APLICACIÓN DE UN NANOCOMPUESTO MAGNÉTICO METÁLICO COMO AGENTE ANTIMICROBIAL EN AGUA CRUDA

MARIA ALEJANDRA CORTES PARDO

OSCAR IVAN JAIMES DIAZ

UNIVERSIDAD PONTIFICIA BOLIVARIANA

FACULTAD DE INGENIERIA

PROGRAMA DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA

BUCARAMANGA, SANTANDER

2015

APLICACIÓN DE UN NANOCOMPUESTO MAGNÉTICO METÁLICO COMO AGENTE ANTIMICROBIAL EN AGUA CRUDA

MARIA ALEJANDRA CORTES PARDO
OSCAR IVAN JAIMES DIAZ

TRABAJO DE GRADO

DIRECTORA:

PhD. SANDRA NATALIA CORREA

UNIVERSIDAD PONTIFICIA BOLIVARIANA
FACULTAD DE INGENIERIA
PROGRAMA DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA
BUCARAMANGA, SANTANDER
2015

ÍNDICE

LISTA DE TABLAS **5**

LISTA DE FIGURAS. **6**

LISTA DE ANEXOS **8**

RESUMEN ..... ¡Error! Marcador no definido.

ABSTRACT **9**

INTRODUCCION **11**

OBJETIVOS **13**

1.1 Nanotecnología: Nanomateriales y Nanopartículas. **14**

1.1.1 Tipos principales de nanopartículas 16

1.1.2 Síntesis de nanopartículas 18

1.1.3 Síntesis de Nanopartículas por medio del método Biológico 18

1.1.4 Métodos de modificación de Nanopartículas 20

1.1.5 Nanopartículas de plata 20

1.2 Microorganismos patógenos **21**

1.2.1 Escherichia Coli 21

1.2.2 Organismos Mesófilos 23

1.2.3 Coliformes totales 23

1.3 Mecanismos de acción antibacterial de las Nanopartículas de plata **25**

1.4 Técnicas de caracterización de nano-partículas metálicas **27**

1.4.1 Espectrofotometría UV-Visible 27

1.4.2 Microscopio electrónico de barrido 28

2. METODOLOGIA **30**

2.1 Materiales y reactivos **32**

2.2 Localización de la Planta de Tratamiento de Agua Potable de Floridablanca **34**

2.3 Síntesis de nanocompuestos magnéticos metálicos. **35**

2.3.1 Síntesis de las nanopartículas con extracto vegetal 35

2.3.2 Formación de los nanocompuestos magnéticos metálicos 37

2.4 Diseño Experimental **40**

2.5 Aplicación de los nanocompuestos al agua cruda **42**

2.6 Determinación del porcentaje de recuperación **43**

2.7 Análisis de la capacidad antimicrobial de los nanocompuestos **45**

2.7.1 Análisis microbiológico de las muestras de agua. 45

3. ANÁLISIS DE RESULTADOS **46**

Fase I. Síntesis de los nanocompuestos magnéticos metálicos. **46**

3.1 Análisis de resultados de nanopartículas de plata por Ultravioleta Visible **46**

3.2 Caracterización por medio del microscopio electrónico de barrido. **47**

3.2.1 Caracterización por SEM para las nanopartículas de plata 47

3.2.2 Caracterización por SEM y EDS para la magnetita 48

3.2.3 Caracterización de los nanocompuestos magnéticos metálicos por SEM y EDS. 51

Fase II. Aplicación de los nanocompuestos magnéticos metálicos en agua **53**

3.3 Análisis de la aplicación de nanocompuestos en agua cruda **53**

Fase III. Porcentaje de recuperación de los nanocompuestos magnéticos metálicos del agua tratada 58
3.4 Porcentaje de recuperación nanocompuestos 58
4. CONCLUSIONES 61
5. RECOMENDACIONES 62
6. Referencias Bibliográficas 63
7. Anexos. 66

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Calificación de los Nanomateriales según su aspecto y dimensión.____ 15
Tabla 2. Tipos de nanopartículas distinguidas desde el carácter organizacional de la materia. _____ 17
Tabla 3. Síntesis de nanopartículas realizadas a partir de extractos de plantas._ 19
Tabla 4. Mecanismos de acción bactericida de las Nanopartículas de Plata. ___ 26
Tabla 5. Materiales y equipos empleados en el proyecto. _____ 32
Tabla 6. Factores y niveles para el diseño experimental._____ 41
Tabla 7. Parámetros para análisis microbiológico de Agua Potable. _____ 45
Tabla 10. Resultados microbiales de las muestras de agua cruda después del tratamiento con nanocompuestos. _____ 54
Tabla 11. Pruebas microbiológicas obtenidas para el agua destilada sin magnetita y con magnetita. _____ 57
Tabla 12. Porcentaje de recuperación de los nanocompuestos magnéticos metálicos. _____ 59

LISTA DE FIGURAS.

Figura 1. Curva de crecimiento de Escherichia coli: 1) fase de adaptación. 2) fase logarítmica o exponencial 3) fase de transición 4) fase estacionaria……23
Figura 2 Componentes internos y externos del espectrofotómetro……28
Figura 3: Equipo completo del Microscopio electrónico de Barrido……30
Figura 4: Esquema general de la metodología aplicada……32
Figura 5. Vista lateral de la PTAP-Floridablanca……35
Figura 6: Primer proceso para la síntesis de nanopartículas a partir de sales precursoras y extracto de guayaba……37
Figura 7. a) Equipo de chaqueta de calentamiento, b) adición de ácido clorhídrico (2M),c) Magnetita sintetizada y capacidad magnética, d) Magnetita seca……..39
Figura 8: Centrifugación y lavados de el precipitado obtenido……41
Figura 9: Procedimiento para la formación de nanocompuestos magnéticos metálicos……41
Figura 10. Ilustración del Equipo de Jarras con el montaje de seis pruebas…….44
Figura 11. Proceso de secado de los nanocompuestos magnéticos metálicos para pesaje……..45
Figura 12. Espectro UV-VIS de las nanopartículas de plata sintetizadas con extracto de guayaba……..48
Figura 13 . Micrografía representativa del microscopio electrónico de barrido de las nanopartículas, sintetizadas a partir de Extracto de guayaba……50
Figura 14. Micrografía representativa del microscopio electrónico de barrido de la magnetita sintetizada a partir de hierro y acido clorhídrico……51
Figura 15. Espectrometría de dispersión de energía de rayos x de magnetita…..52
Figura 16. Micrografía representativa del SEM de los nanocompuestos magnéticos metálicos, sintetizados a partir magnetita y nanopartículas……..53
Figura 17. Espectro de EDS de los nanocompuestos magnéticos metálicos…….54
Figura 18. Porcentajes de remoción de Mesofilos según el tiempo de contacto a diferentes concentraciones de AgNPM's……..…58

Figura 19. Cambio en la pigmentación de las muestras: a) Agua destilada inicial y b) Muestra de agua destilada en presencia de magnetita……60
Figura 20. Porcentaje de recuperación de los nanocompuestos magnéticos metálicos del agua tratada……..……62

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1. Resultados microbiológicos realizados antes y después del tratamiento con nanocompuestos magnéticos metálicos.

RESUMEN GENERAL DE TRABAJO DE GRADO

TITULO:	APLICACIÓN DE UN NANOCOMPUESTO MAGNÉTICO METÁLICO COMO AGENTE ANTIMICROBIAL EN AGUA CRUDA
AUTOR(ES):	MARIA ALEJANDRA CORTES PARDO OSCAR IVAN JAIMES DIAZ
FACULTAD:	Facultad de Ingeniería Ambiental
DIRECTOR(A):	SANDRA NATALIA CORREA

RESUMEN

La implementación de nanopartículas de plata ha presentado un aumento significativo a nivel global, debido a su gran potencial en diversas áreas tanto de la bioingeniería, ciencias puras, industrias y aplicaciones ambientales. Dentro de las aplicaciones ambientales se encuentra el área correspondiente a la desinfección del agua cruda, que ha tomado gran importancia en la actualidad, debido al incremento poblacional y al aumento de la contaminación que afectan estas aguas y los cuerpos hídricos implicados. La finalidad de esta investigación es la evaluación de la capacidad antimicrobial de los nanocompuestos magnéticos metálicos en el agua cruda del acueducto metropolitano de Bucaramanga Seccional Floridablanca, teniendo en cuenta colonias de Mesófilos, coliformes y E. Coli. Para lograr esta finalidad inicialmente se realizó la síntesis de los nanocompuestos magnéticos metálicos a partir de un extracto vegetal de Psidium guajava y una sal precursora de Nitrato de Plata (AgNO3) de concentración 0,034 g/ml con una modificación adicionando Fe2+(Fe3+)2O4 para darle características magnéticas al nanocompuesto. Los nanocompuestos sintetizados fueron caracterizados por UV-Vis, SEM, EDS y posteriormente aplicados en muestras de agua cruda tomadas del Acueducto Metropolitano para remover los microorganismos presentes en el agua. Finalmente se evaluó el porcentaje de recuperación de los nanocompuestos adicionados al agua por medio de un campo magnético generado externamente. Los resultados obtenidos demostraron que los nanocompuestos sintetizados Absorben Radiación electromagnética a la determinada longitud de onda de 416nm, lo que indica la presencia de plata, con tamaño de 26,79nm y con una mayor presencia de Carbono en un 33,64%. En el agua cruda los nanocompuestos removieron los Mesófilos en 83,5% en promedio, los coliformes en un 100% y se confirmó la ausencia de E. Colli en el agua cruda. Los nanocompuestos magnéticos metálicos aplicados en el agua cruda fueron recuperados con un porcentaje entre 66 y 98%.

PALABRAS CLAVES:

Nanocompuestos, agua cruda, campo magnético, microorganismos patógenos.

V° B° DIRECTOR DE TRABAJO DE GRADO

GENERAL SUMMARY OF WORK OF GRADE

TITLE:	Aplication of a metal magnetic nanocomposite as an antimicrobial agent in raw water.
AUTHOR(S):	MARIA ALEJANDRA CORTES PARDO OSCAR IVAN JAIMES DIAZ
FACULTY:	Facultad de Ingeniería Ambiental
DIRECTOR:	SANDRA NATALIA CORREA

ABSTRACT

In recent years, design, development and implementation of silver nanoparticles has significantly increased globally, due to its great potential in several areas such as bioengineering, pure sciences, industrial and environmental applications (Arizaga, N., Ibarz, G., Pinol, R., 2010). Between the environmental applications is raw water disinfection, which has become very important today due to population growth and increased pollution affecting these waters and water bodies involved. The purpose of this research is to evaluate the antimicrobial ability of metal magnetic nanocomposites in raw water treated by the Metropolitan Aqueduct of Bucaramanga – Floridablanca Treatment Plant, considering colonies of microorganisms such as mesophilic, coliforms and E. coli. To achieve this, metal magnetic nanocomposites were initially synthesized from a plant extract of Psidium guajava and a precursor salt of silver nitrate (AgNO3)), at a concentration of 0.034 g/mL, with a modification adding magnetite Fe2+(Fe3+)2O4 to give the nanocomposite magnetic characteristics. The synthesized nanocomposites were characterized by UV-Vis, SEM, EDS and subsequently applied in samples of raw water taken from the Metropolitan Aqueduct to remove the present microorganisms. Finally, the nanocomposite recovery efficiency through a magnetic field generated externally was evaluated. The results showed that the synthesized nanocomposite absorbing at wavelengths of 416 nm contains silver; at 26,79 nm contains carbon in a 33.64%. In raw water, nanocomposites removed 83.5% of mesophilic, and 100% of coliform microorganisms. Metallic magnetic nanocomposites applied in raw water were recovered with an efficiency between 66 and 98%.

KEYWORDS:

nanocomposites , raw water , magnetic field, Pathogen .

V° B° DIRECTOR OF GRADUATE WORK

INTRODUCCION

Durante las últimas dos décadas los temas relacionados con la parte nanotecnológica, ha concebido una importancia significativa debido a su elevado carácter multidisciplinar con especial relevancia científica y social. Hablar de nanociencia y nanotecnología es hablar de innovación. Los desarrollos y aplicaciones industriales que realiza la nanotecnología a partir de la investigación básica son absolutamente innovadores, desde nuevos materiales con aplicaciones en medicina (fabricación de ligamentos o tendones artificiales) o en construcción (edificios que se puedan autoabastecer energéticamente), hasta dispositivos electrónicos cada vez más diminutos y potentes (Hernani, J. 2011).

Para la implementación de nano-partículas metálicas es necesario realizar procedimientos que las sinteticen y así ser incorporadas a los diferentes campos y productos en desarrollo. Los procedimientos actuales que permiten la elaboración de nanomateriales son clasificados en cuatro categorías: procedimientos mecánicos, físicos, químicos y biológicos (Flores-González, M., Villabuena-Ibáñez, M., and Bazzi, R., 2009; Sastry et al., 2003). Las nanopartículas se pueden crear a partir de extractos de plantas siendo un método ambientalmente amigable. Estos pueden ser utilizadas como agente antimicrobial en diferentes campos como tratamiento de agua residual o agua cruda.

El agua cruda, definida por el decreto número 475 de 1998, como aquella agua que no ha sido sometida a procesos de tratamiento, contiene indicadores de contaminación microbiológica del agua definiendola como no apta para consumo humano, por tanto según la resolución 2115 del 2007 es necesario mediante análisis microbiológicos especializados medir principalmente la presencia de Clostriosporidium, coliformes, que se describen como bacterias Gram negativas en forma bacilar, Escherichia Coli, que es un bacilo aerobio Gram negativo que indica contaminación fecal en el agua y como prueba adicional se recomienda realizar la determinación de microorganismo mesofílicos.

La aplicación práctica y ambientalmente amigable de las nanopartículas es ahora una preocupación en todos los campos, por tal motivo para el campo del tratamiento del agua surge la aplicación de nanocompuestos magnéticos metálicos sintetizados a partir del extracto natural de la fruta, siendo este un posible método económico y práctico para el tratamiento del agua cruda, ya que aprovecha la capacidad antimicrobial de las nanopartículas y su fácil recuperación

después de cumplido su objetivo por medio de un campo magnético generado por un imán debido a sus características magnéticas.

En el presente trabajo se realizó la síntesis de nanopartículas a partir de extractos vegetales. Estas nanopartículas sintetizadas fueron modificadas con magnetita para darles un carácter o polaridad a la nanoparticula. Adicionalmente las nanopartículas fueron caracterizadas por técnicas como SEM, EDS y UV-Vis. Finalmente fueron utilizadas con aplicación ambiental en agua crudas obtenida de la planta de tratamiento de agua potable del municipio de Floridablanca. Al mismo tiempo, con este trabajo se busca contribuir con la línea de investigación de Nanopartículas Aplicadas en diferentes campos en la Universidad Pontificia Bolivariana, aportando al desarrollo de futuras investigaciones al ser este un tema en evolución.

OBJETIVOS

Objetivo General

Evaluar el potencial antimicrobial de los nanocompuestos magnéticos metálicos de plata (AgNPM’s) en agua cruda tomada de la PTAP de Floridablanca.

Objetivos Específicos

- Sintetizar los AgNPM’s a partir de la sal precursora con extracto de guayaba.
- Evaluar la aplicación de AgNPM’s para la eliminación de microorganismos en agua cruda.
- Determinar el porcentaje de recuperación de los AgNPM’s utilizadas en el proceso.

1. MARCO TEORICO

1.1 Nanotecnología: Nanomateriales y Nanopartículas.

La nanotecnología es la creación de materiales, dispositivos y sistemas útiles por medio de la manipulación de la materia a una escala nanoscopica. Debido a su pequeño tamaño, los dispositivos a escala manométrica pueden interactuar fácilmente con biomoléculas localizadas tanto en la superficie como en el interior de las células (Camacho, J; Deschamps, L. 2013)

Los Nanomateriales son una nueva clase de materiales (sean cerámicos, metales, semiconductores, polímeros o bien una combinación de estos), en donde, por lo menos una de sus dimensiones se encuentra entre 1 y 50nm.

