

VALIDACIÓN DEL EFECTO DE LA CONCENTRACIÓN DE ÓXIDO DE COBRE
(x) EN MEZCLA CON DIÓXIDO DE TITANIO (TiO₂)_(1-x) (CuO)_(x) PARA LA
INACTIVACIÓN FOTOCATALÍTICA DE *E. coli* EN PRESENCIA DE LUZ VISIBLE

PAULA MELISSA BOHÓRQUEZ MORENO
MARÍA CAMILA GAMBOA BORREGO

FUNDACIÓN UNIVERSIDAD DE AMÉRICA
FACULTAD DE INGENIERÍAS
PROGRAMA DE INGENIERÍA QUÍMICA
BOGOTÁ D.C.
2018

VALIDACIÓN DEL EFECTO DE LA CONCENTRACIÓN DE ÓXIDO DE COBRE
(x) EN MEZCLA CON DIÓXIDO DE TITANIO (TiO₂)_(1-x) (CuO)_(x) PARA LA
INACTIVACIÓN FOTOCATALÍTICA DE *E. coli* EN PRESENCIA DE LUZ VISIBLE

PAULA MELISSA BOHÓRQUEZ MORENO
MARÍA CAMILA GAMBOA BORREGO

Proyecto de investigación para optar al título de
INGENIERO QUÍMICO

Director
Dr. Sc Cesar Augusto Quiñones Segura
Químico

Codirector
Ms. Sc Adriana Inés Páez Morales
Microbióloga

FUNDACIÓN UNIVERSIDAD DE AMÉRICA
FACULTAD DE INGENIERÍAS
PROGRAMA DE INGENIERÍA QUÍMICA
BOGOTÁ
2018

NOTA DE ACEPTACIÓN

Presidente del Jurado
Cesar Augusto Quiñones Segura

Firma del Jurado

Firma del Jurado

DIRECTIVAS DE LA UNIVERSIDAD

Presidente de la Universidad y Rector del Claustro

Dr. Jaime Posada Díaz

Vicerrector de Desarrollo y Recursos Humanos

Dr. Luis Jaime Posada García-Peña

Vicerrectora Académica y de Posgrados

Dra. Ana Josefa Herrera Vargas

Secretario General

Dr. Juan Carlos Posada García-Peña

Decano General de la Facultad de Ingenierías

Ing. Julio César Fuentes Arismendi

Director de Investigaciones

Ing. Armando Fernández Cárdenas

Director del Departamento de Ingeniería Química

Ing. Leonardo de Jesús Herrera Gutiérrez

Las directivas de la Universidad de América, los jurados calificadores y el cuerpo docente no son responsables por los criterios e ideas expuestas en el presente documento. Estos corresponden únicamente a los autores.

*A mis padres
A mi hermano*

Paula Melissa Bohórquez Moreno

*El tiempo de Dios es perfecto y este es mi momento.
Le dedico este trabajo a mi padre Hidolfo Gamboa, a mi madre
Maribel Roció y a mi hermano Juan David Gamboa son mi motor y
las personas que me dan las fuerzas para seguir y no decaer. Su
perseverancia y constante lucha es mi ejemplo y mi doctrina a
seguir.*

María Camila Gamboa Borrego

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios por todas las bendiciones dadas, así como las capacidades y prudencia para afrontar los retos en estos 5 años.

A mis padres todo su ejemplo, apoyo y paciencia; fueron vitales para el buen término de esta parte de mi vida.

A mi hermano por sus consejos, disciplina y sus oraciones.

A los profesores Cesar Quiñones y Adriana Páez por la orientación, ayuda y entrega en este proyecto.

A los integrantes del grupo Materiales fotoactivos por toda su colaboración.

A Alejandro Peña y Yenny Ibarra por su disposición y ayuda en cada paso de este proyecto.

Y a todos los que de una u otra forma apoyaron todo mi proceso.

Paula Melissa Bohórquez Moreno

AGRADECIMIENTOS

A Dios primeramente por bendecirme con una gran familia, por darme la oportunidad de comenzar y culminar mi pregrado como ingeniera química y principalmente por que durante estos 5 años de carrera jamás me ha dejado sola.

Gracias a mis padres Hidolfo Gamboa Ruiz por sus sabios consejos, por su apoyo incondicional y por fortalecerme como mujer para hacer de mí una gran profesional y a Maribel Roció, que además de ser mi madre es mi mejor amiga le doy gracias por todo el amor que me da, por su crianza, por ser mi confidente, a esa mujer tan bella le doy las gracias por darme la vida por construirme como una gran mujer, por darme los valores que hoy día poseo, por luchar conmigo, porque con cada uno de los retos que me dio la vida ella me dio los recursos necesarios para ser yo quien saliera victoriosa. Gracias a mi hermano Juan David Gamboa siempre me contagio de su alegría y cuidado de mí, le doy las gracias por quererme tanto y escucharme siempre que lo necesitara.

Gracias a mi familia en especial a mis abuelos Campo Elias y Mercedes Ruiz quienes me apoyaron en cada una de mis necesidades y me acogieron con gran afecto durante mi carrera, a mi tía Flor Gamboa quien me trato como una hija más y estuvo pendiente de todo mi proceso universitario, me aconsejó, me reprendió cuando fue necesario y me consintió, a ella le agradezco siempre ser dura pero justa para hacer de mí una profesional completa.

A David Vargas quien me acompaño durante todo este proceso, fue quien me dio fortaleza, seguridad y fe, creyó en mí todo el tiempo y permaneció a mi lado en cada momento dándome lo mejor de él para motivarme a avanzar y a mis amigos en especial a Marcela Benavides, Alejandra Vargas, Dayanna Ayala, Mónica Gaitán, María Araque, Paola Poveda y Edward Gil estuvieron pendiente de todo mi proceso y dispuestos a darme una mano en lo que necesitara.

A mi compañera de proyecto de grado Paula Bohórquez que con su sensatez y serenidad me ayudo en los momentos de angustia y dificultad, gracias a su apoyo finalizamos con éxito esta primera etapa, logrando excelentes resultados.

Agradezco a nuestro director el Dr. Sc. César Augusto Quiñones Segura por abrirme las puertas del Grupo Materiales Fotoactivos, por darme todas las herramientas y conocimiento necesario tanto para la realización del proyecto como para desempeñar el mejor papel como profesional y por su compromiso por este proyecto. A mi codirectora la Ms. Sc. Adriana Inés Páez Morales quien puso a nuestra disposición los implementos necesarios para el desarrollo de la parte microbiológica y por guiar la realización del mismo. A mis compañeros del grupo materiales fotoactivos en especial a Jenny Buitrago por ayudarnos con el Sping Coating.

Y finalmente agradezco a la coordinadora de laboratorios Yenny Hernández y a los monitores, especialmente Alejandro Peña quien siempre estuvo presto ayudar en lo que estuviera a su alcance.

