choi, J.-M. Oh, T. Park, "Clay minerals and layered double hydroxides for novel biological applications". *Applied Clay Science* (2007) 122.
- J.-H. Choy, M. Park, J.-M. Oh, "Bio-nanohybrids based on layered double hydroxides". *Current Nanoscience* (2006) 275.

- J.-M. Oh, M. Park, S.-T. Kim, J.-Y. Jung, J.-G. Kang, H. Choy, "Efficient delivery of anticancer drug MTX through MTX-LDH nanohybrid system". *Journal of Physics and Chemistry* (2006) 1024.
- Colin R. Gardner, Potential and limitations of drug targeting: An overview, *Biomaterials*. (1985) 153.
- J. Oh, T. Biswick, J. Choy, Layered nanomaterials for green materials, *J.Mater.Chem.* (2009) 2553.
- S.-J. Ryu, H. Jung, J.-M. Oh, J.-K. Lee, J.-H. Choy, Layered double hydroxide as novel antibacterial drug delivery system, *J. Phys. Chem. Solids*. (2010)685.
- S. Miyata, Physico-Chemical Properties of Synthetic Hydrotalcites in Relation to Composition, *Clays Clay Miner.* (1980) 50.
- de Roy, C. Forano, J.P. Besse, Layered double hydroxides: synthesis and postsynthesis modification, in: V. Rives (Ed.), *Layer. Double Hydroxides Present Futur.*, Nova Sci. Pub. Inc., New-York, 2001: pp. 1.
- P. Benito, F.M. Labajos, V. Rives, Microwaves and layered double hydroxides: A smooth understanding, *Pure Appl. Chem.* (2009) 1459.
- P. Benito, M. Herrero, C. Barriga, F.M. Labajos, V. Rives, Microwave-assisted homogeneous precipitation of hydrotalcites by urea hydrolysis., *Inorg. Chem.* (2008) 5453.
- G. Fetter, F. Hernández, A.M. Maubert, V.H. Lara, P. Bosch, Microwave Irradiation Effect on Hydrotalcite Synthesis, *J. Porous Mater.* (1997) 27.
- J.A.D. Jianyi Shen , J. M. Kobe , Yi Chen, Synthesis and Surface Acid/Base Properties of Magnesium-Aluminum Mixed Oxides Obtained from Hydrotalcites, *Langmuir*. (1994) 3902.
- J. He, M. Wei, B. Li, Y. Kang, D.G. Evans, X. Duan, Preparation of Layered Double Hydroxides, *Struct. Bond.* (2006) 89.

Apendice

- Inayat, M. Klumpp, W. Schwieger, The urea method for the direct synthesis of ZnAl layered double hydroxides with nitrate as the interlayer anion, *Appl. Clay Sci.*(2011) 452.
- A.L. McKenzie, C.T. Fishel, R.J. Davi, Investigation of the surface structure and basic properties of calcined hydrotalcites, *J. Catal.* (1992) 547.
- S. Miyata, "Anion-exchange properties of hydrotalcite-like compounds". *Clays and Clay Minerals* (1983) 305.

11. GLOSARIO

Compuesto tipo hidrotalcita: Es un material micro poroso con estructura laminar y propiedades de intercambio anionico.

Bacteria coliforme: Bacteria que sirve como indicador de contaminantes y Patógenos cuando son encontradas en las aguas. Estas son usualmente encontradas en el tracto intestinal de los seres humanos y otros animales de sangre caliente.

Plásmidos: Son moléculas circulares de ADN que se replican de manera independiente al cromosoma de la célula hospedera.

Bacterias Gram negativas: Dícese de la bacteria que no se tiñe con la coloración de Gram. Sus paredes, que son muy finas, contienen lipopolisacáridos. Pertenecen a este grupo las Salmonella, Escherichia, Neisseria, brucelas, espirilos y vibriones, entre otros.

Anisotropía: Es la propiedad general de la materia según la cual cualidades como: elasticidad, temperatura, conductividad, velocidad de propagación de la luz, etc. varían según la dirección en que son examinadas.

Bactericida: Es una sustancia que tiene la capacidad de matar bacterias.

Bacteriostático: Es aquel que aunque no produce la muerte a una bacteria, impide su reproducción; la bacteria envejece y muere sin dejar descendencia.

Biocida: Son aquellos destinados a destruir, neutralizar, impedir la acción o ejercer control de otro tipo sobre cualquier microorganismo dañino por medios químicos o biológicos.

Glosario

Peptidoglicano: Es un copolímero resistente que protege a las bacterias de una ruptura.

Intrón: Es un fragmento de ADN que está presente en un gen pero que no codifica ningún fragmento de proteína.