Un material de orden micrométrico presenta propiedades similares a las de un sólido volumétrico, mientras que en los de orden nano se pueden modificar las propiedades, haciéndolo diferente con respecto al mismo en dimensión macro (Gutiérrez Wing, 2005).

Los nanomateriales se pueden clasificar según sus dimensiones, esta clasificación se basa primordialmente en el aspecto del material y en cuantas dimensiones en la escala nanométrica presenta (Rico, A., 2013). Los tipos de Nanomateriales de acuerdo a sus dimensiones se presentan en la tabla 1.

Tabla 1. Calificación de los nanomateriales según su aspecto y dimensión.

Tipo de nanomaterial	Característica
Cero dimensional	Se define como aquel en el que todas sus dimensiones son lineales tienen el mismo orden de magnitud, el cual no excede los 100nm (nanopartículas).
Unidimensional	Solo se presenta una dimensión en la escala de los nanómetros. Estos materiales por lo general son finas capaz, películas o recubrimientos superficiales. (nanoalambre y nanotubos)
Bidimensionales	Poseen dos dimensiones en la escala nanométrica; incluyen películas delgadas firmemente unidas a un sustrato o filtros con nanoporos.
Tridimensionales	Materiales constituidos por unidades nanométricas, por lo cual pueden presentar diferentes morfologías.

Fuente: Autores

1.1.1 Tipos principales de nanopartículas

Los nanomateriales se clasifican en cuatro clases principales según su base: Materiales a base de carbón: de forma esférica, elipsoidales o tubulares. Materiales de base metálica: pueden ser puntos cuánticos o transistores de un solo electrón, o nanopartículas de oro, plata o de metales reactivos. Dendrímetros: polímetros nanométricos construidos a modo de árbol. Composites: combinan ciertas nanopartículas con otras o con materiales de mayor dimensión (Mora, E. 2006) .

Una Nanoparticula tiene el tamaño de algunos nanómetros, y sus propiedades tanto físicas como químicas son diferentes a las que presenta el material en la escala de centímetros. Existen diferente tipos de nanopartículas, en las cuales es posible distinguir el carácter organizacional de la materia como se muestra en la tabla 2.(Quintana, M; Hirschbein L; Pérez, E. 2008).

Tabla 2. Tipos de nanopartículas distinguidas desde el carácter organizacional de la materia.

Tipos de nanopartículas	Características
Semiconductoras	Se fabrican a partir de la combinación de un precursor metálico. Posee propiedades fotoluminiscentes (capaz de absorber luz UV) para después ser emitida en una longitud de onda.
Metálicas	Contienen un número determinado de electrones libre confinados en un espacio muy pequeño. Poseen propiedades de resonancia plasmónica (interactúan específicamente con la luz cambiando su color)
Otras	Magnéticas: Empleadas en el mejoramiento de imágenes en el diagnóstico médico. Dieléctricas: Empleadas en la computación cuántica, porque pueden ser selectivamente excitadas por medio de pulsos ópticos.

Fuente: Autores.

1.1.2 Síntesis de nanopartículas

La manipulación de las condiciones de síntesis de nanopartículas permite el control racional de la morfología de las partículas y provee el medio para adaptar las propiedades de los materiales durante el proceso de síntesis. Otro aspecto fundamental que provee la síntesis de nanopartículas es que permite su estabilización, de tal manera que pueda mantenerse su tamaño y su forma en función del tiempo. La síntesis de nanopartículas permite explotar sus propiedades únicas, lo que puede llevar a nuevas aplicaciones en catálisis, electrónica, fotónica, magnetismo así como sensado químico y biológico (Zanella, R. 2012).

Los métodos de síntesis de nanopartículas suelen agruparse en dos secciones, las aproximaciones –de arriba hacia abajo- y las –de abajo hacia arriba- (Rao *et al.,2004; Schmid, 2004).* La primera consiste en la división de sólidos másicos en porciones más pequeñas. La segunda aproximación, consiste en la fabricación de nanopartículas a través de la condensación de átomos o entidades moleculares en una fase gaseosa o en solución.

1.1.3 Síntesis de Nanopartículas por medio del método biológico

La síntesis biológica de Nanomateriales ha sido una opción para la obtención de dichos materias, ya que estos resultan ser más amigables con el medio ambiente. En la biosíntesis se involucran microorganismos como las bacterias, hongos y levaduras o extractos de plantas, los cuales logran la reducción de varios tipo de iones metálicos (Sastry et al., 2003). Los organismos vivos pueden llegar a producir nano-partículas intra o extracelular, siendo ésta última la más implementada por los investigadores debido su bajo costo y por ser más adaptable (Basavaraja et al., 2008).

El empleo de extractos de plantas como agentes reductores, pueden llegar a ser una vía más rápida que la implementación de microorganismos para la preparación de nano-partículas.

En la tabla 3 se presentan algunas investigaciones realizadas anteriormente que reflejan la síntesis de nanopartículas por medio de un método biológico empleando extracto de plantas y sus respectivos picos como resultado de su caracterización para tamaño.

Tabla 3. Síntesis de nanopartículas realizadas a partir de extractos de plantas.

Planta empleada	Tipo de Nanoparticula	Tamaño	Bibliografía
Nopal *(Opuntia ficus-indica)*	Nanopartícula de Oro	350 nm	Biosíntesis de nanopartículas de oro mediante el extracto de Opuntia ficus-indica, Sociedad mexicana de ciencia y tecnología de superficies y materiales.
Cilantro (*Coriandrum sativum)*	Nanopartícula de Plata	430 nm	Sintesis de nanopartículas de plata y modificiacion con pulpa de papel para aplicación antimicrobial, Camacho, J., Deschams, L. (2013)
Ajo *(Allium sativum)*	Nanopartícula de Plata	400 nm	Sintesis verde de nanopartículas de plata mediante el uso del ajo, Cardeño, L., Londoño, Marta.(2014)
Planta de té (*Camellia sinensis)*	Nanopartículas bimetalizas Au/Ag	526 nm	Modificación del tamaño y la forma de nanopartículas mono y bimetálicas de oro y plata inducida por láser, obtenidas mediante un método biológico, Rico Moctezuma, A. (2013)

Fuente: Autores.

1.1.4 Métodos de modificación de Nanopartículas

Diferentes métodos se han realizado para modificar la superficie de las nanopartículas, con el fin de investigar propiedades que presentan los materiales a la escala nanométrica, su dependencia con el tamaño y la forma, y la correlación que guardan con los parámetros asociados con métodos de preparación de nanopartículas; por otra parte, la modificación superficial de nanopartículas con grupos funcionales representa uno de los métodos más comunes de obtener nuevas propiedades en nanomateriales. (Camacho, J; Deschamps, L. 2013)

1.1.5 Nanopartículas de plata

Durante mucho tiempo se ha utilizado la plata en diversos campos por sus cualidades antibacterianas. La plata ha sido reconocida y probada en diversas aplicaciones como un excelente agente antimicrobiano por su alta actividad biocida. Sin embargo, usarla en forma de nanopartículas resulta más beneficioso, ya que es más económico (Alonso, Vigués, Muñoz-Bertel, Macanás, Muñoz, & Mas, 2011).

Las nanopartículas de plata exhiben un mejor efecto antibacteriano, y debido a su tamaño pequeño, el área superficial con respecto al volumen es mucho mayor (Doll, 2010). Las bacterias, los virus y los hongos dependen de una enzima para metabolizar el oxígeno para vivir; los iones de plata interfieren con esta enzima y desactiva la absorción de oxígeno, inactivando así al microorganismo. (Pelayo, 2007). Diferentes rutas de producción de nanopartículas de plata han sido investigadas. Algunas están basadas en la reducción de nitrato de plata por borohidruro de sodio o citrato de sodio. Otros métodos incluyen el uso de microondas, electrólisis, microemulsión y foto- reducción de iones de plata (Morales, Moran, Quintana, & Estrada, 2009).

1.2 Microorganismos patógenos

Los microorganismos son los seres más primitivos y numerosos que existen en la Tierra, Colonizan todo ambiente: suelo, agua y aire, participan de forma vital en todos los ecosistemas y están en interacción continua con las plantas, los animales y el hombre. Los microorganismos son clave para el funcionamiento de los sistemas biológicos y el mantenimiento de la vida sobre el planeta, pues participan en procesos metabólicos, ecológicos y biotecnológicos de los cuales dependemos para sobrevivir y enfrentar los retos del futuro. Los microorganismos se agrupan en dos categorías: procarióticos y eucarióticos. En la primera están las *Archaeas* y las bacterias, mientras que en la segunda se encuentran hongos, algas y protozoarios. No obstante, de manera convencional los virus, viroides y priones son también considerados microorganismos. Los microorganismos patógenos son aquellos que dañan la salud humana, y son principalmente bacterias, virus y protozoarios (Camacho, J., Deschamps L. 2013).

Existen varios microorganismos en el agua cruda entre los cuales se encuentran microorganismos como: E. Colli, Mesófilos y coliformes totales los cuales al ser los más representativos y referenciados por la ley serán objeto de estudio de este trabajo de investigación.

1.2.1 Escherichia Coli

La *Escherichia coli*, es una de las especies bacterianas más minuciosamente estudiadas, no solamente por sus capacidades patogénicas sino también como modelo de investigaciones metabólicas, genéticas, poblacionales y de diversa índole (ASM Press, 1990). Forma parte de la familia *Enterobacteriaceae.* La familia Enterobacteriaceae está formada por más de 20 géneros bacterianos, aproximadamente 120 especies y miles de serotipos (combinación del antígeno somático y el flagelar). Las bacterias de esta familia, son anaerobias facultativas.

La mayor parte son de vida libre, algunas son comensales de animales vertebrados e invertebrados. Sin embargo, también pueden ser patógenos causantes de enfermedad.(Molina, J., Eslava, C., 2014)

Escherichia coli es la especie bacteriana más común de la microbiota intestinal; se presenta como un comensal del intestino humano pocas horas después del nacimiento. Es raro encontrar cepas comensales asociadas a enfermedad. Empero, existen varios prototipos de *E. coli* implicados en un amplio espectro de enfermedades agrupados en tres síndromes clínicos. (Iguchi et al., 2009).

La mayoría de los agentes patógenos transmitidos por el agua no crecen en el agua e inician la infección en el aparato digestivo tras su ingestión, sino que entran en los sistemas de abastecimiento de agua mediante su contaminación con heces humanas o animales (Grabow W, Taylor M, Villiers, 2001).

En la figura 1 se presentan las fases de crecimiento de la *E. coli*: fase de latencia, fase logarítmica o exponencial, fase estacionaria y fase de muerte. En la fase de adaptación, las células se adaptan al nuevo ambiente, las cuales dependen de las condiciones en que estaban antes de introducirlas al medio. En la fase logarítmica o exponencial las células comienzan a crecer y dividirse según las condiciones existentes. Cuando un nutriente del medio se acaba la bacteria alcanza la fase estacionaria en la cual ya no hay crecimiento neto.

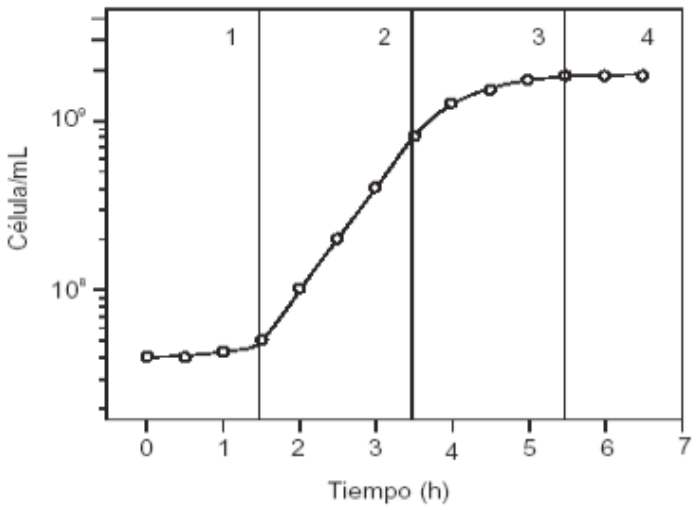


Figura 1. Curva de crecimiento de Escherichia coli: 1) fase de adaptación. 2) fase logarítmica o exponencial 3) fase de transición 4) fase estacionaria**.**

*Fuente: (Garzon Ruiz, Gomez Guerrero, 2007)**.***

1.2.2 Organismos Mesófilos

Los organismos mesófilos son todas aquellas bacterias aerobias o anaerobias facultativas, mesófilas o psicrófilas capaces de crecer en agar nutritivo. Los organismos mesófilos se investigan por el método de recuento en placa con siembra en profundidad, que se basa en contar el número de colonias desarrolladas en una placa de medio de cultivo sólido.

Los recuentos "totales" expresan el número por gramos o mililitros de (UFC), de alimentos obtenido en determinadas condiciones de cultivo en medio sólido incubado en aerobiosis.

1.2.3 Coliformes totales

Los coliformes totales son una amplia variedad de bacilos aerobios y anaerobios facultativos, gramnegativos y no esporulantes capaces de proliferar en presencia

de concentraciones relativamente altas de sales biliares fermentando la lactosa y produciendo ácido o aldehído. *Escherichia coli* y los coliformes termotolerantes son un subgrupo del grupo de los coliformes totales que pueden fermentar la lactosa a temperaturas más altas. Los coliformes totales incluye especies fecales y ambientales. Incluye microorganismos que pueden sobrevivir y proliferar en el agua. Por consiguiente, no son útiles como índice de agentes patógenos fecales, pero pueden utilizarse como indicador de la eficacia de tratamientos y para evaluar la limpieza e integridad de sistemas de distribución y la posible presencia de biopelículas.

Las bacterias pertenecientes al grupo de los coliformes totales (excluida *E. coli*) están presentes tanto en aguas residuales como en aguas naturales. Algunas de estas bacterias se excretan en las heces de personas y animales, pero muchos coliformes son heterótrofos y capaces de multiplicarse en suelos y medios acuáticos. Los coliformes totales pueden también sobrevivir y proliferar en sistemas de distribución de agua, sobre todo en presencia de biopelículas. (Ashbolt NJ, Grabow WOK y Snozzi M, 2001)

Debe haber ausencia de coliformes totales inmediatamente después de la desinfección del agua, siendo la presencia de estos microorganismos indicador de que el tratamiento es inadecuado. La presencia de coliformes totales en sistemas de distribución y reservas de agua almacenada puede revelar una reproliferación y posible formación de biopelículas, o bien contaminación por la entrada de materias extrañas, como tierra o plantas.

1.3 Mecanismos de acción antibacterial de las Nanopartículas de plata

Varios estudios indican que las nanopartículas de plata se pueden adherir a la membrana celular, alterando la permeabilidad celular y funciones respiratorias de la célula. Es posible que las Nps-Ag no sólo interactúen con la superficie de la membrana, sino que también penetren al interior de la bacteria.

La función que pueden tener los agentes de superficie de las Nps, aparte de su mecanismo de estabilización, es su actividad antimicrobiana. Por ejemplo, se ha visto que las Nps-Ag estabilizadas con lauril sulfato de sodio (SLS) tienen mayor actividad antibacteriana que las formulaciones con Tween 80 mediante un mecanismo de sinergia. Es posible que el lauril sulfato de sodio como surfactante iónico pueda penetrar o alterar la pared celular, especialmente en las bacterias Gram positivas. De tal manera que el efecto bactericida de las Nps-Ag puede ser un sinergismo de los mecanismos explicados en la tabla 4.

Tabla 4. Mecanismos de acción bactericida de las nanopartículas de Plata.

Mecanismo	Efecto
1	El material estabilizante y las Nps-Ag desestabilizan la membrana bacteriana, y con esto, alteran su permeabilidad, provocando un daño irreversible.
2	Las Nps-Ag se internalizan en la bacteria con facilidad debido a su tamaño diminuto.
3	Las Nps-Ag en su trayecto van liberando iones de plata que funcionan como un reservorio del agente bactericida alterando el citoplasma.
4	Los iones de plata se enlazan con grupos sulfhidrilos de biomoléculas y con compuestos fosforosulfurados como el ADN inactivando a la bacteria. Estos mecanismos pueden darse simultáneamente.