María Camila Gamboa Borrego

CONTENIDO

	pág
INTRODUCCIÓN	21
OBJETIVOS	22
1. FUNDAMENTOS	23
1.1 PROCESOS DE OXIDACIÓN AVANZADA	23
1.2 MODIFICACIÓN DE TiO_2	24
1.3 MÉTODO DE DEPOSICIÓN DE PELÍCULAS	25
1.3.1 Spin coating	25
1.4 FOTOCATÁLISIS PARA LA DESINFECCIÓN	26
1.5 MÉTODO MICROBIOLÓGICO	27
1.5.2 Patrón de Mc Farland	28
1.5.3 Recuento en placa	28
1.6 VALIDACIÓN DE MÉTODOS	28
1.6.1 Parámetros analíticos para la validación	30
2. DESARROLLO EXPERIMENTAL	31
2.1 ELABORACIÓN DE LA MEZCLA	31
2.1.1 Reactivos	31
2.1.2 Mezcla $TiO_2/CuO(x)$	31
2.2 PROTOCOLO DE LAVADO DE VIDRIOS	32
2.3 SUSPENSIÓN DE LA MEZCLA	32
2.3.1 Reactivos	32
2.3.2 Elaboración de la suspensión	33
2.4 DEPOSICIÓN DE LA MEZCLA EN EL SUSTRATO	33
2.5 FUNCIONALIDAD DE LAS PELÍCULAS	34
2.5.1 Curva de calibración	35

2.6 PROTOCOLO MICROBIOLÓGICO	36
2.6.1 Activación de la cepa	36
2.6.2 Patrón de Mc Farland	36
2.6.3 Fotorreacción	36
2.6.4 Recuento en placa	37
2.6.5 Validación del método	40
3. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS	41
3.1 COMPORTAMIENTO DE LA SUSPENSIÓN	41
3.1.1 Impregnación húmeda	41
3.1.2 Lavado de vidrio	41
3.1.3 Suspensión de la mezcla TiO ₂ /CuO	41
3.1.4 Deposición de la mezcla	41
3.1.5 Calcinación de las películas	42
3.2 COMPORTAMIENTO DE LAS PELÍCULAS	42
3.2.1 Caracterización estructural por difracción de rayos X (DRX)	42
3.2.2 Caracterización morfológica por microscopía electrónica de barrido (SEM)	45
3.3 ADECUACIÓN DEL FOTORREACTOR	47
3.4 INACTIVACIÓN DE <i>E. coli</i>	48
3.4.1 Prueba de funcionalidad de las películas con azul de metileno	48
3.4.2 Resultados solución de prueba	50
4. CONCLUSIONES	57
5. RECOMENDACIONES	58
BIBLIOGRAFÍA	59
ANEXOS	65

LISTA DE FIGURAS

	pág
Figura 1. Mecanismo de reacción fotocatalítica	24
Figura 2. Método de deposición spin coating	26
Figura 3. Mecanismo de desinfección	27
Figura 4. Preparación y activación de la mezcla	32
Figura 5. Proceso de elaboración de la suspensión	33
Figura 6. Método de deposición de la mezcla sobre vidrio	34
Figura 7. Biorreactor en funcionamiento	37
Figura 8. Metodología para la inactivación de <i>E. coli</i>	38
Figura 9. Ejecución de cada analista	38
Figura 10. Método de recuento en placa	39
Figura 11. Deposición de la mezcla sobre el sustrato	41
Figura 12. Difractograma de la película 2,49% de precursor calcinada a 700°C	43
Figura 13. Difractograma de la película 2,49% de precursor calcinada a 600°C	44
Figura 14. Difractograma de la película 1,56% de precursor calcinada a 700°C	44
Figura 15. Difractograma de la película 0,62% de precursor calcinada a 700°C	45
Figura 16. SEM de la película de 0.62%	46
Figura 17. SEM de la película de 1.56%	46
Figura 18. SEM de la película de 2.49%	47
Figura 19. SEM de la película de 2.49% a 9000 rpm	47

LISTA DE GRÁFICAS

	pág
Gráfica 1. Curva de calibración para azul de metileno	36
Gráfica 2. Degradación de azul de metileno con luz ultravioleta	49
Gráfica 3. Degradación de azul de metileno con luz visible	50

LISTA DE TABLAS

	pág
Tabla 1. Reactivos empleados para elaboración de la mezcla	31
Tabla 2. Volumen requerido para los porcentajes de precursor en cada mezcla	31
Tabla 3. Reactivos empleados para la suspensión de la mezcla $\text{TiO}_2/\text{CuO}_{(x)}$	33
Tabla 4. Número de degradaciones por porcentaje de precursor en las Películas	35
Tabla 5. Valores de la curva de calibración	35
Tabla 6. Unidades formadoras de colonia en cada hora y en distinto medio de cultivo para el analista 1	51
Tabla 7. Unidades formadoras de colonia en cada hora y en distinto medio de cultivo para el analista 2	52
Tabla 8. Promedio de las UFC en cada réplica en los dos medios de cultivo para el analista 1	53
Tabla 9. Promedio de las UFC en cada réplica en los dos medios de cultivo para el analista 2	53
Tabla 10. Datos estadísticos para las pruebas realizadas por el analista 1	54
Tabla 11. Datos estadísticos para las pruebas realizadas por el analista 2	54
Tabla 12. Imprecisión estimada reportada en %CV	55
Tabla 13. Porcentaje de eficiencia de las películas para las pruebas del analista 1	55
Tabla 14. Porcentaje de eficiencia de las películas para las pruebas del analista 2	56

LISTA DE ANEXOS

	pág
Anexo A. Protocolo de lavado de vidrios	66
Anexo B. Preparación de la solución del precursor	67
Anexo C. Preparación de la mezcla TiO_2/CuO a diferentes concentraciones	68
Anexo D. Tablas de degradación de azul de metileno	69
Anexo E. Planos del fotorreactor	71
Anexo F. Ficha técnica micropipeta	72
Anexo G. Certificado de análisis de medios de cultivo	73

LISTA DE ECUACIONES

	pág
Ecuación 1. Media Aritmética	29
Ecuación 2. Desviación estándar	29
Ecuación 3. Coeficiente de variación	30
Ecuación 4. Concentración de azul de metileno	36
Ecuación 5. Valor real de UFC	40

GLORASIO

AGAR NUTRITIVO: medio de cultivo no selectivo, sin inhibidores de crecimiento bacteriano. Color ámbar claro.

AGAR TRIPTICASA SOYA: medio de cultivo usado para la siembra de varios microorganismos, aerobios, anaerobios. Color beige claro.

ANATASA: forma cristalina del dióxido de titanio, metaestable, tiende a cambiar a rutilo a elevadas temperaturas.

BANDA DE CONDUCCIÓN: banda superior de los estados permitidos. Permanece vacía la mayoría del tiempo debido que la energía requerida por un electrón para estar allí es muy alta. Cuando el electrón pierde la energía para estar en la banda de conducción, regresa a la banda de valencia.

BAND GAP: banda ubicada entre la banda de valencia y conducción e indica la energía mínima que necesita un electrón para pasar de la banda de valencia a la de conducción en un semiconductor.

BANDA DE VALENCIA: banda inferior de los estados permitidos, que permanece llena de electrones gracias a la tendencia de estos a permanecer en el menor nivel de energía.

DIFRACCIÓN DE RAYOS X: método usado para identificar estructuras cristalinas o planos cristalinos dentro de un catalizador complejo por medio de la inducción de un haz de rayos X.

E. coli: bacteria gramnegativa, considerada como indicador de desinfección puesto que es mucho más sensible que otros microorganismos y es usada para el monitoreo y verificación de agua potable.

MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (SEM): método usado principalmente para examinar la topología de la superficie del catalizador y morfología de las partículas y los cristales.