Fuente: Artículo Nanopartículas de Plata: tecnología para su obtención caracterización y actividad biológica 2013, Gerardo Leyva Gómez.

La implementación de las AgNPs se ve justificada dado el efecto inhibidor que ejerce ante los microorganismos, este efecto se lleva a cabo mediante las cargas electrostáticas, esto se explica debido a que la membrana celular de estos microorganismos se encuentran cargadas negativamente y las nanopartículas positivamente lo cual genera que estas últimas se aglomeren a su alrededor generando así la muerte del microorganismo. (Martinez, D; Silva, A. 2014).

También se considera que las nanopartículas de plata destruyen la membrana celular semipermeable de los microorganismos debido a la concentración en la que se encuentra a tan pequeña escala lo cual satura el medio donde se desarrollan los individuos microorgánicos. (Bindlu; Umadevi, 2014).

Los estudios actuales en el tema de Nps-Ag se centran en nuevas plataformas de síntesis a nano escala, empleo de biorreactores para su obtención, nuevas aplicaciones (ya sea por combinación con otros materiales o por modificaciones en el arreglo espacial), amplios estudios de citotoxicidad y evaluación del grado de efecto bactericida en distintas cepas bacterianas. Las investigaciones actuales se perfilan para que en un futuro se pueda disponer de formulaciones bactericidas de Nps-Ag de mayor seguridad y de una eficacia más prolongada.

1.4 Técnicas de caracterización de nano-partículas metálicas

1.4.1 Espectrofotometría UV-Visible

El estudio a nivel de cualquier molécula requiere la implementación de técnicas analíticas la cuales permitan una determinación cualitativa y cuantitativa como lo son las caracterización físico-química y biológica.

Con el método de espectrofotometría UV-Visible se pueden identificar y cuantificar biomoléculas en soluciones y en muestras biológicas, utilizando reactivos específicos que reaccionan con el compuesto a analizar, el cual forma un producto coloreado que permite detectarlo. Las moléculas a analizar deben presentar una capacidad para absorber radiación. Las longitudes de onda que puedan llegar a ser adsorbidas por las partículas dependen de las condiciones del medio como el pH, temperatura, fuerza iónica, y su constante dieléctrica.

Las moléculas pueden absorber energía luminosa y almacenarla en forma de energía interna. Lo cual logra el funcionamiento de los ciclos vitales como la fotosíntesis en plantas y bacterias. Cada molécula tiene una serie de estados excitados que la distingue del resto de moléculas y permite la captación máxima

de energía. Por tal motivo el espectro de adsorción es el fenómeno que presenta una molécula al ser sometida a diferentes longitudes de onda. En la figura 2 se presentan las partes que componen un espectrofotómetro UV-Vis., formado por una fuente de luz que ilumina la muestra, un monocromador para aislar las radiaciones de longitud de onda deseada, un colimador que es un lente que lleva el haz de luz entrante hacia un prisma, el compartimiento de la muestra y el registrador o lector que convierte el fenómeno físico en número.

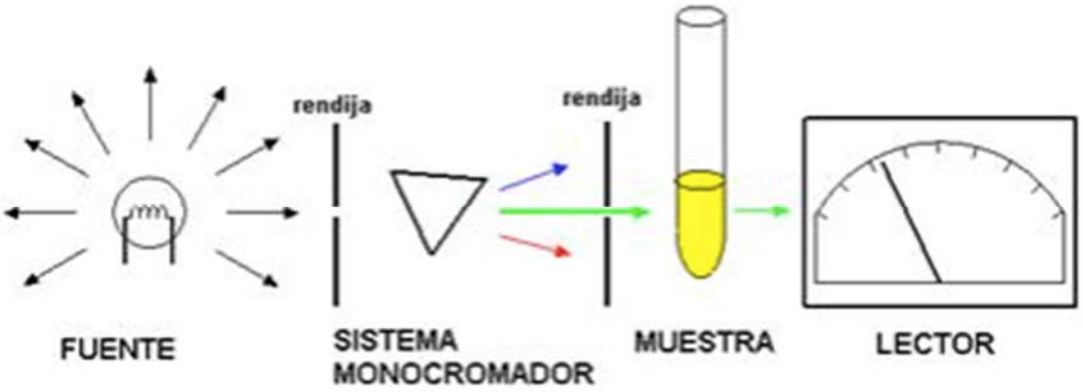


Figura 2 Componentes internos y externos del espectrofotómetro

Fuente: http://repositorio.innovacionumh.es/Proyectos/P_22CursoMateriales;2015.

1.4.2 Microscopio electrónico de barrido

El microscopio electrónico de barrido o SEM (Scanning Electron Microscopy), utiliza un haz de electrones en lugar de un haz de luz para formar una imagen ampliada de la superficie de un objeto. El SEM es un instrumento que permite la observación y caracterización superficial de sólidos inorgánicos y orgánicos. Tiene una gran profundidad de campo, la cual permite que se enfoque a la vez una gran parte de la muestra.

Es posible realizar estudios de los aspectos morfológicos de zonas microscópicas de los distintos materiales con los que trabajan los investigadores científicos y las

empresas privadas, además del procesamiento y análisis de las imágenes obtenidas. Las principales utilidades del SEM son la alta resolución (~1 nm), la gran profundidad de campo que le da apariencia tridimensional a las imágenes y la sencilla preparación de las muestras.

La preparación de las muestras que van a ser analizadas por el SEM, es relativamente sencilla las principales características son: muestra sólida y conductora. En el caso que la muestra no tenga propiedades conductoras, la muestra es recubierta con una capa de carbón o una capa delgada de un metal como el oro. De lo contrario, las muestras no conductoras se trabajan en bajo vacío.

Las aplicaciones del equipo son muy variadas, y van desde la industria petroquímica o la metalurgia hasta la medicina forense. En la figura 3, se presenta el equipo de SEM utilizado para el análisis de las nanopartículas de plata y nanocompuestos de esta investigación.

Figura 3: Equipo completo del Microscopio electrónico de Barrido

FUENTE: http://servicios.unileon.es/microscopia/servicios-y-equipamiento/ Fecha de actualización: 28 de enero de 2015.

2. METODOLOGIA

Para poder evaluar el potencial antimicrobial de los nanocompuesto magnéticos metálicos se realizó una investigación cuantitativa de tipo teórico-experimental en tres fases. En la primera fase se sintetizaron las nanopartículas de plata (AgNPs) por métodos eco-amigables utilizando los extractos de plantas, en específico de la *Psidium guajava*, adicionalmente realizó la modificación con magnetita de las nanopartículas. En la segunda fase se aplicó los nanocompuestos para determinar su actividad antimicrobial en agua cruda. Finalmente, la determinación del porcentaje de recuperación de los nanocompuestos del agua cruda.

La síntesis de las nanopartículas, la determinación de su capacidad antimicrobial y la implementación en el agua cruda se realizaron en las instalaciones de la Universidad Pontificia Bolivariana, seccional Bucaramanga, específicamente en los Laboratorios de Agua Potable y Suelos del programa de Ingeniería Ambiental. La modificación de las nanopartículas de plata se realizó en la Universidad de Cartagena, campus Piedra de Bolívar, específicamente en los laboratorios de Ciencias de los Materiales y Biotecnología del programa de Ingeniería Química.

En la figura 4 se presenta el esquema general de la metodología desarrollada en el presente proyecto diseñado por fases.

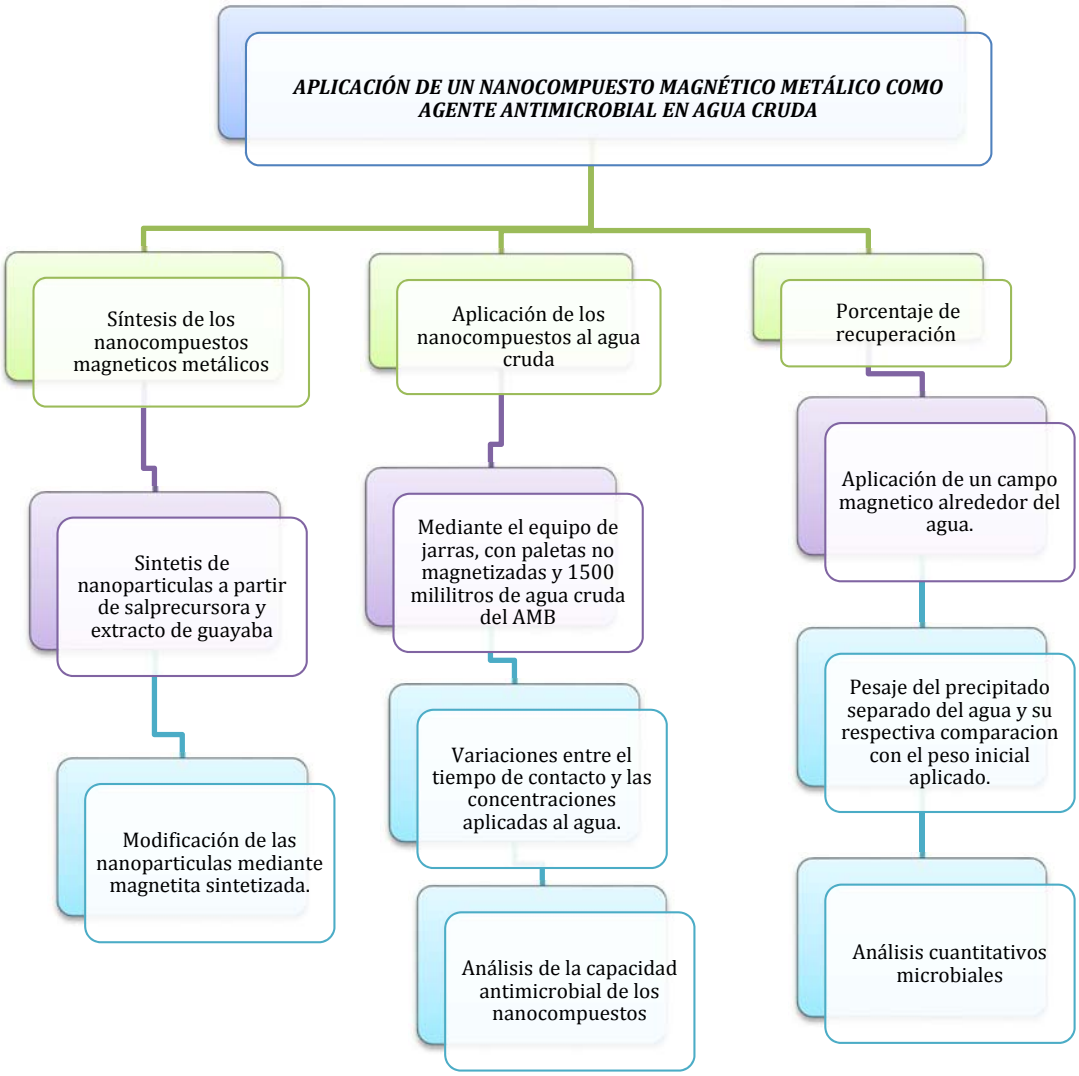


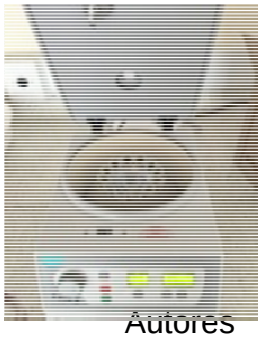
Figura 4: Esquema general de la metodología aplicada.

Fuente: Autores

2.1 Materiales y reactivos

Para la realización de este proyecto y la ejecución de su metodología se eplearon varios equipos los cuales se resumen en la tabla 5.

Tabla 5. Materiales y equipos empleados en el proyecto.

Equipo	Ilustración	Aplicación
Chaqueta de calentamiento	 *http://www.cienytec.com/lab2mantas* *Última fecha de visualización: 14/06/15*	Esta chaqueta de calentamiento fue requerida para la fabricación de la magnetita ya que para este proceso se necesita un calor específico para su formación.
Equipo de Centrifugación	 Autores	Se requirió el equipo para dos fases de la síntesis, la primera fase para obtener el precipitado de las nanopartículas de plata, la segunda fase para obtener los nanocompuestos y realizarles su respectivo lavado.
Equipo de Agitación constante (shaker)	 Fuente: Autores	Este equipo fue requerido para realizar la síntesis entre las nanopartículas de plata y la magnetita para fabricar los nanocompuestos magnéticos metálicos, ya que requería 48 horas en agitación para

		enlazaran los compuestos.
Ultrasonido	Fuente: Autores	Este equipo fue requerido para suspender las partículas para facilitar su enlace.
Equipo de Jarras	Fuente: Autores	El equipo de jarras se implementó para la fase experimental del proyecto, ya que este requería de agitación constante durante 24, 48 y 72 horas para así poder evaluar el efecto antimicrobial de los nanocompuestos magnéticos en agua cruda.
Barras magnéticas	Fuente: http://www.webquest.es/wq/magnetismo-y-electromagnetismo Última fecha de visualización: 14/06/15	El campo magnético fue necesario para la recuperación de los nanocompuestos magnéticos implementados en el proceso.

Fuente: Autores

2.2 Localización de la Planta de Tratamiento de Agua Potable de Floridablanca

La Planta de tratamiento de agua potable de Floridablanca se encuentra localizada en la zona Suroriental del Área Metropolitana de Bucaramanga, en la parte alta de los barrios Bucarica y Caracolíes del municipio de Floridablanca, a una altura media de 1042 msnm.

Su construcción inicial se hizo entre los años 1970-1971; fue optimizada para darle mayor capacidad, en los años 1976-1977, y ampliada para tratar todo el caudal aprovechable del Río Frío, en los años 1982-1983. Esta planta está destinada a tratar aguas provenientes de las fuentes de la hoya del Río Frío, para abastecer la zona Sur del Área Metropolitana conjuntamente con la plantas Morrorico y La Flora (del sistema río Tona) y Bosconia (del sistema río Suratá), para constituir entre todas el sistema de tratamiento de agua del triángulo Bucaramanga-Florida-Girón.

En la figura 4 se presenta una imagen tomada en vista lateral de la Planta de Tratamiento de Agua Potable ubicada en el municipio de Floridablanca.

Figura 5. Vista lateral de la PTAP-Floridablanda

Fuente: Acueducto Metropolitano de Bucaramanga.

2.3 Síntesis de nanocompuestos magnéticos metálicos.

La síntesis de nanocompuestos magnéticos metálicos se realizó por medio de la síntesis de nanopartículas a partir del extracto vegetal y su posterior modificación con magnetita para la formación de nanocompuestos magnéticos.

2.3.1 Síntesis de las nanopartículas con extracto vegetal

La síntesis de las nanopartículas de plata se realizó a partir de una sal precursora en este caso el nitrato de plata ($AgNO_3$), utilizando como agente reductor el extracto de fruta de Psidium Guajava, planta colectada en el municipio de Arroyo Grande, Bolívar.

Estudios realizados por el grupo de investigación (Herrera, A; Martínez, D, 2015) han demostrado que la guayaba permite la formación de nanopartículas de plata de forma esférica con gran estabilidad. Esta metodología evita utilizar solventes que se originen productos indeseables de alta toxicidad.

Para esta síntesis de las nanopartículas de plata, inicialmente se utilizó 1,69 g de Nitrato de Plata en 50 mL de agua destilada dentro de un beaker de 250 mL, se procedió a mantener en constante agitación y se adicionaron de forma gradual 5 mL del extracto de fruta.
Posterior a esta adición se dejó en agitación contante de 500rpm durante una hora aproximadamente para la formación de las nanopartículas.

Después de formadas las nanopartículas de procedió a la limpieza de estas, donde se retiró el sobrenadante de la solución formada anteriormente, se continuó con un lavado con agua destilada, adicionalmente se agitó en una centrifuga a 4000rpm por 10 minutos. Posterior a la centrifugación se retiró el sobrenadante de agua y se agregó 5 mL de Etanol para completar un segundo lavado y se

centrifuga por 10 minutos adicionales. Finalizado el proceso se retira el sobrenadante del etanol y en el precipitado se obtiene las nanopartículas de plata formada y lavadas por el etanol.