IMPREGNACIÓN HÚMEDA: proceso de tres pasos en el cual se fija la solución impregnante en el soporte, se seca el líquido remanente en el interior de los poros y la activación del catalizador por calcinación. El volumen del poro se satura con solvente (usualmente agua) y el soluto se transfiere por medio de difusión al interior de los poros.

OXIDO-REDUCCIÓN: es toda reacción química en la que uno o más electrones se transfieren entre los reactivos, provocando un cambio en sus estados de oxidación. Agente oxidante (capta electrones) y reductor (cede electrones).

RESUMEN

En este proyecto se validó que películas de dióxido de titanio en mezcla con óxido de cobre inactivaran el 99,99% la bacteria *E. coli* siguiendo la misma metodología del proyecto “Evaluación del efecto de la concentración de óxido de cobre (x) en mezclas con dióxido de titanio $(\text{TiO}_2)_{(1-x)}(\text{CuO})_{(x)}$ sobre la actividad microbicida en presencia de luz visible”.

Se realizaron tres mezclas por impregnación húmeda, cada una con un porcentaje de sulfato de cobre (precursor del óxido de cobre) diferente, fueron 0.62%, 1.56% y 2.49%. Se realiza una prueba preliminar para probar su funcionalidad, se degrada azul de metileno. Se obtiene que la mezcla con 0.62% de precursor es la que mejor degrada azul de metileno.

La inactivación de *E. coli* se realiza con la película de 2.49% en dos medios de cultivo (agar nutritivo, agar tripticosa soya), obteniendo porcentajes de inactivación del 32,5% al 38%.

El método seguido no resulta repetible ni reproducible, los resultados comparados a los obtenidos por Miguel Chávez y Gabriel Vivas usando la misma metodología no concuerdan. Sin embargo el uso de diferentes medios de cultivo no altera el resultado.

Palabras clave: Dióxido de titanio, *E. coli*, Fotocatálisis heterogénea, luz visible, óxido de cobre.

INTRODUCCIÓN

En el mundo cerca de 780 millones de personas carecen de agua potable y unos 2500 a sistemas de saneamiento apropiados; según la Organización Mundial de la Salud (OMS) la enfermedad diarreica aguda es la segunda causa de muertes de niños entre los 0 y 5 años siendo raíz la ingesta de agua contaminada con heces humanas o de animales, más que todo en zonas rurales, causando unos 760.000 casos mortales por año, con una mayor ocurrencia en países en desarrollo^{1 2}. Colombia en el año 2016 había reportado 17 casos mortales y 23.847 menores padecían esta enfermedad, según menciona el secretario de salud César Ballesteros.^{3 4} Las cifras de contaminación en el país alcanzan niveles del 100% de IRCA (índice de riesgo de la calidad de agua para consumo humano) en varios municipios del país como Tamalameque, Timbiquí Sitionuevo, entre otros.⁵ El principal responsable de esta enfermedad (EDA) es la *E. coli*, ésta bacteria se encuentra naturalmente en el intestino de animales y humanos, no todas sus cepas causan esta patología las *E. coli* enterotoxigénicas, enteropatógenas enterohemorrágicas e enteroinvasivas son las que provocan dicho cuadro clínico.⁶

Poder prevenir este tipo de enfermedades y descontaminar agua con métodos eficientes, sostenibles y económicamente rentables puede tener un tinte épico; sin embargo con el avance en el desarrollo de materiales se ha logrado generar nuevas tecnologías con estas características. Una de estas alternativas es la fotocatalisis; el grupo materiales fotoactivos de la Universidad de América ha realizado varias investigaciones para la inactivación de *E. coli*, obteniendo resultados de eficiencias del 97,61% al 99,99%; sin embargo estos datos no han sido validados y urge corroborar que el método es fiable y puede ser empleado para dichos fines.

¹ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD (OMS). Enfermedades diarreicas. [en línea] mayo 2017. Disponible en: (<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs330/es/>).

² ORGANIZACIÓN MUNDAL DE LA SALUD (OMS). Progreso en saneamiento y suministro de agua. [en línea]. 2012. Disponible en (http://www.who.int/water_sanitation_health/monitoring/jmp2012/fr/).

³ CARACOL RADIO. Más de 23.000 niños en La Guajira padecen de enfermedades diarreicas. [en línea] Noviembre de 2016. Disponible en: (http://caracol.com.co/emisora/2016/11/25/riohacha/1480074372_810264.html).

⁴ INSTITUTO NACIONAL DE SALUD. Protocolo de vigilancia y control de la mortalidad por enfermedad diarreica agua en menores de 5 años. Vigilancia y control de factores de riesgo ambiental. 25 de septiembre de 2009.

⁵ EL TIEMPO. ¿Sabe usted dónde se toma la mejor y la peor agua del país?. [en línea]. año 2016. Disponible en: (<http://www.eltiempo.com/multimedia/especiales/calidad-del-agua-en-colombia/16555634/1/>).

⁶ROCK, C; RIVERA, B. La calidad del agua, E. coli y su salud. College of agriculture and life science. Universidad de Arizona. Marzo del 2014

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Validar el efecto de la concentración de óxido de cobre (x) en mezcla con dióxido de titanio (TiO₂)_(1-x) (CuO)_(x) para la inactivación fotocatalítica de *E. coli* en presencia de luz visible.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Sintetizar películas con diferentes concentraciones de óxido de cobre (x) en mezcla con dióxido de titanio (TiO₂)_(1-x) (CuO)_(x) por el método impregnación húmeda.
- Caracterizar la mezcla TiO₂/CuO morfológicamente por medio del método SEM y estructuralmente por medio del método XRD.
- Adecuar el fotorreactor para la inactivación de *E. coli*.
- Determinar la inactivación de *E. coli* por el método de conteo de placa.

1. FUNDAMENTOS

1.1 PROCESOS DE OXIDACIÓN AVANZADA

Estos procesos son empleados para la reducción o eliminación de contaminantes orgánicos generalmente en medios acuosos^{7 8}. Consiste en la formación de radicales hidroxilo (OH^-)^{9 10} que al ser altamente oxidantes, no selectivos permite mineralizar una amplia gama de sustancias a una velocidad menor que los métodos convencionales¹¹.

Se puede generar radicales hidroxilo a partir de la radiación de luz con una longitud de onda apropiada a un catalizador, generalmente un semiconductor donde este absorbe fotones y se generan electrones y huecos donde los electrones se van a transferir por la banda de conducción¹² como ilustra la Figura 1, a esto se le llama fotocatalisis heterogénea. Para llevar a cabo la reacción fotocatalítica es necesario que las especies se difundan en la fase fluida, seguido de adsorberse en la superficie del catalizador para después poder generar la reacción a partir de los portadores de carga por la transferencia de electrones, luego la desorción de los productos y finalmente la remoción de los productos de la fase fluida.

⁷SIVAGAMI, K. SAKTHIVEL, K. Advanced oxidation process for the treatment of tannery wastewater. En: Journal of environmental chemical engineering. 2017. p. 3.

⁸BOCZKAJ, Grzegorz. FERNANDES, André. Wastewater treatment by means of advanced oxidation processes at basic pH conditions: A review. En: Chemical engineering journal. 2017. p. 6-8.

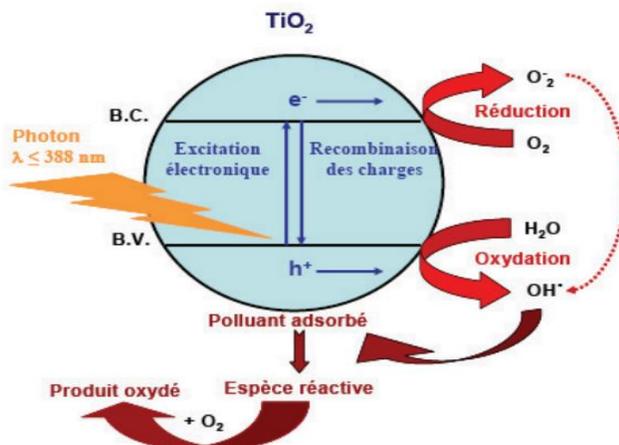
⁹DEWIL, Raf. MANTZABINOS, Dionissios. New perspectives for advanced oxidation processes. En: Journal of environmental management. 2017. p. 95-97.

¹⁰WANG, Zhaohui. SUN, Linyan. Chemical instability of graphene oxide following exposure to highly reactive radicals in advanced oxidation processes. En: Journal of colloid and interface science. 2017. p. 3-5.

¹¹PAPAMIJA, Marcela. SARRIA, Victor. Photocatalytic degradation of ibuprofen using titanium dioxide. Universidad de los Andes. 2009. p, 51

¹²AUGUGLIARO, Vincenzo. BELLARDITA, Mariana. Overview on oxidation mechanisms of organic compounds by TiO_2 in heterogeneous photocatalysis. En: Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry reviews. 2012. p. 225-227.

Figura 1. Mecanismo de reacción fotocatalítica



Fuente: YASMINA MOKHBI, Algeria; 2014.
Treatment heterogeneous photocatalysis;
Factors influencing the photocatalytic
degradation by TiO_2

1.2 MODIFICACIÓN DE TiO_2

El dióxido de titanio (TiO_2) es un semiconductor que ha sido usado en las últimas décadas como fotocatalizador para la degradación de elementos orgánicos^{13 14} además de ser altamente estable, no es tóxico¹⁵, su valor en el mercado es bajo, trabaja en un rango amplio de pH y es inocuo¹⁶. La radiación necesaria para que los electrones de la banda de valencia se exciten y lleguen a la banda de conducción es muy alta (3,02 - 3,23 eV)¹⁷.

¹³XION, Lin. SUN, Weiling. Heterogeneous photocatalysis of methylene blue over titanate nanotubes: Effect of adsorption. En: Journal of Colloid and Interface Science. 2010. p. 211-212.

¹⁴ SUÁREZ, Laura. PULGARÍN, Cesar. New evidence for disinfection, self-cleaning and pollutant degradation mediated by GF- TiO_2 – Cu mats under solar/visible light in mild oxidative conditions. En: Journal of photochemistry and photobiology A: Chemistry. 2017. p. 351-353-

¹⁵ ADAWIYA, Haider. RIYAD, Hassan. Exploring potential environmental applications of TiO_2 nanoparticles. En Energy Procedia. 2017. p. 333

¹⁶ BAHJAT, Kadhim. Ablation characteristics of TiO_2 /UPE-PMMA blend nanocomposites: Empirical and Simulation approaches. En: Energy Procedia. 2017. Vol. 119. p. 719-720

¹⁷ HIROSHI, Irie. KASUHIDE, Kamiya. Visible light sensitive Cu (II)-Grafted TiO_2 photocatalysts: Activities and X-ray absorption fine structure analyses. American Chemical Society. Vol. 113. No.24. 2009. p. 10763.

La modificación con otros metales ha sido estudiada para poder trabajar con este semiconductor en el espectro de luz visible^{18 19} y para evitar la recombinación de electrones (e^-) y huecos (h^+)²⁰. En este trabajo se usa óxido de cobre para mejorar las propiedades fotocatalíticas del TiO_2 . Posee un band gap pequeño (1,7 eV) lo que permite trabajar con luz visible, a su vez propiedades antimicrobianas²¹ y tiene una baja toxicidad²². Se obtiene a un bajo costo a través de la síntesis a partir de sulfatos.

1.3 MÉTODO DE DEPOSICIÓN DE PELÍCULAS

Al pasar la reacción fotocatalítica se deben separar el catalizador y el efluente, si el catalizador se encuentra disperso en el medio. Para omitir este paso el catalizador se soporta en un sustrato (vidrio borosilicato, polímeros, tejido textil, etc)²³. Para obtener una capa fina y homogénea se usa el método spin coating²⁴.

1.3.1 Spin coating. Método que proporciona películas delgadas de material sobre un sustrato^{25 26 27}.

Se lleva a cabo en cuatro etapas como se ilustra en la Figura 2²⁸:

1. Deposición del material: Se adiciona exceso del material a depositar sobre el centro del sustrato

¹⁸ VILLANUEVA, Carolina. Fotocatálisis con TiO_2 /ultravioleta y TiO_2 $CuSO_4$ /visible como sistemas de desinfección para inactivar *E. coli* proveniente de agua residual doméstica. Pontificia Universidad Javeriana. 2011. p. 19-29.

¹⁹ KHRAISHEH, Majeda. WU, Lijun. Photocatalytic disinfection of *Escherichia coli* using TiO_2 P25 and Cu-doped TiO_2 . En: Journal of Industrial and Engineering Chemistry. 2014. p. 370.

²⁰ MORENO, David. Evaluación de la actividad fotocatalítica de una mezcla de óxido de cobre y dióxido de titanio mediante la degradación de azul de metileno. Universidad de América. 2014. p. 20.

²¹ ARUNADEVI, R. KAVITHA, B. Investigation of the drastic improvement of photocatalytic degradation of Congo red by monoclinic Cd, Ba-CuO nanoparticles and its antimicrobial activities. En: Surfaces and interfaces. Noviembre de 2017. p. 32-33

²² GHASEMI, Nasrin. CuO and Ag/CuO Nanoparticles: Biosynthesis and antibacterial properties. En: Journal Materials letters. 2017. p. 2-3.

²³ PARODI, M. RODRIGUEZ, L. Application of the Berreman effect to the characterization of TiO_2 thin layers formed onto titanium substrates. En: Procedia Materials science. 2012. Vol 1. p. 470-471.

²⁴ RAHEEMA, Aslam. GONZALES, Wenceslao. Spin-coating of moderately concentrated superparamagnetic colloids in different magnetic field configurations. En: Colloids and Surfaces A. 2017. p. 532-533.

²⁵ BALZAROTTI, Riccardo. CRISTIANI, Cinzia. Sping coating deposition on complex geometry substrates: Influence of operative parameters. En: Surface and coatings technology. 2017. p. 5.

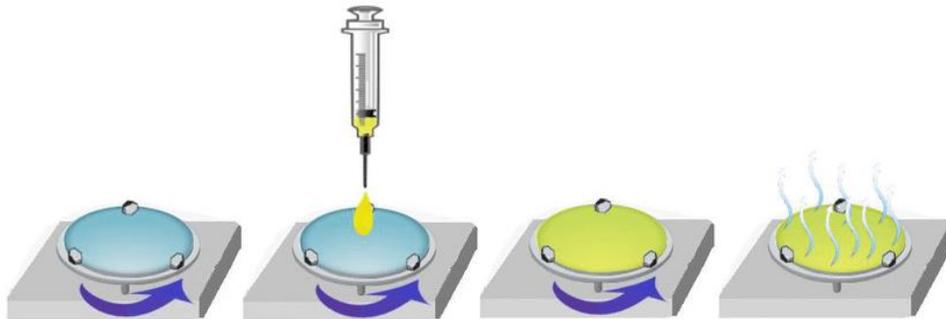
²⁶ MEDINA, Iliana. ARÁMULA, Luis. Diseño y fabricación de un aparato para el depósito de películas delgadas por el método de rotación. Investigación y Ciencia. Vol 17, núm 45. 2009. p. 45-46.