Las nanopartículas sintetizadas se estabilizaron con Hidróxido de Sodio, NaOH, llevando la solución a un pH a 10, luego se realizó la verificación de la formación de las nanopartículas de plata a una longitud de onda de 430 nm en el equipo de espectrometría UV-Vis.

En la figura 6 se muestra el procedimiento explicado anteriormente.

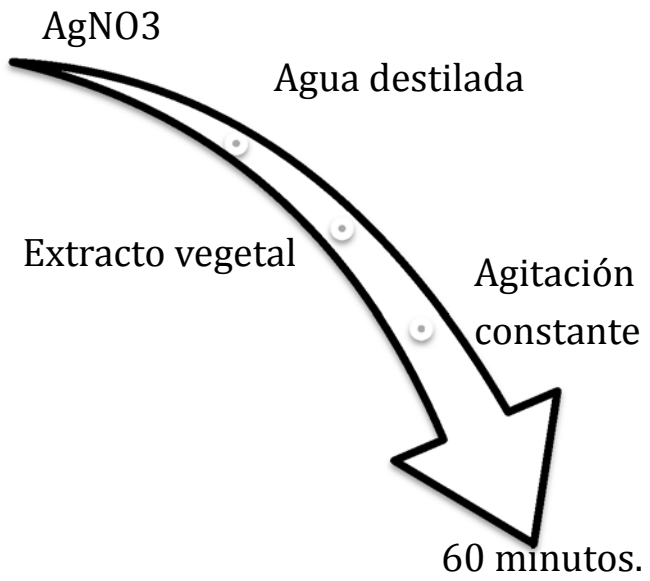


Figura 6: Primer proceso para la síntesis de nanopartículas a partir de sales precursoras y extracto de guayaba.

Fuente: autores

2.3.2 Formación de los nanocompuestos magnéticos metálicos

Para la modificación de las nanopartículas a nanocompuestos magnéticos metálicos fue requerido el método de hidrólisis por condensación realizado en las instalaciones de los laboratorio de la Universidad de Cartagena, este método consta de tres subetapas: a) Formación de magnetita $(Fe^{+2})(Fe^{+3})_2O_4$, b) Adición de las nanopartículas de plata sintetizadas c)Lavado final para la recolección únicamente del precipitado sin el sobrenadante.

a) Formación de la magnetita.

Para la formación de la Magnetita **(**$(Fe^{+2})(Fe^{+3})_2O_4$ se requirió: la preparación del Hierro (Fe^{+2}) y (Fe^{+3}) en solución, la adición de nanopartículas y un lavado final del precipitado obtenido.

- Inicialmente se requirió la preparación de hierro, a partir de 1.3 g de Hierro (Fe^{+2}) y Fe^{+3} (Marca PANREAC) en 30 mL de la solución de ácido clorhídrico (2 M), cada solución de hierro en recipientes ámbar por separado.

- La formación de la magnetita se realizó dentro de una chaqueta de calentamiento donde se agregaron las soluciones de hierro, hasta calentar a 80ºC aproximadamente, con una agitación constante del eje a 150 rpm. A estas soluciones se les adicionó ácido clorhídrico en exceso y consecutivamente se agregó agua destilada e hidróxido de sodio 4M a diferentes intervalos de tiempo, contando así una hora de reacción hasta obtener una coloración negra.

- Después de una hora de reacción se apagó el sistema y se dejó enfriar la chaqueta de calentamiento; vertiendo el contenido en un recipiente donde se comprobó la capacidad magnética del nanocompuesto exponiéndolo a un campo magnético generado por imanes. Posteriormente se realizó un lavado con agua y con etanol, se retiró el sobrenadante y se dejó secar a temperatura ambiente.

En la figura 7 se presenta el proceso de formación de Magnetita a partir de las soluciones de hierro, ácido clorhídrico, etanol y agua.

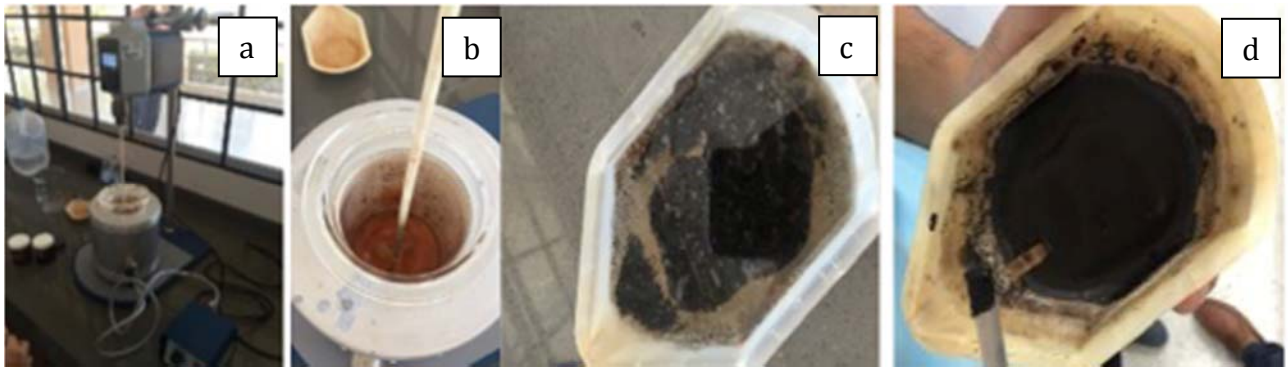


Figura 7. a) Equipo de chaqueta de calentamiento, b) adición de ácido clorhídrico (2M),c) Magnetita sintetizada y capacidad magnética, d) Magnetita seca.

Fuente: Autores

b) Adición de las nanopartículas de plata

Para la adición de nanopartículas de plata, se pesaron 0.8 g de la magnetita formada, se le adicionaron 3 mL de TOS (Tetra etil Orto Silicato) como intermediario para la modificación de las nanopartículas y 20 mL de etanol, después fue necesario pasar esta solución por el equipo de ultrasonido para lograr la suspensión de las nanopartículas y se introdujo la solución en el equipo de Shaker durante 24 horas a 30ºC. Pasadas las 24 horas, se agregaron 5 mL de las

nanopartículas de plata sintetizadas y se colocó nuevamente en agitación en el Shaker. Luego se centrifugó la solución y se pasó por ultrasonido 10 minutos, se realizó un último centrifugado a 4000 rpm por otros 10 minutos y se retiró el sobrenadante quedando el nanocompuesto formado.

c) Lavado final del nanocompuesto

Finalmente se realizó un lavado con etanol y se centrifugó retirando el sobrenadante y obteniendo como resultado final el precipitado con los nanocompuesto magnéticos metálicos. En la figura 8 se muestran los pasos para los lavados respectivos y la obtención del precipitado como resultado final.

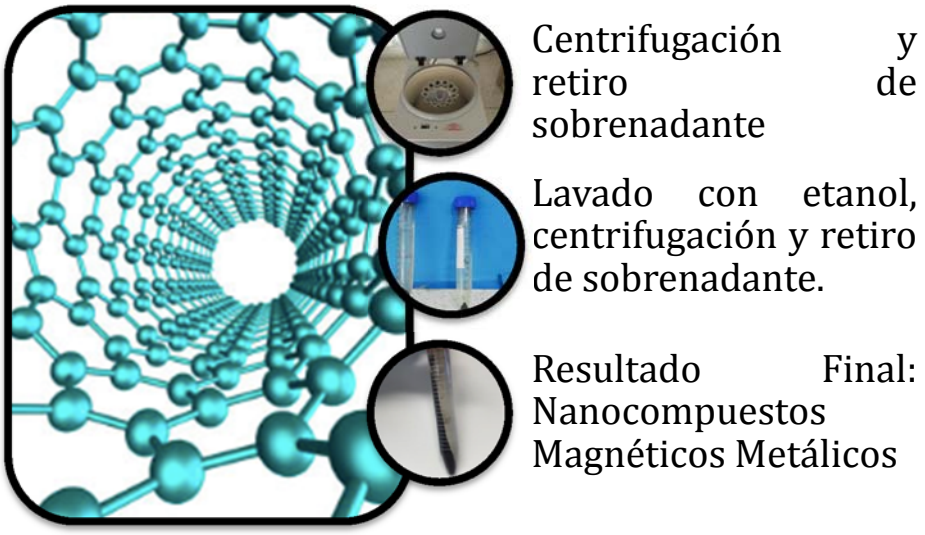


Figura 8: Centrifugación y lavados del precipitado obtenido.

Fuente: Autores

En la figura 9 se observa cada uno de los pasos para la ejecución del método de hidrólisis por condensación, teniendo como resultado final la formación de los nanocompuesto magnéticos metálicos requeridos.

Figura 9: Procedimiento para la formación de nanocompuestos magnéticos metálicos

Fuente: Martínez, S., Reyes A., 2013

2.4 Diseño Experimental

Para la realización de las pruebas de contacto requeridas para el presente trabajo se realizó un diseño experimental distinguiendo las variables de tiempo de contacto y concentración de los nanocompuestos aplicados.

Para evaluar el efecto antimicrobial de los nanocompuestos magnéticos metálicos aplicados al agua cruda para Mesófilos, E. Colli y coliformes, se llevó a cabo un diseño factorial considerando 2 factores y 3 niveles, obteniendo un total de 6 correlaciones y una réplica para cada una.

Las pruebas se realizaron por duplicado ya que la magnetita no se sintetizó en las instalaciones de universidad y su cantidad disponible era limitada.

En la tabla 6 se muestra el diseño factorial empleado de las diferentes pruebas que se realizaron en las instalaciones del Laboratorio de Agua potable, dentro de la UPB utilizando el equipo de jarras, variando el tiempo de contacto entre 1,5 Litros de la muestra de agua cruda tomada y las cantidades mostradas de los nanocompuesto que se aplicaron.

Tabla 6. Factores y niveles para el diseño experimental.

FACTOR	NOMBRE DEL FACTOR	NIVEL
A	Periodo de exposición de los nanocompuestos en el agua cruda.	24 Horas 48 Horas 72 Horas
B	Concentración de los nanocompuestos magnéticos metálicos aplicados al agua cruda.	0,5 gramos 1 gramo

Fuente: Autores.

- ✓ Se realizaron pruebas de espectroscopia ultravioleta visible por duplicado para tener con exactitud la longitud de onda presentada por los nanocompuestos utilizados para el tratamiento del agua cruda.
- ✓ Se caracterizaron los nanocompuestos magnéticos metálicos y la magnetita mediante un estudio en el microscopio electrónico de barrido para la visualización microscópica de las partículas presentes en los mismos.
- ✓ Los análisis microbiológicos de las aguas antes y después de su tratamiento con los nanocompuestos se realizaron dentro de las instalaciones del laboratorio de Servicios Integrados para la Industria del Agro, Minero-Energética y el Medio Ambiente, mediante la técnicas St. Meth. 9215 D, St. Meth. 9222 B y St. Meth. 9222 D.

2.5 Aplicación de los nanocompuestos al agua cruda

El agua cruda a tratar se tomó directamente de las mangueras de la Planta de Tratamiento de Agua Potable del Acueducto Metropolitano de Bucaramanga ubicada en el municipio de Floridablanca. Las muestras se tomaron después del proceso de filtración, saliente de seis filtros que posee la PTAP, midiéndose la turbiedad y tomando la muestra a partir del menor resultado obtenido. Para un total de 12 muestras de agua cruda a tratar, una muestra de agua cruda para control y una de agua potable para efectos de comparación. Para el análisis microbiológico a realizar las muestras de control se tomaron directamente en frascos esterilizados, purgados y posteriormente refrigerados y enviado al laboratorio especializado, para el análisis de tres parámetros referentes según la resolución 2115 del 2007 como son Mesófilos, Coliformes y E. Colli.

En la figura 10 se muestra el equipo de jarras utilizado para la presente investigación, el cual consta de 6 jarras seguidas y 6 paletas para agitación que no poseen propiedades magnéticas con el objetivo de no intervenir en el tratamiento con los nanocompuestos magnéticos metálicos.

El equipo fue programado para su continuo funcionamiento a una velocidad de agitación de 100 rpm retirando cada cierto intervalo de tiempo la jarra correspondiente.

Figura 10. Ilustración del Equipo de Jarras con el montaje de seis pruebas.

Fuente: Autores – Laboratorio Agua Potable UPB

Finalizado el tiempo respectivo de cada jarra, se retiraban del equipo procediéndose a la recuperación de los nanocompuestos magnéticos metálicos con la ayuda de un campo magnético generado con imanes, que fueron ubicados debajo y a los lados de cada jarra, precipitando los nanocompuestos, tomando así la muestra de agua ya tratada, con un mínimo porcentaje de nanocompuestos, para su posterior análisis microbiológico.

2.6 Determinación del porcentaje de recuperación

El porcentaje de recuperación de los nanocompuestos magnéticos metálicos se calculó inmediatamente después de cumplido el tiempo estipulado para cada jarra y la separación por medio de un campo magnético del agua y los nanocompuestos magnéticos metálicos.

Después de tomada la muestra para el análisis microbial del agua tratada, los nanocompuestos magnéticos metálicos fueron separados y secados en vidrio reloj como se muestra en la figura 11.

Figura 11. Proceso de secado de los nanocompuestos magnéticos metálicos para pesaje**.**

Fuente: autores.

Posterior al secado respectivo de cada uno de los precipitados recogidos después del tratamiento del agua cruda, se pesaron los AgNPM's y se compararon con los gramos iniciales aplicados al agua, calculando así el porcentaje de recuperación de los nanocompuestos magnéticos metálicos y los residuos o perdidas dejadas a través del desarrollo de la parte experimental tan como se muestra en la siguiente ecuación 1.

Ecuación 1. Fórmula para calcular el porcentaje de recuperación de los AgNPM's.

$$\%\, Recuperación = \frac{100 \times Peso\ de\ los\ nanocompuestos\ aplicados\ al\ agua}{peso\ de\ los\ nanocompuestos\ recogidos\ del\ \ agua}$$

2.7 Análisis de la capacidad antimicrobial de los nanocompuestos

2.7.1 Análisis microbiológico de las muestras de agua.

En esta fase se tomaron muestras de agua cruda del Acueducto Metropolitano de Bucaramanga seccional Floridablanca, con los requisitos adecuados para su posterior análisis en un frasco de vidrio esterilizado contenido en una cava con constante refrigeración. Una muestra control fue recolectada y se analizaron los microorganismos existentes en esta agua.

Las muestras tomadas de la PTAP de Bucaramanga Seccional Floridablanca se analizaron microbiológicamente en el Laboratorio de análisis químico SIAMA Ltda. En los análisis microbiológicos se tuvieron en cuenta los parámetros según la Norma Técnica Colombiana y la resolución 2115/07, mencionados en la tabla 7.

Tabla 7. Parámetros para análisis microbiológico de Agua Potable.

	Análisis	Valores de Referencia	Técnica
Parámetros tenidos en cuenta	Recuento de Mesófilos	Máx. 100	St. Mth. 9215 D
	Coliformes Totales	0	St. Mth. 9222 B
	Coliformes Fecales (E. Coli)	0	St. Mth. 9222 D

Fuente: SIAMA LTDA.

Estos análisis se realizaron antes y después de aplicado el tiempo de contacto entre el agua cruda y los nanocompuesto magnéticos metálicos.

El análisis microbiológico final se realizó a las diferentes muestras de agua cruda después de pasado el tiempo de contacto estipulado en el diseño factorial anterior y su posterior extracción de la misma.

3. ANÁLISIS DE RESULTADOS

Fase I. Síntesis de los nanocompuestos magnéticos metálicos.

En los resultados se observa la síntesis de las nanopartículas de plata a partir del extracto vegetal de hojas de guayaba con la adición de nitrato de plata, estas nanopartículas fueron caracterizadas por UV-Vis para confirmar su formación y adicionalmente se evaluaron por SEM. Se realizó también la caracterización por técnicas como SEM y EDS de los nanocompuestos magnéticos metálicos y de la magnetita.