²⁷ VERMA, Kartikey. CHAUDAHARY, Babulal. Investigation of structural, morphological and optical properties of Mg: ZnO thin films prepared by sol-gel spin coating method. En: Vacuum. 2017. p. 3-4.

²⁸ MARTINEZ, Diego. CORDOBA, Carlos. Construcción y calibración de un equipo para la deposición de nanopelícula sol-gel por el método de rotación ó spin coating. En: Revista Colombiana de Física. Universidad de Nariño. p. 2.

2. Rotación acelerada: Por la aceleración centrífuga el líquido cubre el sustrato del centro a los bordes.
3. Rotación desacelerada: Se elimina el exceso de material depositado.
4. Evaporación: Principal mecanismo de disminución de espesor de la película por la evaporación de las sustancias volátiles.

Figura 2. Método de deposición spin coating.



Fuente: TEODORESCU, Mirela. Research on Biometrics Applicability in Textile Products. Octubre de 2012. [En línea] Disponible en: <https://www.researchgate.net/figure/311616041_fig3_Figure-36-Spin-coating-process-of-polyamide-6-thin-films>

1.4 FOTOCATÁLISIS PARA LA DESINFECCIÓN

Existen muchos métodos para desinfectar el agua²⁹; sin embargo algunos de estos éstos como la cloración produce a largo plazo intoxicación por la aparición de subproductos de desinfección³⁰ y los filtros purificadores no son accesibles para toda la población. Se ha comprobado que el uso de semiconductores como el TiO_2 y modificaciones de este inactivan microorganismos patógenos^{31 32 33}.

²⁹ NGUYEN, Dinh. CHO. Kwang. Synthesis of frost-like CuO combined graphene- TiO_2 by self-assembly method and its high photocatalytic performance. En: Applied Surface science. 2017. p. 553-554.

³⁰ DU, Ye. LU, Xiao. Formation and control of disinfection byproducts and toxicity during reclaimed water chlorination: A review. En: Journal of environmental sciences. 2017. p. 51-63.

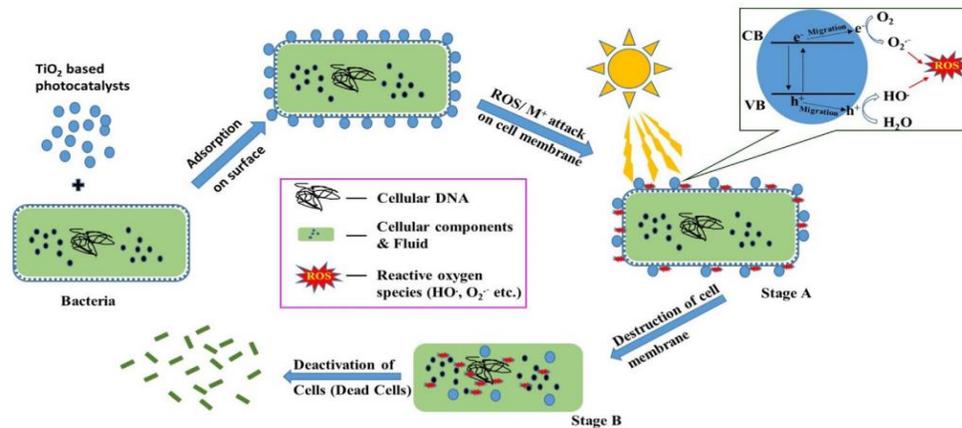
³¹ YOUSEF, Ayman. BARAKAT, Nasser. Inactivation of pathogenic *Klebsiella pneumoniae* by CuO/TiO_2 nanofibers: A multifunctional nanomaterial via one-step electrospinning. En: Ceramics International. 2012. p. 4526.

³² YOUSEF, Ayman. HALWANY, El. Cu_0 -doped TiO_2 nanofibers as potential photocatalyst and antimicrobial agent. En: Journal of Industrial and Engineering Chemistry. 2014. p. 252.

³³ PHAM, Thanh. LEE, Kyu. Cu doped TiO_2/GF for photocatalytic disinfection of *Escherichia coli* in bioaerosols under visible light irradiation: Application and mechanism. En: Applied Surface Science. 2013. p. 16

El mecanismo de desinfección con TiO_2 o TiO_2 modificado consiste en la generación de radicales hidroxilo y peróxido, los cuales reaccionarán con la pared celular de la bacteria y la membrana e inducirán daño a través de una fuga rápida de iones de potasio y reducción de la capa de fosfolípidos de la pared celular³⁴ como se muestra en la figura 3.

Figura 3. Mecanismo de desinfección.



Fuente: KAVITHA, Beluri. TiO_2 -based photocatalytic disinfection of microbes in aqueous media. Mecanismo fotocatalítico de desinfección de las bacterias.

1.5 MÉTODO MICROBIOLÓGICO

1.5.1 Uso de *E. coli*. Comúnmente se encuentra en el agua bacterias que habitan en el tracto gastrointestinal de humanos o animales de sangre caliente³⁵. Se usan como indicadores más comunes de contaminación *E. coli*, coliformes totales y enterococos; siendo *E. coli* seleccionada por su estrecha relación con las bacterias

³⁴ REDDY, Venkata. KAVITHA, Beluri. TiO_2 -based photocatalytic disinfection of microbes in aqueous media. En: Environmental research. 2017. p. 297-298.

³⁵ LARREA, Jenny. ROJAS, Marcia. Bacterias indicadoras de contaminación fecal en la evaluación de la calidad de las aguas: revisión de la literatura. En: Revista CENIC. Vol. 44. 2013. p. 3

que causan la fiebre tifoidea y paratifoidea y una gran concentración en varios tipos de muestras^{36 37 38}.

1.5.2 Patrón de Mc Farland. Es un estándar que compara la concentración de unidades formadoras de colonia por mililitro a través de la turbidez de la muestra y el estándar. Consta de una solución de ácido sulfúrico mezclado con cloruro de bario para obtener un precipitado de sulfato de bario³⁹. Existen varios grados de turbidez en este patrón lo que permite ajustarse a distintas concentraciones bacterianas. Se usará un Mc Farland de 0,5 lo que da una concentración de $1,5 \times 10^8$ UFC/mL⁴⁰.

1.5.3 Recuento en placa. Método de cuantificación de células viables que pueden formar una colonia en un medio adecuado para cada microorganismo. La siembra en superficie consiste en tomar un volumen de 0,1mL y extenderlo con un rastrillo por todo el agar, llevar a incubación por 24 a 48 horas y proceder a la lectura. Se descartan las cajas diluidas que presenten exceso o falta de colonias para evitar errores^{41 42}.

1.6 VALIDACIÓN DE MÉTODOS

La validación de un método puede entenderse como la confirmación de que un proceso establece la idoneidad y confiabilidad requerida, a través del estudio y el

³⁶CYTED. Ciencia y Tecnología para el Desarrollo. Agua Potable para comunidades rurales, reuso y tratamientos avanzados de aguas residuales domésticas. Capítulo 20: Indicadores de contaminación fecal de aguas. Madrid España. Primera edición. 2003. p. 225-227.

³⁷ WANJUGI, Pauline. SIVAGANESAN, Mano. Differential decomposition of bacterial and viral fecal indicators in common human pollution types. En: Water Research. 2016. Vol 105. p. 592-593.

³⁸ EJIGU, Fasil. TRYLAND, Ingun. Decay rate of virus and faecal indicator bacteria (FIB) in seawater and the concentration of FIBs in different wastewater systems. En: Microbial risk analysis. 2018. p. 7-8

³⁹ ISENBERG, H. Clinical Microbiology procedures Handbook. Vol 1. American Society for Microbiology. Washington D.C. 1992.

⁴⁰FORBES, Betty. Diagnóstico Microbiológico. Métodos y estrategias de laboratorio para las pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos. Editorial Médica Panamericana. Edición 12. 2007. Buenos Aires. p. 189.

⁴¹ ALONSO, Lina. POVEDA, Jeimy. Estudio comparativo de técnicas de recuento rápido en el mercado y placas PETRIFILM™ 3M™ para el análisis de alimentos. Pontificia Universidad Javeriana. 2008. p. 25-26.

⁴² PADILLA, José. Validación secundaria del método de recuento en placa en superficie de *Bacillus cereus* y *Staphylococcus aureus* en muestras de alimentos en un laboratorio de referencia. Pontificia Universidad Javeriana. 2007. p. 24.

aporte de evidencias objetivas. Siendo útil para analizar las características de desempeño y los requisitos para un uso específico previsto^{43 44 45}.

Se usa por lo general medidas estadísticas, que ayudan a establecer si el método se encuentra dentro de un parámetro admisible, casi siempre usando los cálculos de la media aritmética, desviación estándar y finalmente el coeficiente de variación.

- **Media aritmética:** Medida de tendencia central, muy usada en análisis estadísticos. Es muy susceptible en por valores extremos⁴⁶.

Ecuación 1. Media aritmética

$$X = \frac{\sum x_i}{n}$$

Donde:

x_i = valor de una lectura

n = número de lecturas

- **Desviación estándar (σ , S):** Indicador de la distribución de los datos frente a la media aritmética⁴⁷.

Ecuación 2. Desviación estándar

$$S = \frac{\sqrt{\sum_{i=1}^n (x_i - X)^2}}{n - 1}$$

Donde:

x_i = valor de una lectura

X = promedio de la totalidad de lecturas

n = número de lecturas

- **Coefficiente de Variación (CV):** Determina la homogeneidad o dispersión de la información, relacionando la desviación estándar con la media aritmética. Se expresa como un porcentaje⁴⁸.

⁴³ Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación. Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración. NTC-ISO/IEC 17025. 2 ed. Bogotá D.C.: El instituto, 2005. 17 p.

⁴⁴ Ministerio de Salud y Protección Social. Lineamientos técnicos para la estandarización y validación de métodos de ensayo. Dirección Redes en Salud Pública. Bogotá D.C. 2014. 7 p.

⁴⁵ The FEM Microbiology Action Team. Method validation of u.s. environmental protection agency (epa) microbiological methods of Analysis. The EPA Forum on Environmental Measurements (FEM). 2009. 1-1 p

⁴⁶ POSADA, Jaime. Elementos básicos de estadística descriptiva para el análisis de datos. Capítulo 7: Medidas de tendencia general. Ed. Luis Amigó. Medellín. 2016. p. 73-75

⁴⁷ Ibíd. p. 102

⁴⁸ Ibíd. p. 104.

Ecuación 3. Coeficiente de variación

$$\%CV = \frac{S}{X} * 100$$

Donde:

S = desviación estándar de las lecturas

X = promedio de la totalidad de lecturas

1.6.1 Parámetros analíticos para la validación. Son las propiedades, características o capacidades del método⁴⁹.

1.6.1.1 Precisión. La precisión en un método de validación mide el grado de coincidencia o de cercanía entre los resultados obtenidos de las pruebas individuales cuando el procedimiento se aplica repetidamente a varios muestreos. Comprende:

- **Repetibilidad:** es relacionada con el grado de concordancia entre los resultados independientes obtenidos con el mismo método, material de ensayo, en las mismas condiciones (mismo operador, mismo aparato, mismo laboratorio)
- **Reproducibilidad:** La reproducibilidad mide el mismo grado de concordancia de la repetibilidad, pero en condiciones diferentes (operadores diferentes, aparatos diferentes, diferentes laboratorios y / o después de diferentes intervalos de tiempo).

1.6.1.2 Robustez. este parámetro se basa en medir la capacidad de un método analítico para permanecer inalterado ante pequeñas pero deliberadas variaciones en ciertos parámetros, proporcionando una idea clara de su veracidad, fiabilidad o estabilidad durante su uso normal^{50 51 52}.

⁴⁹ Carrillo Elisa, Lozano Aura. Validación del método de detección de coliformes totales y fecales en agua potable utilizando agar Chiromocult. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá D.C. 2008. 17 p

⁵⁰Instituto de salud pública. Validación de métodos y determinación de la incertidumbre de la medición: "Aspectos generales sobre la validación de métodos". Santiago. 2010. 3-4 p

⁵¹ Ortiz Diana. Validación e implementación de una metodología para el análisis microbiológico de un producto líquido preservado elaborado en una industria farmacéutica. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá D.C. 2008. 25 p

⁵² Ordoñez María, Rojas Diana. Diseño y elaboración de una guía preliminar para la validación de métodos microbiológicos estándar. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá D.C. 2007. 17-18 p

2. DESARROLLO EXPERIMENTAL

El desarrollo experimental es el mismo usado en el proyecto “EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LA CONCENTRACIÓN DEL ÓXIDO DE COBRE (x) EN MEZCLAS CON DIÓXIDO DE TITANIO (TiO₂)^(1-x) (CuO)^(x) SOBRE LA ACTIVIDAD MICROBICIDA EN PRESENCIA DE LUZ VISIBLE” hecho por Miguel Chávez y Gabriel Vivas, puesto que se va a validar los resultados de este.

A continuación se describen los procesos usados.

2.1 ELABORACIÓN DE LA MEZCLA

2.1.1 Reactivos.

Tabla 1. Reactivos empleados para elaboración de la mezcla

Reactivo	Descripción
Dióxido de titanio (Hombitan lw-s)	Producido por Sachtleben. Estructura cristalina Antasa min. Sin tratamiento en la superficie.
Sulfato de cobre pentahidratado (ii)	Cristales de color azul, precursor del óxido de cobre ^{53 54}

2.1.2 Mezcla TiO₂/CuO_(x). Se prepara una solución de CuSO₄ de 0,5 M (ver Anexo B) para la elaboración de la mezcla por el método de impregnación húmeda descrito en la figura 4. Para obtener los porcentajes de 0.62%, 1.56% y 2.49% se agregan cantidades diferentes de la solución del precursor como se muestra en la tabla 2.