3.1 Análisis de resultados de nanopartículas de plata por Ultravioleta Visible

El análisis correspondiente a UV-Vis del extracto de guayaba, se realizó para determinar su pico característico de absorción y poder comparar éste resultado con el obtenido para suspensiones acuosas de las nanopartículas de plata. Para éste análisis se diluyó con agua destilada una muestra del extracto de guayaba hasta obtener una solución ópticamente transparente, donde no se observó ninguna banda característica en la región de interés de 400 a 500nm que interfiriera con la banda de la nanopartícula.

En la figura 12 se evidencia ensanchamiento de las bandas asociada con las nanopartículas de plata a un pico de longitud de onda de 412nm en agua cruda y 414nm en agua destilada. El espectro de UV-Vis de las nanopartículas en agua permite establecer un posible diámetro de las nanopartículas presentes en un tamaño por encima de 20 nm de diámetro (Rico-Moctezuma., 2010).De acuerdo a Shankar et al., 2004 se puede establecer que se formaron nanopartículas de plata a partir del extracto de guayaba, debido a que la longitud de onda obtenida está en el rango identificado.

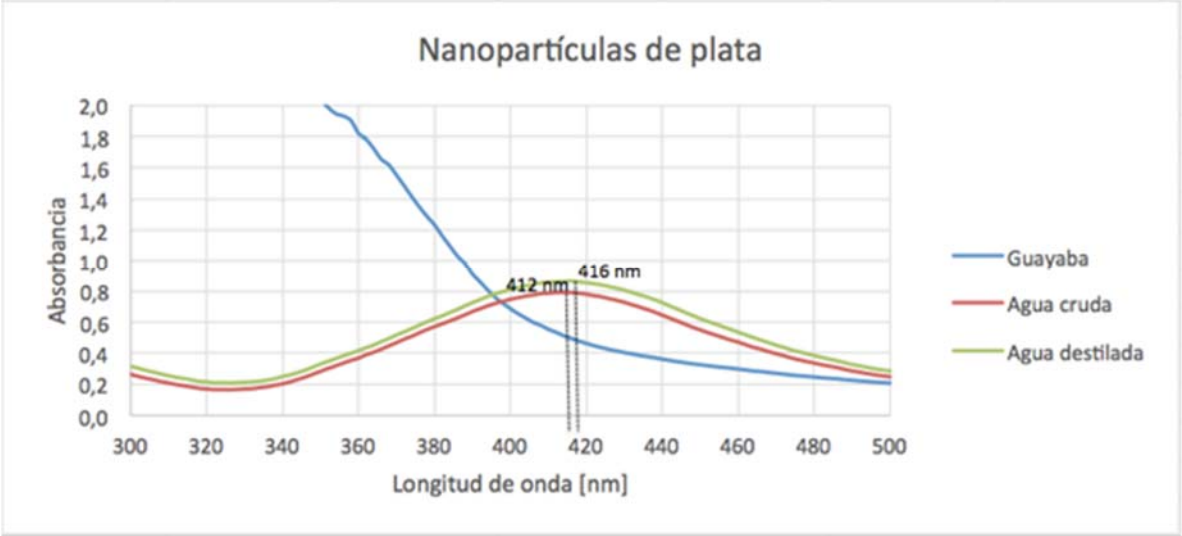


Figura 12. Espectro UV-VIS de las nanopartículas de plata sintetizadas con extracto de guayaba.

Fuente: Autores

3.2 Caracterización por medio del microscopio electrónico de barrido.

La morfología, distribución y tamaño de las nanopartículas de plata, magnetita y los nanocompuestos magnéticos metálicos fueron estudiadas mediante microscopia electrónica de barrido (SEM) en las instalaciones de los laboratorios de Microscopia de la Universidad Industrial de Santander, Guatiguará. Además se analizó la caracterización en porcentaje de peso de los elementos presentes en las muestras por la técnica de espectrometría de dispersión de energía de Rayos X, (EDS).

3.2.1 Caracterización por SEM para las nanopartículas de plata

En la figura 13 se muestra las micrografías del SEM obtenidas para las nanopartículas de plata sintetizadas, en donde se pueden observar partículas

semiesféricas. Los resultados muestran la formación de los compuestos similares tanto en tamaño como en forma; los tamaños reflejados después de este análisis son de 24,90nm, 30,04nm y 34,76nm en promedio, presentándose numerosos sectores de aglomeración a 200.000 aumentos.

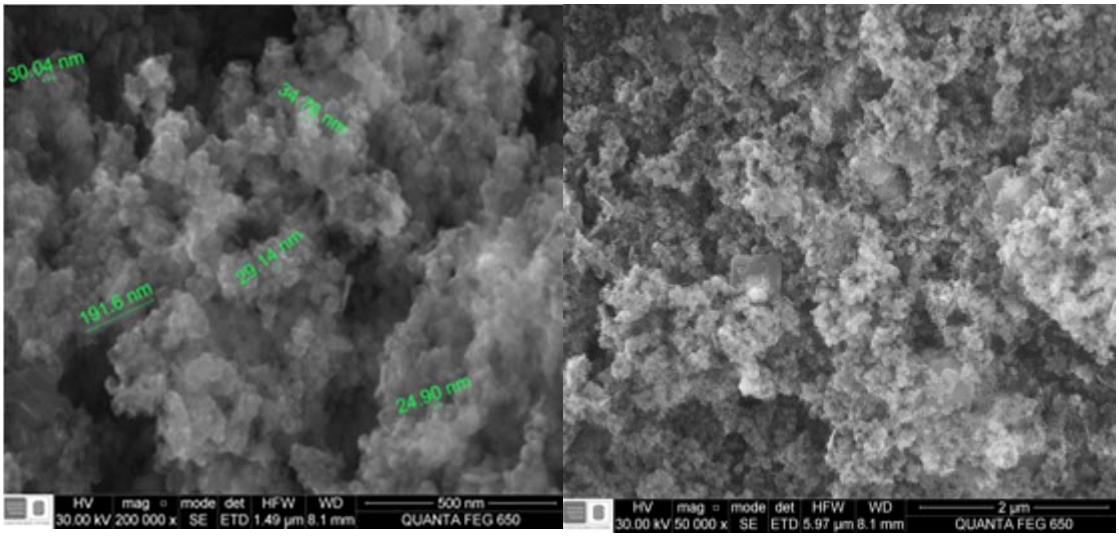


Figura 13 . Micrografía representativa del microscopio electrónico de barrido de las nanopartículas, sintetizadas a partir de Extracto de guayaba

Fuente: Laboratorio de microscopia Universidad Industrial de Santander sede Guatiguará.

3.2.2 Caracterización por SEM y EDS para la magnetita

En la figura 14 se muestran las micrografías del SEM para la magnetita, en donde se pueden observar partículas rectangulares y semiesféricas confirmando su formación. Los resultados muestran la formación de los compuestos, variados tanto en tamaño como en forma; Los tamaños reflejados después de este análisis son 14,42nm, 19,55nm y 21,21nm en promedio, presentándose algunos sectores de aglomeración a 200.000 aumentos.

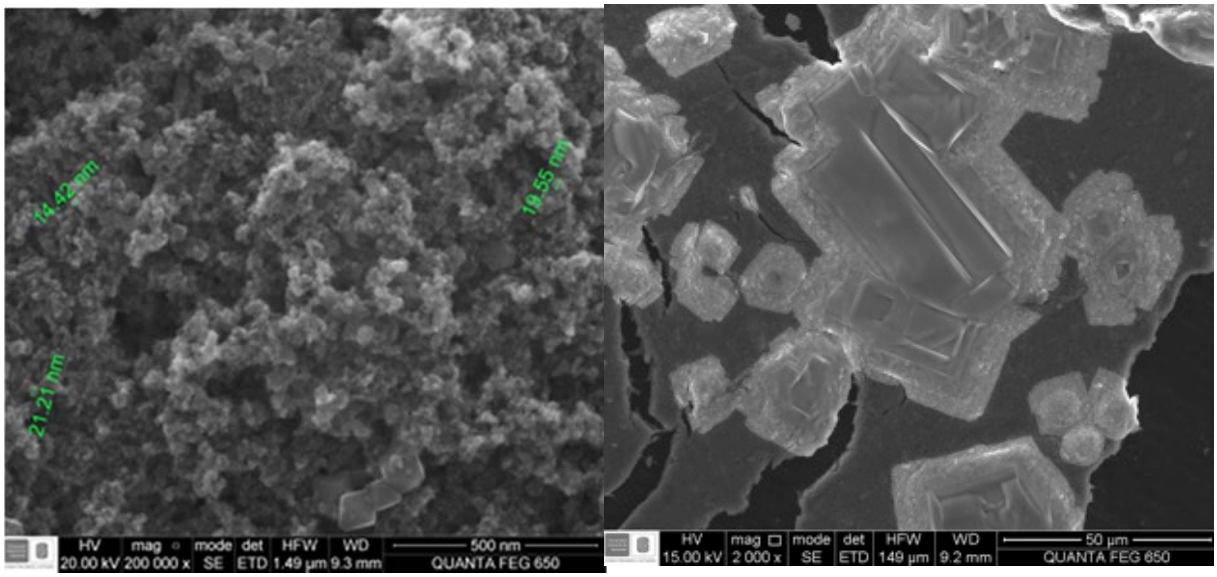


Figura 14. Micrografía representativa del microscopio electrónico de barrido de la magnetita sintetizada a partir de hierro y ácido clorhídrico.
Fuente: Laboratorio de microscopia Universidad Industrial de Santander sede Guatiguará.

El análisis por EDS realizado sobre la magnetita, indica la presencia de Oxigeno (O), Hierro (Fe), Sodio (Na), Silice (Si) y Cloro (Cl) junto a sus respectivas energías vistas a través del estudio realizado, confirmando la formación de la magnetita. En la figura 15 se presenta el espectro EDS obtenido para la magnetita.

La tabla 8 representa la caracterización en porcentaje de peso y porcentaje atómico de los elementos encontrados en la magnetita sintetizada a partir de hierro y ácido clorhídrico, por esta razón se observa una mayor presencia de hierro con un 44,14% y Cloro 14.54% del peso en la muestra total.

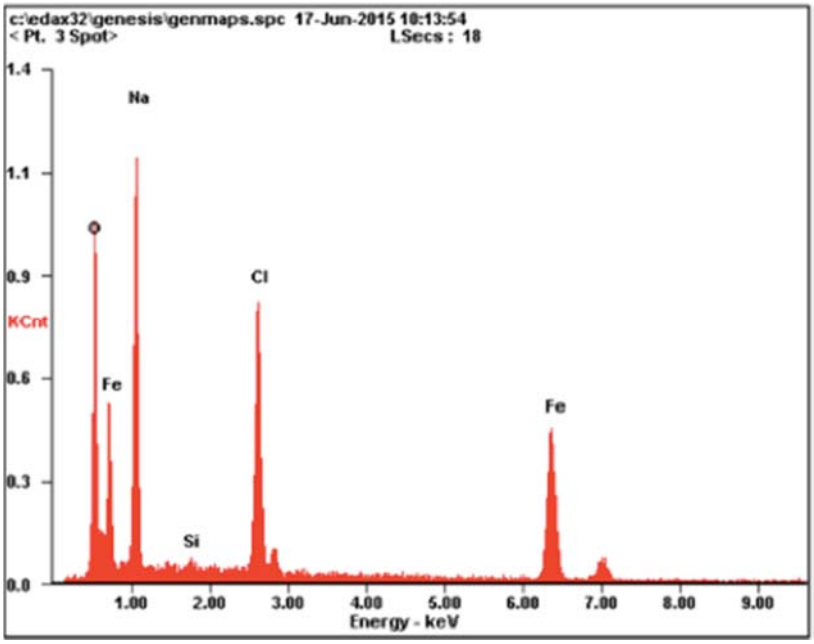


Figura 15. Espectrometría de dispersión de energía de rayos x de magnetita

Fuente: Laboratorio de microscopia Universidad Industrial de Santander-Guatiguará.

Tabla 8. Caracterización en porcentaje de peso de los elementos encontrados en la magnetita.

Element	*Wt%*	*At%*
OK	15.66	29.73
NaK	25.26	33.37
SiK	00.41	00.44
ClK	14.54	12.45
FeK	44.14	24.00
Matrix	Correction	ZAF

Fuente: Laboratorio de microscopia Universidad Industrial de Santander sede Guatiguará.

3.2.3 Caracterización de los nanocompuestos magnéticos metálicos por SEM y EDS.

Los resultados del análisis de SEM realizados para los nanocompuestos magnéticos metálicos se muestran en la figura 16, se evidencia la formación de los nanocompuestos con una forma ovalada y un tamaño que varía entre 28,03 nm, 26,79 nm y 55,67nm , con algunos sectores de aglomeración.

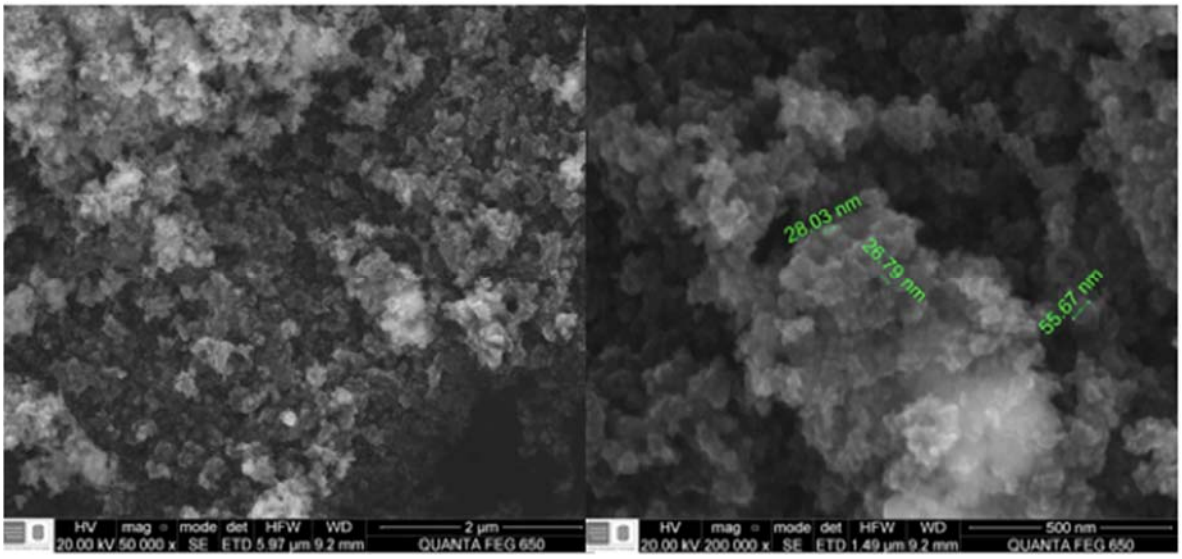


Figura 16. Micrografía representativa del SEM de los nanocompuestos magnéticos metálicos, sintetizados a partir magnetita y nanopartículas.
Fuente: Laboratorio de microscopia Universidad Industrial de Santander sede Guatiguará

El análisis EDS realizado sobre los nanocompuestos magnéticos metálicos indica la presencia de C, O, Fe, Si y Ag junto a sus respectivas energías vistas a través del estudio realizado. En la figura 17 se presenta el espectro EDS obtenido para los nanocompuestos magnéticos metálicos, La tabla 9 representa la caracterización en porcentaje de peso y porcentaje atómico de los elementos encontrados en los nanocompuestos magnéticos metálicos donde se evidencia un 29.03% de plata proveniente de la síntesis de las nanopartículas de plata, un

13.7% de hierro proveniente de la magnetita y 23.14 % de oxígeno, 33.64 % de carbono y 1.01 % de sílice provenientes de los extractos de la guayaba, a 50.000 aumentos.

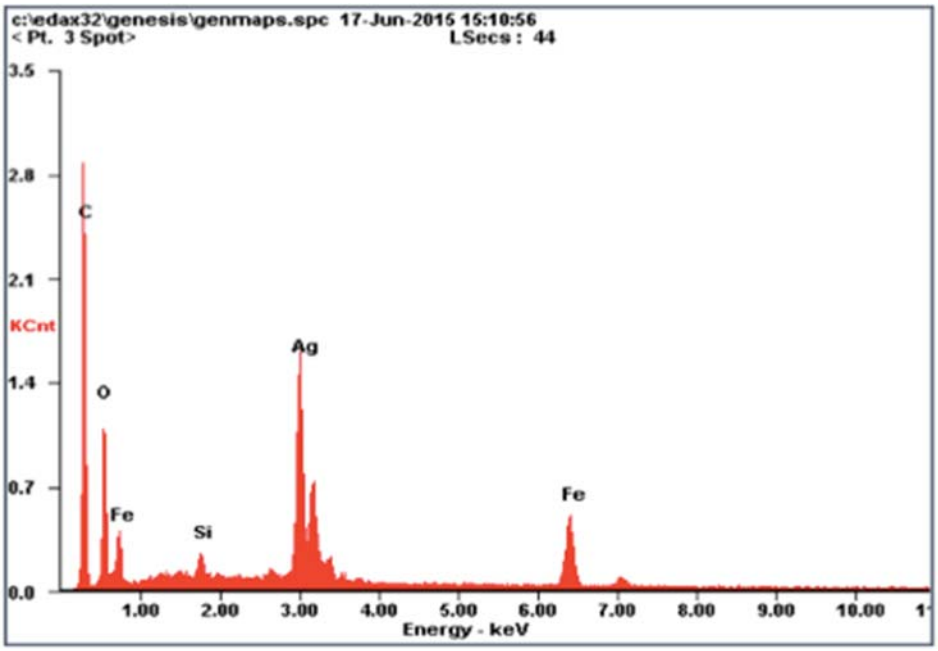


Figura 17. Espectro de EDS de los nanocompuestos magnéticos metálicos.
Fuente: Laboratorio de microscopia Universidad Industrial de Santander sede Guatiguará.

Tabla 9. Caracterización en porcentaje de peso de los elementos encontrados en los nanocompuestos magnéticos metálicos.

Element	Wt%	At%
CK	33.64	58.49
OK	23.14	30.21
SiK	01.01	00.75
AgL	29.03	05.62
FeK	13.17	04.93
Matrix	Correction	ZAF

Fuente: Laboratorio de microscopia Universidad Industrial de Santander sede Guatiguará.

Fase II. Aplicación de los nanocompuestos magnéticos metálicos en agua

3.3 Análisis de la aplicación de nanocompuestos en agua cruda

En esta sección se reportan los resultados obtenidos de los análisis microbiológicos del agua proveniente de la PTAP-Floridablanca, Santander, antes y después del tratamiento con los nanocompuesto magnéticos metálicos (AgNPM's) y muestras realizadas con agua destilada.

Los parámetros a seguir planteados en el diseño experimental incluyeron el tiempo de contacto entre el agua cruda y los nanocompuestos magnéticos metálicos, la cantidad agregada de los mismos, los resultados de los análisis microbiales realizados en los laboratorios de SIAMA LTDA, y la eficiencia de remoción de los microorganismos por parte de los nanocompuestos en el agua, se muestran en la tabla 10. Las muestras analizadas fueron tomadas después de la limpieza de los filtros de la planta de tratamiento de agua potable del municipio de Floridablanca.

Tabla 10. Resultados microbiales de las muestras de agua cruda después del tratamiento con nanocompuestos.

Tiempo de Contacto (Horas)	Concentración Nanocompuestos (gramos)	Resultados Microbiales (Unidades Formadoras de Colonia/100 ml)		% de Eficiencia en remoción
		Parámetro	Promedio microorganismos	
24	0,5	Mesófilos	100	85,7
		Coliformes	0	100
		E. Colli	-	-
48	0,5	Mesófilos	15.810	-3,94
		Coliformes	0	100
		E. Colli	-	-
72	0,5	Mesófilos	4.845	68,15
		Coliformes	0	100
		E. Colli	-	-
24	1	Mesófilos	250	98,36
		Coliformes	0	100
		E. Colli	-	-
48	1	Mesófilos	1.810	88,1
		Coliformes	0	100
		E. Colli	-	-
72	1	Mesófilos	1.145	92,47
		Coliformes	0	100
		E. Colli	-	-

Fuente: autores.

En el tratamiento basado en la aplicación de los nanocompuestos magnéticos metálicos al agua cruda como agente antimicrobial, las variables con mayor porcentaje de remoción de microorganismos fueron obtenidas para la cantidad de 1g de nanocompuestos y 24 horas de tiempo de contacto con un porcentaje de remoción microbial de 98,36% para Mesófilos con respecto al agua cruda analizada antes del tratamiento. Los resultados microbiales del agua cruda y agua tratada se presentan en el anexo 1.

Se mostró una efectividad del 100 % de remoción de coliformes presentes en el agua, demostrando que los nanocompuestos magnéticos metálicos son una alternativa eficiente, segura y ambientalmente amigable para combatir estos microorganismos en su totalidad.

En los análisis de remoción de Mesófilos en agua, se observó un error sistemático en los resultados de las variables correspondientes a la cantidad de 0,5 gramos en 48 horas de contacto con un valor negativo en la eficiencia de remoción. Esto se debe posiblemente a una contaminación microbial de los implementos utilizados en la aplicación de los nanocompuestos al agua cruda.

En la figura 18 se pueden observar los porcentajes de remoción de microorganismos Mesófilos teniendo en cuenta los tiempos de contacto establecidos en horas y las cantidades aplicadas a la muestra de agua siendo 0,5 gramos la línea representada con el color azul y 1 gramo de los nanocompuestos magnéticos metálicos con la línea de color rojo.

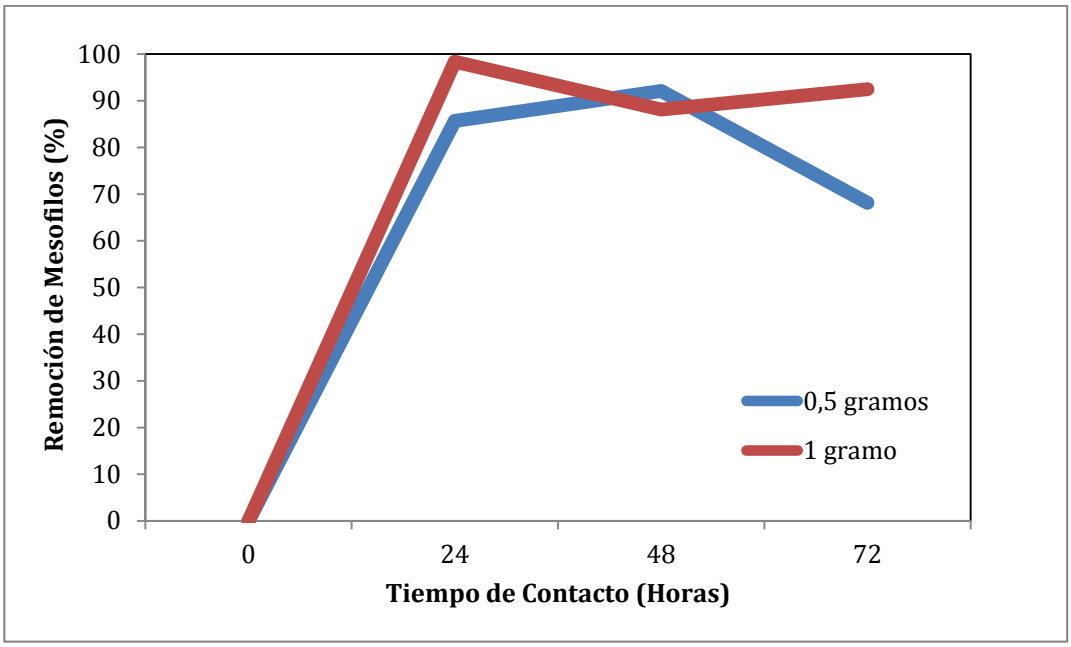


Figura 18. Porcentajes de remoción de Mesofilos según el tiempo de contacto a diferentes concentraciones de AgNPM's.

Fuente: Autores.

La figura 18 presentada en la figura 18 muestra la tendencia de la capacidad antimicrobial según las cantidades aplicadas al agua cruda, en la cual se evidencia que a 1 g de los AgNPM's presenta un mayor porcentaje de remoción microbial que a la cantidad de 0,5 g.

Con el fin de comprobar si los nanocompuestos magnéticos metálicos sintetizados a partir de la magnetita adicionaban carga microbial al agua a tratar, fueron comparadas muestras de agua destilada y agua destilada con magnetita (0,5 g) sintetizada en las instalaciones de la Universidad de Cartagena ya que la magnetita se utilizó para la formación de los nanocompuestos magnéticos metálicos.

En la tabla 11 se muestran los análisis microbiológicos obtenidos de las muestras agua destilada sin presencia de magnetita y agua destilada con magnetita.

Tabla 11. Pruebas microbiológicas obtenidas para el agua destilada sin magnetita y con magnetita.

Parámetros analizados	Muestra de Agua Destilada con Magnetita (UFC)	Muestra de Agua destilada (UFC)
Mesófilos	10	0
Coliformes	0	0
E. Colli	0	0

Fuente: autores.

Los resultados de la tabla 2, muestran una magnetita ligeramente contaminada con microorganismos Mesófilos con un valor de 10 UFC/mL, esto se considera como un valor de contaminación bajo, confirmando que los nanocompuestos sintetizados a partir de la magnetita aportan una contaminación microbial despreciable en el agua.

En la figura 19 se pueden observar el cambio en la pigmentación de las muestras de agua destilada en presencia de magnetita.

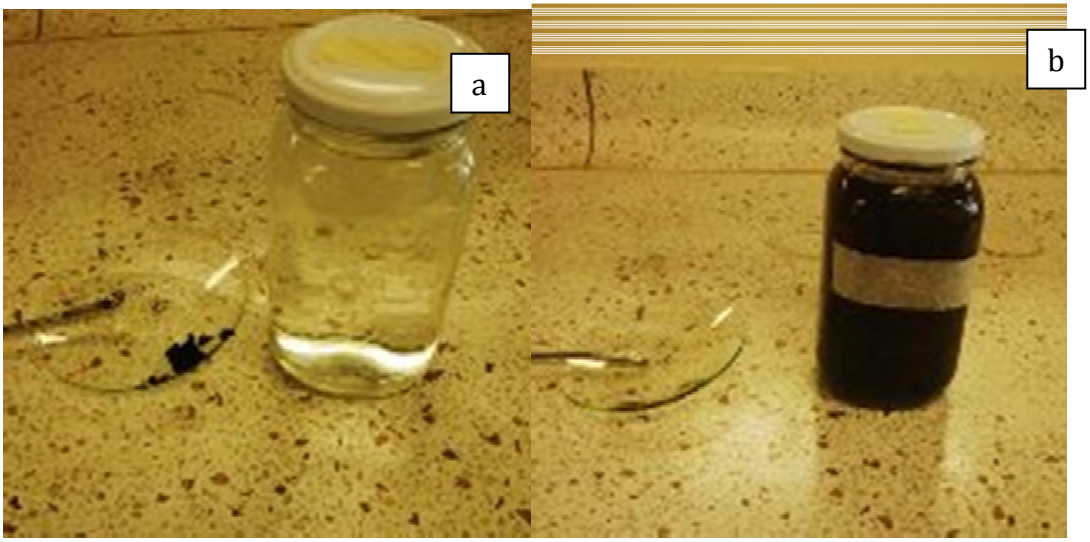


Figura 19. Cambio en la pigmentación de las muestras: a) Agua destilada inicial y b) Muestra de agua destilada en presencia de magnetita.

Fuente: Autores

Fase III. Porcentaje de recuperación de los nanocompuestos magnéticos metálicos del agua tratada

3.4 Porcentaje de recuperación nanocompuestos

Para el cálculo del porcentaje de remoción se retiraron los nanocompuestos magnéticos metálicos del agua después del tratamiento y se dejaron secar para su posterior comparación con la concentración inicial aplicada al agua. En la tabla 12 se pueden observar los gramos recuperados de los nanocompuestos magnéticos metálicos en las diferentes muestras obtenidas después del tratamiento del agua cruda y su respectivo porcentaje de recuperación calculado.

Tabla 12. Porcentaje de recuperación de los nanocompuestos magnéticos metálicos.

Tiempo (Horas)	Concentraciones			
	0,5 GRAMOS		1 GRAMO	
	Peso (g)	Porcentaje recuperación	Peso	Porcentaje de recuperación
24	0,33121	66,24	0,83672	83,67
48	0,49291	98,58	0,94174	94,17
72	0,38886	77,77	0,83045	83,04
Promedio	0,40432	80,86	0,8696	86,96

Fuente: Autores

En la tabla 12 se evidencia un alto porcentaje de recuperación de los nanocompuestos magnéticos metálicos aplicados al agua en un 98.58%. El valor más bajo en recuperación de los nanocompuestos fue de 66,24%. Este resultado demuestra que el mecanismo empleado para la recuperación de los AgNPM's es altamente efectivo, con la aplicación de un campo magnético generado a través de un imán aprovechando la capacidad magnética metálica de los AgNPM's aplicados al agua.

En la figura 20 se observa el porcentaje de recuperación de los nanocompuestos magnéticos metálicos retirados por medio de un campo magnético generado, después de haber cumplido con su función antimicrobial dentro de las muestras de agua empleadas.

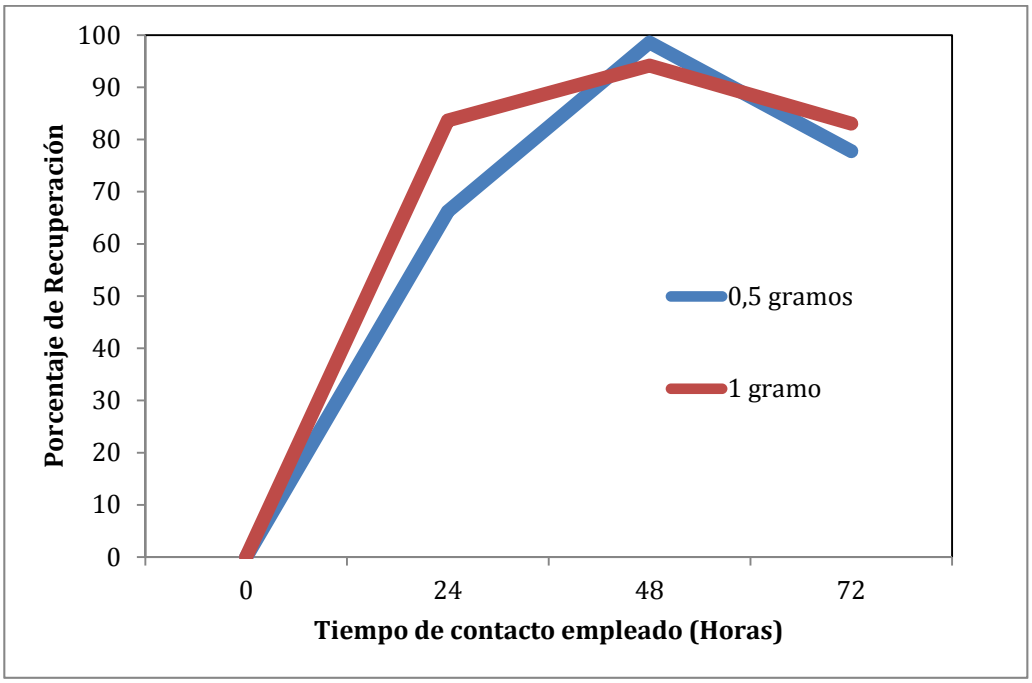


Figura 20. Porcentaje de recuperación de los nanocompuestos magnéticos metálicos del agua tratada.

Fuente: Autores

La figura 20 se evidencia un mayor porcentaje de recuperación de los AgNPM's para la cantidad de 0,5 gramos aplicados al agua durante 48 horas, sin embargo se observa que pasadas las 48 horas para ambas cantidades disminuye su porcentaje de recuperación.

4. CONCLUSIONES

- La aplicación de pequeñas cantidades de 1g nanocompuestos sintetizados adicionados en 1,5 L de agua cruda durante un tiempo de contacto de 24 horas demostró un alto porcentaje de remoción de microorganismos con un 98,36% para los mesófilos y un 100% para los coliformes. Comprobando que los nanocompuestos magnéticos metálicos son una alternativa eficiente, segura y ambientalmente amigable para combatir estos microorganismos casi en su totalidad.