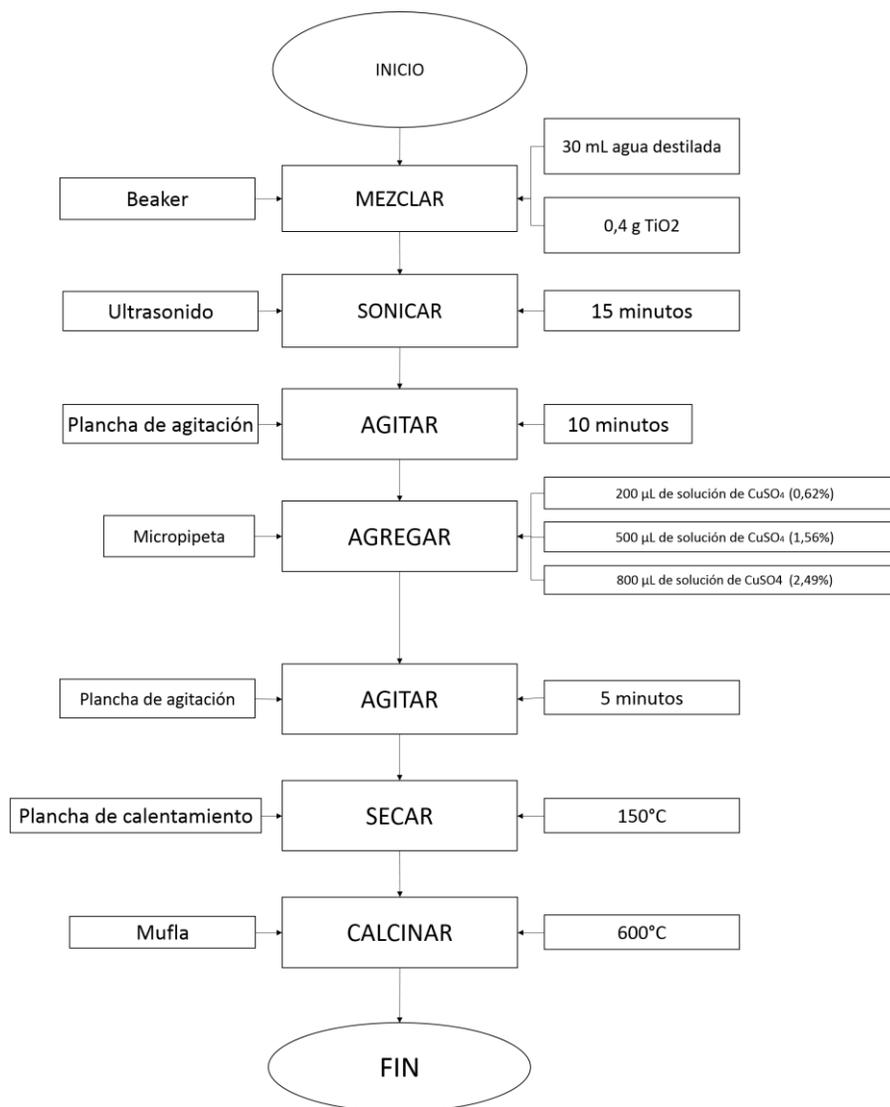
Tabla 2. Volumen requerido para los porcentajes de precursor en cada mezcla.

Porcentaje de precursor	Volumen (µL)
0.62%	200
1.56%	500
2.49%	800

⁵³ OPPAC S.A. Hoja de seguridad del Sulfato de Cobre. CE N° 1907/2006. versión 10. 2013

⁵⁴ PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA. Ficha de datos de seguridad. Sulfato de cobre pentahidratado (CuSO₄ · 5H₂O). [en línea]. Disponible en ([http://portales.puj.edu.co/doc-quimica/FDS-LabQca-DianaHermith/CuSO4%20\(5H2O\).pdf](http://portales.puj.edu.co/doc-quimica/FDS-LabQca-DianaHermith/CuSO4%20(5H2O).pdf))

Figura 4. Preparación y activación de la mezcla



2.2 PROTOCOLO DE LAVADO DE VIDRIOS

El protocolo para el lavado del sustrato se encuentra en el anexo A

2.3 SUSPENSIÓN DE LA MEZCLA

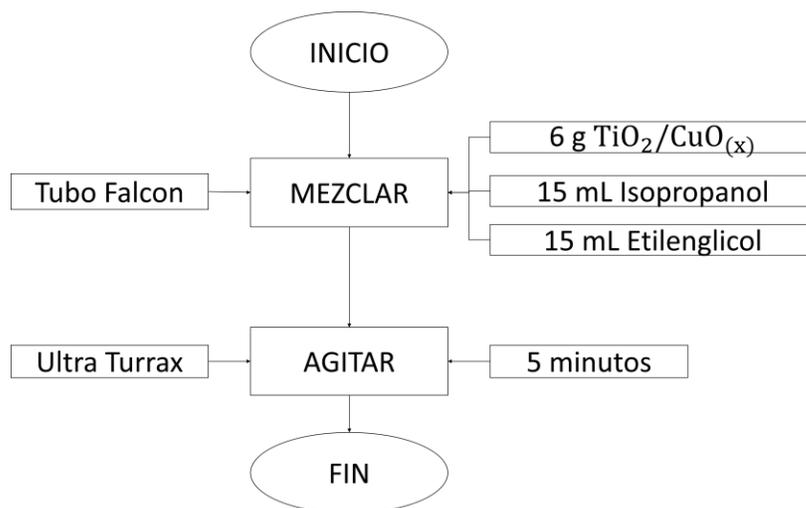
2.3.1 Reactivos.

Tabla 3. Reactivos empleados para la suspensión de la mezcla $\text{TiO}_2/\text{CuO}_{(x)}$

Reactivos	Descripción
Mezcla $\text{TiO}_2/\text{CuO}_{(x)}$	Obtenida en tres concentraciones diferentes a partir de diferentes porcentajes de sulfato de cobre (0,62%, 1,56%, 2,49%)
Etilenglicol	Permite una mayor porosidad, uniformidad y adhesión en las películas.
Isopropanol	Debido a su volatilidad impide la reducción de la actividad fotocatalítica en las películas.

2.3.2 Elaboración de la suspensión. Se adiciona a un tubo Falcon de 25 mL la mezcla $\text{TiO}_2/\text{CuO}_{(x)}$, etilenglicol e isopropanol. Se agita en un equipo llamado ULTRA TURRAX por 5 minutos. Se debe revisar luego de la agitación si el dióxido de titanio no precipita, si llegara a precipitar se debe agitar nuevamente. Lo anterior se muestra en la figura 5.