- En este trabajo se logró sintetizar biológicamente nanopartículas de plata (AgNPS) a partir de la sal precursora con extracto vegetal de guayaba y realizando una modificación aplicando magnetita formando así los nanocompuestos magnéticos metálicos de Plata. Estos nanocompuestos fueron comprobados por medio de técnicas de UV-Vis con bandas características a una longitud de onda de 412nm, un tamaño de las partículas de 28,03nm obtenido por SEM y una composición de 20,03% de plata por EDS, confirmando así la formación de las nanocompuestos con resultados característicos.

- Los nanocompuestos magnéticos metálicos del agua tratada fueron recuperados con valores tan altos como un 98.58%, dejando el agua en una alta calidad para cumplir estándares de potabilidad y cumpliendo la normativa ambiental Colombiana. La aplicación de nanocompuestos de plata en el agua cruda puede ser una alternativa ambientalmente amigable y con un índice de recuperación alto sin afectar a la población.

5. RECOMENDACIONES

- Se recomienda la esterilización y optima limpieza de todos los equipos que entren en contacto con la magnetita al momento de su síntesis, garantizando así que no posea carga microbial que afecte los resultado del agua en la que se vaya a implementar.

- Un mayor campo magnético que abarque un mayor campo de las jarras empleadas, se recomienda para aumentar el porcentaje de recuperación de los nanocompuestos magnéticos metálicos aplicados al agua cruda, acercándose así a la recuperación total de los mismos.

- Se recomienda la esterilización de todos los elementos a utilizar para la recolección del agua cruda antes y después de la aplicación de los nanocompuestos magnéticos metálicos para no obtener errores o aumentos microbiales en los análisis del agua cruda.

- Se sugiere la realización de un mayor número de réplicas con el fin de lograr una mayor exactitud de los resultados microbiales obtenidos.

- Se recomienda realizar un análisis de plata en el agua tratada, para garantizar que no se presente ninguna contribución de este metal.

6. Referencias Bibliográficas

Revista Semestral de la Escuela de Ciencias Ambientales Universidad Nacional de Costa Rica Junio (2006).

Ashbolt NJ, Grabow WOK y Snozzi M, (2001): Indicators of microbial water quality. En: Fewtrell L, Bartram J, (eds.) *Water quality: Guidelines, standards and health – Assessment of risk and risk management for water-related infectious disease*. Serie de monografías de la OMS sobre el agua (*Water Series*). Londres (Reino Unido), IWA Publishing, págs. 289–315.

Grabow WOK, (1996): Waterborne diseases: Update on water quality assessment and control. *Water SA*, 22:193–202.

Sueiro RA *et al.*, (2001): Evaluation of Coli-ID and MUG Plus media for recovering *Escherichia coli* and other coliform bacteria from groundwater samples. *Water Science and Technology*,

Rao, C.N.R., Muller, A., y Cheetham (2004). The chemistry of nanomaterials.

Zanella, R, (2012). Metodologias para la síntesis de nanopartículas: controlando forma y tamaño. Art. Mundo Nano.

Quintana, M., Hirschbein, L., Pérez, E. (2008). Nanopartículas, Principios y Aplicaciones. Revista de Ciencia y Desarrollo, México.

Leyva, G., (2013). Nanopartículas de plata: tecnología para su obtención, caracterización y actividad biológica, Laboratoio de tejido conjuntivo, Centro Nacional de Investigacion y Atencion de Quemados del Instituto Nacional de Rehabilitacion, Distrito Federal, México.

http://repositorio.innovacionumh.es/Proyectos/P_22CursoMateriales; Fecha de actualización 28 enero de 2015.

http://servicios.unileon.es/microscopia/servicios-y-equipamiento/ Fecha de actualización: 28 de enero de 2015.

Rico Moctezuma, A., (2013). Modificación del tamaño y de la forma de nanopartículas mono y bimetálicas de oro y plata inducidas por laser, obtenidas mediante un método biológico, Universidad Autónoma de México.

Gómez Roca, A., (2009). Preparación de nanopartículas magnéticas uniformes y de alta cristalinidad para biomedicina.

Ramírez Mendoza, H., (2014). Modificación de una membrana de triacetato de celulosa con nanopartículas de plata para evaluación de tratamiento de aguas por osmosis directa. Universidad de Cartagena, Colombia.

Camacho Polo, J., Deschamps L., (2013). Síntesis de nanopartículas de plata y modificación con pulpa de papel para aplicación antimicrobial. Universidad de Cartagena, Colombia.

Domínguez, S., (2011). Síntesis de nanopartículas metálicas y de zeolitas para catálisis y separación de gases. Universidad de Cartagena, Colombia.

Montgomery, Douglas., segunda edición (2004) Diseño y análisis de experimentos.

Martínez, S., Reyes A., (2013). Síntesis de nanopartículas magnéticas modificadas con TiO2 para la fotodegradación de fenol en soluciones. Universidad de Cartagena, Colombia.

García, J., (2007). Nanomateriales para aplicaciones avanzadas, Laboratorio de Nanotecnologia Molecular. Universidad de Alicante, España.

Castrillón, M., (2012). Síntesis de nanopartículas magnéticas y su aplicación en nanocompuestos de matriz polimérica con propiedades magnéticas. Universidad de Zaragoza.

Cardeño, L., Londoño, M., (2014). Sintesis verde de nanopartículas de planta mediante el uso de ajo (Allium sativum).

7. Anexos.

SERVICIOS INTEGRADOS
PARA LA INDUSTRIA DEL AGRO,
MINERO-ENERGETICA Y
EL MEDIO AMBIENTE
NIT. 804.016.152-8

REPORTE DE RESULTADOS

Ciudad y Fecha de emisión: Bucaramanga, 20 de Junio de 2015 — **No. 083830**

Solicitante: **UPB LAB ANA QUI DE AGUAS RESIDUALES**
Dirección: Km 7 Vía Piedecuesta
Teléfono: 6796220
Lugar de muestreo: **ACUEDUCTO DE FLORIDABLANCA**
Fecha de muestreo: 16 de Junio de 2015
Fecha de recepción: 16 de Junio de 2015
Fecha de análisis: 16 – 19 de Junio de 2015
Análisis solicitado: Microbiológico
Condiciones de la muestra: Adecuadas

Tipo de muestra: Agua
Identificación: **AGUA CRUDA 0,5 GRM – 3 DIAS (1)**
Descripción: Cruda
Responsable de muestreo: Solicitante
Procedimiento de muestreo: Solicitante
Tamaño de la muestra: 500 ml
Envase o empaque: Vidrio
Lote: //

ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

ANÁLISIS	MÉTODO	RESULTADOS	VALORES DE REFERENCIA
RECUENTO TOTAL DE MESOFILOS	St. Mth. 9215 D	7.410 UFC / 100 ml	Máx. 100
COLIFORMES TOTALES	St. Mth. 9222 B	0 UFC /100 ml	0
E. coli	St. Mth. 9222 D	0 UFC / 100ml	0

OBSERVACIONES: La variable Mesofilos se encuentra fuera de los valores aceptables según los requisitos microbiológicos de la Resolución 2115/07.

Los resultados son válidos para la muestra analizada. No se pueden reproducir sin la previa autorización de SIAMA.

Revisó: ALBIO ENRIQUE ESPINOSA SAFAR
QUIMICO
PQ. 0996

Elaboró: YESENIA DUARTE CACEDO
MICROBIOLOGA REG.45587 FOLIO 125

Código:	R – 051	Versión:	0.1	Fecha:	22/05/09	Página:	1 de 1

Carrera 24 No. 36 - 11 Tels: (7) 6348000 - (7) 6348800 - 3187070821 Bucaramanga - Colombia
web: www.siamaltda.com - e-mail: info@siamaltda.com

SERVICIOS INTEGRADOS
PARA LA INDUSTRIA DEL AGRO,
MINERO-ENERGETICA Y
EL MEDIO AMBIENTE
NIT: 804.016.152-8

REPORTE DE RESULTADOS

Ciudad y Fecha de emisión: Bucaramanga, 20 de Junio de 2015 — **No. 083831**

Solicitante: **UPB LAB ANA QUI DE AGUAS RESIDUALES**
Dirección: Km 7 Vía Piedecuesta
Teléfono: 6796220
Lugar de muestreo: **ACUEDUCTO DE FLORIDABLANCA**
Fecha de muestreo: 16 de Junio de 2015
Fecha de recepción: 16 de Junio de 2015
Fecha de análisis: 16 – 19 de Junio de 2015
Análisis solicitado: Microbiológico
Condiciones de la muestra: Adecuadas

Tipo de muestra: Agua
Identificación: **AGUA CRUDA 1 GRM – 3 DIAS (1)**
Descripción: Cruda
Responsable de muestreo: Solicitante
Procedimiento de muestreo: Solicitante
Tamaño de la muestra: 500 ml
Envase o empaque: Vidrio
Lote: //

ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

ANÁLISIS	MÉTODO	RESULTADOS	VALORES DE REFERENCIA
RECUENTO TOTAL DE MESOFILOS	St. Mth. 9215 D	1.590 UFC / 100 ml	Máx. 100
COLIFORMES TOTALES	St. Mth. 9222 B	0 UFC /100 ml	0
E. coli	St. Mth. 9222 D	0 UFC / 100ml	0

OBSERVACIONES: La variable Mesofilos se encuentra fuera de los valores aceptables según los requisitos microbiológicos de la Resolución 2115/07.

Los resultados son válidos para la muestra analizada. No se pueden reproducir sin la previa autorización de SIAMA.

Revisó: ALBIO ENRIQUE ESPINOSA SAFAR
QUIMICO
PQ. 0996

Elaboró: YESENIA DUARTE CAICEDO
MICROBIOLOGA REG.45587 FOLIO 125

Carrera 24 No. 36 - 11 Tels: (7) 6348000 - (7) 6348800 - 3187070821 Bucaramanga - Colombia
web: www.siamaltda.com - e-mail: info@siamaltda.com

SERVICIOS INTEGRADOS
PARA LA INDUSTRIA DEL AGRO,
MINERO-ENERGETICA Y
EL MEDIO AMBIENTE
NIT: 804.016.152-8

REPORTE DE RESULTADOS

Ciudad y Fecha de emisión: Bucaramanga, 20 de Junio de 2015 — **No. 083832**

Solicitante: **UPB LAB ANA QUI DE AGUAS RESIDUALES**
Dirección: Km 7 Vía Piedecuesta
Teléfono: 6796220
Lugar de muestreo: **ACUEDUCTO DE FLORIDABLANCA**
Fecha de muestreo: 16 de Junio de 2015
Fecha de recepción: 16 de Junio de 2015
Fecha de análisis: 16 – 19 de Junio de 2015
Análisis solicitado: Microbiológico
Condiciones de la muestra: Adecuadas

Tipo de muestra: Agua
Identificación: **AGUA CRUDA 1 GRM – 2 DIAS**
Descripción: Cruda
Responsable de muestreo: Solicitante
Procedimiento de muestreo: Solicitante
Tamaño de la muestra: 500 ml
Envase o empaque: Vidrio
Lote: //

ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

ANÁLISIS	MÉTODO	RESULTADOS	VALORES DE REFERENCIA
RECUENTO TOTAL DE MESOFILOS	St. Mth. 9215 D	1.810 UFC / 100 ml	Máx. 100
COLIFORMES TOTALES	St. Mth. 9222 B	0 UFC /100 ml	0
E. coli	St. Mth. 9222 D	0 UFC / 100ml	0

OBSERVACIONES: La variable Mesofilos se encuentra fuera de los valores aceptables según los requisitos microbiológicos de la Resolución 2115/07.

Los resultados son válidos para la muestra analizada. No se pueden reproducir sin la previa autorización de SIAMA.

Revisó: ALBIO ENRIQUE ESPINOSA SAFAR
QUIMICO
PQ. 0996

Elaboró: YESENIA DUARTE CAICEDO
MICROBIOLOGA REG.45587 FOLIO 125

Código:	R – 051	Versión:	0.1	Fecha:	22/05/09	Página:	1 de 1

SERVICIOS INTEGRADOS
PARA LA INDUSTRIA DEL AGRO,
MINERO-ENERGETICA Y
EL MEDIO AMBIENTE
NIT: 804.016.152-8

REPORTE DE RESULTADOS

Ciudad y Fecha de emisión: Bucaramanga, 20 de Junio de 2015 — **No. 083833**

Solicitante: **UPB LAB ANA QUI DE AGUAS RESIDUALES**
Dirección: Km 7 Vía Piedecuesta
Teléfono: 6796220
Lugar de muestreo: **ACUEDUCTO DE FLORIDABLANCA**
Fecha de muestreo: 16 de Junio de 2015
Fecha de recepción: 16 de Junio de 2015
Fecha de análisis: 16 – 19 de Junio de 2015
Análisis solicitado: Microbiológico
Condiciones de la muestra: Adecuadas

Tipo de muestra: Agua
Identificación: **AGUA CRUDA 1 GRM – 1 DIA**
Descripción: Cruda
Responsable de muestreo: Solicitante
Procedimiento de muestreo: Solicitante
Tamaño de la muestra: 500 ml
Envase o empaque: Vidrio
Lote: //

ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

ANÁLISIS	MÉTODO	RESULTADOS	VALORES DE REFERENCIA
RECUENTO TOTAL DE MESOFILOS	St. Mth. 9215 D	250 UFC / 100 ml	Máx. 100
COLIFORMES TOTALES	St. Mth. 9222 B	0 UFC /100 ml	0
E. coli	St. Mth. 9222 D	0 UFC / 100ml	0

OBSERVACIONES: La variable Mesofilos se encuentra fuera de los valores aceptables según los requisitos microbiológicos de la Resolución 2115/07.

Los resultados son válidos para la muestra analizada. No se pueden reproducir sin la previa autorización de SIAMA.

Revisó: ALBIO ENRIQUE ESPINOSA SAFAR
QUÍMICO
PQ. 0996

Elaboró: YESENIA DUARTE CAICEDO
MICROBIOLOGA REG.45587 FOLIO 125

Código:	R – 051	Versión:	0.1	Fecha:	22/05/09	Página:	1 de 1

Carrera 24 No. 36 - 11 Tels: (7) 6348000 - (7) 6348800 - 3187070821 Bucaramanga - Colombia
web: www.siamaltda.com - e-mail: info@siamaltda.com

SERVICIOS INTEGRADOS
PARA LA INDUSTRIA DEL AGRO,
MINERO-ENERGETICA Y
EL MEDIO AMBIENTE
NIT: 804.016.152-8

REPORTE DE RESULTADOS

Ciudad y Fecha de emisión: Bucaramanga, 20 de Junio de 2015 — **No. 083834**

Solicitante: **UPB LAB ANA QUI DE AGUAS RESIDUALES**
Dirección: Km 7 Vía Piedecuesta
Teléfono: 6796220
Lugar de muestreo: **ACUEDUCTO DE FLORIDABLANCA**
Fecha de muestreo: 16 de Junio de 2015
Fecha de recepción: 16 de Junio de 2015
Fecha de análisis: 16 – 19 de Junio de 2015
Análisis solicitado: Microbiológico
Condiciones de la muestra: Adecuadas

Tipo de muestra: Agua
Identificación: **AGUA CRUDA 0,5 GRM – 3 DIAS (2)**
Descripción: Cruda
Responsable de muestreo: Solicitante
Procedimiento de muestreo: Solicitante
Tamaño de la muestra: 500 ml
Envase o empaque: Vidrio
Lote: //

ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

ANÁLISIS	MÉTODO	RESULTADOS	VALORES DE REFERENCIA
RECUENTO TOTAL DE MESOFILOS	St. Mth. 9215 D	2.280 UFC / 100 ml	Máx. 100
COLIFORMES TOTALES	St. Mth. 9222 B	0 UFC /100 ml	0
E. coli	St. Mth. 9222 D	0 UFC / 100ml	0

OBSERVACIONES: La variable Mesofilos se encuentra fuera de los valores aceptables según los requisitos microbiológicos de la Resolución 2115/07.

Los resultados son válidos para la muestra analizada. No se pueden reproducir sin la previa autorización de SIAMA.

Revisó: ALBIO ENRIQUE ESPINOSA SAFAR
QUIMICO
PQ. 0996

Elaboró: YESENIA DUARTE CAICEDO
MICROBIOLOGA REG.45587 FOLIO 125

Carrera 24 No. 36 - 11 Tels: (7) 6348000 - (7) 6348800 - 3187070821 Bucaramanga - Colombia
web: www.siamaltda.com - e-mail: info@siamaltda.com

SERVICIOS INTEGRADOS
PARA LA INDUSTRIA DEL AGRO,
MINERO-ENERGETICA Y
EL MEDIO AMBIENTE
NIT: 804.016.152-8

REPORTE DE RESULTADOS

Ciudad y Fecha de emisión: Bucaramanga, 20 de Junio de 2015 — **No. 083835**

Solicitante: **UPB LAB ANA QUI DE AGUAS RESIDUALES**
Dirección: Km 7 Vía Piedecuesta
Teléfono: 6796220
Lugar de muestreo: **ACUEDUCTO DE FLORIDABLANCA**
Fecha de muestreo: 16 de Junio de 2015
Fecha de recepción: 16 de Junio de 2015
Fecha de análisis: 16 – 19 de Junio de 2015
Análisis solicitado: Microbiológico
Condiciones de la muestra: Adecuadas

Tipo de muestra: Agua
Identificación: **AGUA CRUDA 0,5 GRM – 2 DIAS**
Descripción: Cruda
Responsable de muestreo: Solicitante
Procedimiento de muestreo: Solicitante
Tamaño de la muestra: 400 ml
Envase o empaque: Plástico
Lote: //

ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

ANÁLISIS	MÉTODO	RESULTADOS	VALORES DE REFERENCIA
RECUENTO TOTAL DE MESOFILOS	St. Mth. 9215 D	15.810 UFC / 100 ml	Máx. 100
COLIFORMES TOTALES	St. Mth. 9222 B	0 UFC /100 ml	0
E. coli	St. Mth. 9222 D	0 UFC / 100ml	0

OBSERVACIONES: La variable Mesofilos se encuentra fuera de los valores aceptables según los requisitos microbiológicos de la Resolución 2115/07.

Los resultados son válidos para la muestra analizada. No se pueden reproducir sin la previa autorización de SIAMA.

Revisó: ALBIO ENRIQUE ESPINOSA SAFAR
QUIMICO
PQ. 0996

Elaboró: YESENIA DUARTE CAICEDO
MICROBIOLOGA REG.45587 FOLIO 125

Carrera 24 No. 36 - 11 Tels: (7) 6348000 - (7) 6348800 - 3187070821 Bucaramanga - Colombia
web: www.siamaltda.com - e-mail: info@siamaltda.com

SERVICIOS INTEGRADOS
PARA LA INDUSTRIA DEL AGRO,
MINERO-ENERGETICA Y
EL MEDIO AMBIENTE
NIT. 804.016.152-8

REPORTE DE RESULTADOS

Ciudad y Fecha de emisión: Bucaramanga, 20 de Junio de 2015 — **No. 083836**

Solicitante: **UPB LAB ANA QUI DE AGUAS RESIDUALES**
Dirección: Km 7 Vía Piedecuesta
Teléfono: 6796220
Lugar de muestreo: **ACUEDUCTO DE FLORIDABLANCA**
Fecha de muestreo: 16 de Junio de 2015
Fecha de recepción: 16 de Junio de 2015
Fecha de análisis: 16 – 19 de Junio de 2015
Análisis solicitado: Microbiológico
Condiciones de la muestra: Adecuadas

Tipo de muestra: Agua
Identificación: **AGUA CRUDA 1 GRM – 3 DIAS (2)**
Descripción: Cruda
Responsable de muestreo: Solicitante
Procedimiento de muestreo: Solicitante
Tamaño de la muestra: 400 ml
Envase o empaque: Plástico
Lote: //

ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

ANÁLISIS	MÉTODO	RESULTADOS	VALORES DE REFERENCIA
RECUENTO TOTAL DE MESOFILOS	St. Mth. 9215 D	700 UFC / 100 ml	Máx. 100
COLIFORMES TOTALES	St. Mth. 9222 B	0 UFC /100 ml	0
E. coli	St. Mth. 9222 D	0 UFC / 100ml	0

OBSERVACIONES: La variable Mesofilos se encuentra fuera de los valores aceptables según los requisitos microbiológicos de la Resolución 2115/07.

Los resultados son válidos para la muestra analizada. No se pueden reproducir sin la previa autorización de SIAMA.

Revisó: ALBIO ENRIQUE ESPINOSA SAFAR
QUIMICO
PQ. 0996

Elaboró: YESENIA DUARTE CAICEDO
MICROBIOLOGA REG.45587 FOLIO 125

Carrera 24 No. 36 - 11 Tels: (7) 6348000 - (7) 6348800 - 3187070821 Bucaramanga - Colombia
web: www.siamaltda.com - e-mail: info@siamaltda.com

SERVICIOS INTEGRADOS
PARA LA INDUSTRIA DEL AGRO, MINERO-ENERGETICA Y EL MEDIO AMBIENTE
NIT: 804.016.152-8

REPORTE DE RESULTADOS

Ciudad y Fecha de emisión: Bucaramanga, 22 de Junio de 2015 — **No. 084013**

Solicitante: **UPB LAB ANA QUI DE AGUAS RESIDUALES**
Dirección: Km 7 Vía Piedecuesta
Teléfono: 6796220
Lugar de muestreo: **ACUEDUCTO DE FLORIDABLANCA**
Fecha de muestreo: 18 de Junio de 2015
Fecha de recepción: 18 de Junio de 2015
Fecha de análisis: 19 – 21 de Junio de 2015
Análisis solicitado: Microbiológico
Condiciones de la muestra: Adecuadas

Tipo de muestra: Agua
Identificación: **AGUA CRUDA – BLANCO**
Descripción: Cruda
Responsable de muestreo: Solicitante
Procedimiento de muestreo: Solicitante
Tamaño de la muestra: 500 ml
Envase o empaque: Vidrio
Lote: //

ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

ANÁLISIS	MÉTODO	RESULTADOS	VALORES DE REFERENCIA
RECUENTO TOTAL DE MESOFILOS	St. Mth. 9215 D	15.210 UFC / 100 ml	Máx. 100
COLIFORMES TOTALES	St. Mth. 9222 B	380 UFC /100 ml	0
E. coli	St. Mth. 9222 D	0 UFC / 100ml	0

OBSERVACIONES: Las variables Mesofilos y Coliformes Totales se encuentran fuera de los valores aceptables según los requisitos microbiológicos de la Resolución 2115/07.

Los resultados son válidos para la muestra analizada. No se pueden reproducir sin la previa autorización de SIAMA.

Revisó: ALBIO ENRIQUE ESPINOSA SAFAR
QUIMICO
PQ. 0996

Elaboró: YESENIA DUARTE CACEDO
MICROBIOLOGA REG.45587 FOLIO 125

Carrera 24 No. 36 - 11 Tels: (7) 6348000 - (7) 6348800 - 3187070821 Bucaramanga - Colombia
web: www.siamaltda.com - e-mail: info@siamaltda.com

SERVICIOS INTEGRADOS
PARA LA INDUSTRIA DEL AGRO,
MINERO-ENERGETICA Y
EL MEDIO AMBIENTE
NIT: 804.016.152-8

REPORTE DE RESULTADOS

Ciudad y Fecha de emisión: Bucaramanga, 29 de Abril de 2015 — **No. 081502**

Solicitante: **UPB LAB ANA QUI DE AGUAS RESIDUALES**
Dirección: Km 7 Vía Piedecuesta
Teléfono: 6796220
Lugar de muestreo: **ACUEDUCTO**
Fecha de muestreo: 27 de Abril de 2015
Fecha de recepción: 27 de Abril de 2015
Fecha de análisis: 27 - 28 de Abril de 2015
Análisis solicitado: Microbiológico
Condiciones de la muestra: Adecuadas

Tipo de muestra: Agua
Identificación: **AGUA CRUDA**
Descripción: Cruda
Responsable de muestreo: Solicitante
Procedimiento de muestreo: Solicitante
Tamaño de la muestra: 400 ml
Envase o empaque: Plástico
Lote: //
Blanco

ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

ANÁLISIS	MÉTODO	RESULTADOS	VALORES DE REFERENCIA
RECUENTO TOTAL DE MESOFILOS	St. Mth. 9215 D	700 UFC / 100 ml	Máx. 100
COLIFORMES TOTALES	St. Mth. 9222 B	500 UFC /100 ml	0
E. coli	St. Mth. 9222 D	0 UFC / 100ml	0

OBSERVACIONES: Las variables Mesofilos y Coliformes Totales se encuentran fuera de los valores aceptables según los requisitos microbiológicos de la Resolución 2115/07.

Los resultados son válidos para la muestra analizada. No se pueden reproducir sin la previa autorización de SIAMA.

Revisó: **ALBIO ENRIQUE ESPINOSA SAFAR**
QUIMICO
PQ. 0996

Elaboró: **YESENIA DUARTE CAICEDO**
MICROBIOLOGA REG.45587 FOLIO 125

Código:	R – 051	Versión:	0.1	Fecha:	22/05/09	Página:	1 de 1

SERVICIOS INTEGRADOS
PARA LA INDUSTRIA DEL AGRO,
MINERO-ENERGETICA Y
EL MEDIO AMBIENTE
NIT: 804.016.152-8

REPORTE DE RESULTADOS

Ciudad y Fecha de emisión: Bucaramanga, 30 de Abril de 2015 — **No. 081589**

Solicitante: **UPB LAB ANA QUI DE AGUAS RESIDUALES**
Dirección: Km 7 Vía Piedecuesta
Teléfono: 6796220
Lugar de muestreo: **ACUEDUCTO**
Fecha de muestreo: 27 de Abril de 2015
Fecha de recepción: 28 de Abril de 2015
Fecha de análisis: 28 - 30 de Abril de 2015
Análisis solicitado: Microbiológico
Condiciones de la muestra: Adecuadas

Tipo de muestra: Agua
Identificación: **AGUA CRUDA 24 HORAS**
Descripción: Cruda
Responsable de muestreo: Solicitante
Procedimiento de muestreo: Solicitante
Tamaño de la muestra: 500 ml
Envase o empaque: Vidrio
Lote: //

24h → None
1g Nasocompuesto

ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

ANÁLISIS	MÉTODO	RESULTADOS	VALORES DE REFERENCIA
RECUENTO TOTAL DE MESOFILOS	St. Mth. 9215 D	100 UFC / 100 ml	Máx. 100
COLIFORMES TOTALES	St. Mth. 9222 B	0 UFC /100 ml	0
E. coli	St. Mth. 9222 D	0 UFC / 100ml	0

OBSERVACIONES: Las variables analizadas se encuentran dentro de los valores aceptables según los requisitos microbiológicos de la Resolución 2115/07.

Los resultados son válidos para la muestra analizada. No se pueden reproducir sin la previa autorización de SIAMA.

Revisó: ALBIO ENRIQUE ESPINOSA SAFAR
QUIMICO
PQ. 0996

Elaboró: YESENIA DUARTE CAICEDO
MICROBIOLOGA REG.45587 FOLIO 125

Código:	R – 051	Versión:	0.1	Fecha:	22/05/09	Página:	1 de 1

Carrera 24 No. 36 - 11 Tels: (7) 6348000 - (7) 6348800 - 3187070821 Bucaramanga - Colombia
web: www.siamaltda.com - e-mail: info@siamaltda.com

SERVICIOS INTEGRADOS
PARA LA INDUSTRIA DEL AGRO,
MINERO-ENERGETICA Y
EL MEDIO AMBIENTE
NIT: 804.016.152-8

REPORTE DE RESULTADOS

Ciudad y Fecha de emisión: Bucaramanga, 4 de Mayo de 2015 — **No. 081658**

Solicitante: **UPB LAB ANA QUI DE AGUAS RESIDUALES**
Dirección: Km 7 Vía Piedecuesta
Teléfono: 6796220
Lugar de muestreo: **ACUEDUCTO**
Fecha de muestreo: 29 de Abril de 2015
Fecha de recepción: 29 de Abril de 2015
Fecha de análisis: 29 de Abril – 2 de Mayo de 2015
Análisis solicitado: Microbiológico
Condiciones de la muestra: Adecuadas

Tipo de muestra: Agua
Identificación: **AGUA CRUDA**
Descripción: Cruda
Responsable de muestreo: Solicitante
Procedimiento de muestreo: Solicitante
Tamaño de la muestra: 500 ml
Envase o empaque: Vidrio
Lote: //

48h → Nano
1g Nanocompuesto

ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

ANÁLISIS	MÉTODO	RESULTADOS	VALORES DE REFERENCIA
RECUENTO TOTAL DE MESOFILOS	St. Mth. 9215 D	10 UFC / 100 ml	Máx. 100
COLIFORMES TOTALES	St. Mth. 9222 B	0 UFC /100 ml	0
E. coli	St. Mth. 9222 D	0 UFC / 100ml	0

OBSERVACIONES: Las variables analizadas se encuentran dentro de los valores aceptables según los requisitos microbiológicos de la Resolución 2115/07.

Los resultados son válidos para la muestra analizada. No se pueden reproducir sin la previa autorización de SIAMA.

Revisó: ALBIO ENRIQUE ESPINOSA SAFAR
QUIMICO
PQ. 0996

Elaboró: YESENIA DUARTE CAICEDO
MICROBIOLOGA REG.45587 FOLIO 125

Código:	R – 051	Versión:	0.1	Fecha:	22/05/09	Página:	1 de 1

SERVICIOS INTEGRADOS
PARA LA INDUSTRIA DEL AGRO,
MINERO-ENERGETICA Y
EL MEDIO AMBIENTE
NIT: 804.016.152-8

Agua Potable

REPORTE DE RESULTADOS

Ciudad y Fecha de emisión: Bucaramanga, 6 de Junio de 2015 — **No. 083267**

Solicitante: **UPB LAB ANA QUI DE AGUAS RESIDUALES** — Tipo de muestra: Agua

Dirección: Km 7 Vía Piedecuesta — Identificación: **AGUA GRIFO**

Teléfono: 6796220 — Descripción: Tratada

Lugar de muestreo: **ACUEDUCTO DE BUCARAMANGA PTAP FLORIDABLANCA** — Responsable de muestreo: Solicitante

Fecha de muestreo: 3 de Junio de 2015 — Procedimiento de muestreo: Solicitante

Fecha de recepción: 3 de Junio de 2015 — Tamaño de la muestra: 500 ml

Fecha de análisis: 4 – 5 de Junio de 2015 — Envase o empaque: Vidrio

Análisis solicitado: Microbiológico — Lote: //

Condiciones de la muestra: Adecuadas

ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

ANÁLISIS	MÉTODO	RESULTADOS	VALORES DE REFERENCIA
RECUENTO TOTAL DE MESÓFILOS	St. Mth. 9215 D	0 UFC / 100 ml	Máx. 100
COLIFORMES TOTALES	St. Mth. 9222 B	0 UFC / 100 ml	0
E. coli	St. Mth. 9222 D	0 UFC / 100 ml	0

OBSERVACIONES: Las variables analizadas se encuentran dentro de los requisitos microbiológicos establecidos según Resolución 2115/07 para agua de consumo.

Los resultados son válidos para la muestra analizada. No se pueden reproducir sin la previa autorización de SIAMA.

Revisó: ALBIO ENRIQUE ESPINOSA SAFAR
QUIMICO
PQ. 0996

Elaboró: YESENIA DUARTE CAICEDO
MICROBIOLOGA REG.45587 FOLIO 125

Código:	R – 051	Versión:	0.1	Fecha:	22/05/09	Página:	1 de 1

Carrera 24 No. 36 - 11 Tels: (7) 6348000 - (7) 6348800 - 3187070821 Bucaramanga - Colombia
web: www.siamaltda.com - e-mail: info@siamaltda.com