Figura 5. Proceso de elaboración de la suspensión

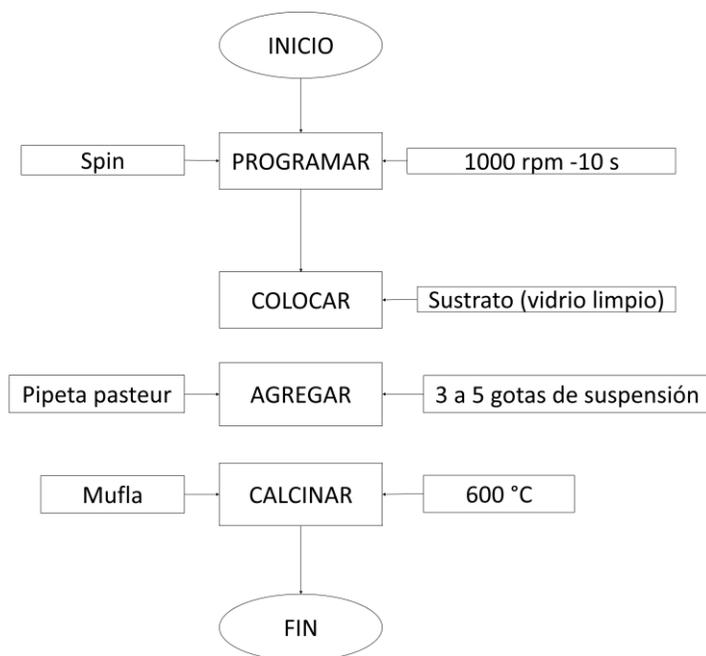


2.4 DEPOSICIÓN DE LA MEZCLA EN EL SUSTRATO

Se ajusta el spin coating a 1000 rpm por 10 segundos, se ajusta el sustrato (vidrio borosilicato) a la base del equipo, se deja caer de 3 a 5 gotas de la suspensión

sobre el vidrio hasta que lo cubra totalmente y se calcina a 600°C por una hora para adherir la suspensión al sustrato. La figura 6 ilustra este método.

Figura 6. Método de deposición de la mezcla sobre vidrio



2.5 FUNCIONALIDAD DE LAS PELÍCULAS

Mediante una prueba de espectrofotometría se evalúa la capacidad fotocatalítica en las películas elaboradas por medio de la degradación de azul de metileno⁵⁵. Para esto se irradia el colorante con leds UV de alta potencia en un reactor de ámbar dentro de una caja envuelta en aluminio para que haya mayor incidencia de la luz sobre el fotocatalizador. Se toman muestras en un intervalo de tiempo para ser llevadas a un espectrofotómetro y medir su absorbancia; a partir de esto se realiza una curva de degradación. También se probó con leds visibles en reactores de vidrio. Se observa en la tabla 4 el número de degradaciones por cada porcentaje de precursor.

⁵⁵ HOUAS, Ammar. Photocatalytic degradation pathway of methylene blue in water. En: Applied Catalysis B: Environmental. Vol 31, No 2. p. 145-150

Tabla 4. Número de degradaciones por porcentaje de precursor en las películas.

Porcentaje de precursor usado en las películas.	Número de degradaciones en luz UV	Número de degradaciones en luz visible
0.62%	2	2
1.56%	2	2
2.49%	2	2

2.5.1 Curva de calibración. Se realiza una curva de calibración con soluciones de azul de metileno de 1 a 10 partes por millón (ppm), para cada concentración se midió la absorbancia a una longitud de onda (λ) de 666nm, en un espectrofotómetro, dando como resultados los reportados en la tabla 3.

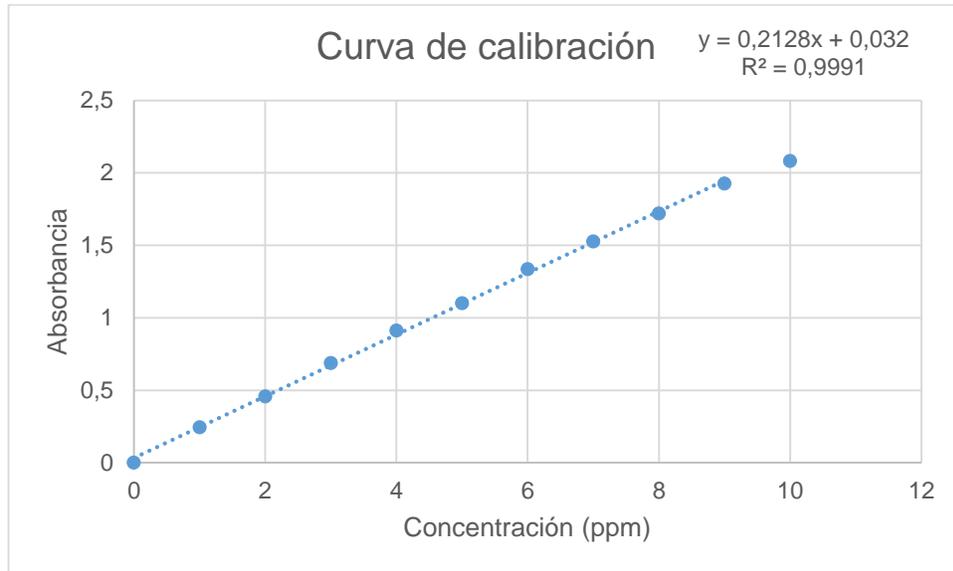
Tabla 5. Valores de la curva de calibración

Concentración (ppm)	Absorbancia
0	0
1	0,243
2	0,456
3	0,688
4	0,91
5	1,099
6	1,334
7	1,525
8	1,719
9	1,924
10	2,08

Al obtener la gráfica 1 se observa un comportamiento lineal que es consecuente con la ley de Lamber-Beer⁵⁶. Se evidencia una desviación del comportamiento lineal en la concentración de 10 ppm por lo que se omite este valor en la línea de tendencia.

⁵⁶ GOBRECHT, Alexia. Combining linear polarization spectroscopy and the Representative Layer Theory to measure the Beer–Lambert law absorbance of highly scattering materials. En: Analytica Chimica. vol. 853, p. 487

Gráfica 1. Curva de calibración para azul de metileno.



Ecuación 4. Concentración de azul de metileno

$$x = \frac{y - 0,032}{0,2128}$$

2.6 PROTOCOLO MICROBIOLÓGICO

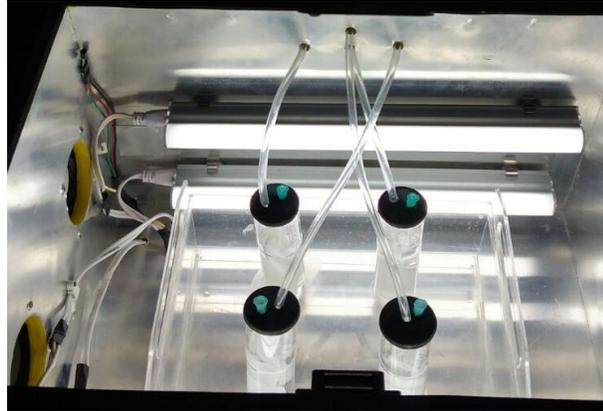
2.6.1 Activación de la cepa. Al comprobar la funcionalidad de las películas se procede a la evaluación microbiológica empleando la bacteria *E. coli* que estaba en crioconservación a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Para activarla es necesario colocarla en un caldo de cultivo BHI a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ además de agitar el medio a 150 rpm. Se deja en la incubadora de 24 a 48 horas, posteriormente se cultiva en una caja Petri.

2.6.2 Patrón de Mc Farland. Cuando la cepa se encuentra activa se procede a tomar una muestra de la bacteria y se adiciona a un tubo de ensayo con 4,5mL de solución salina 0,85% P/V, luego se iguala a un patrón Mc Farland de 0,5 el cual reporta $1,5 \times 10^8$ UFC. Se usa solución salina para mantener las condiciones isotónicas evitando que se difunda agua a la célula, se hinche y explote. Se preparan 4 inóculos para hacer la fotorreacción.

2.6.3 Fotorreacción. Se lleva a cabo en 4 fotorreactores con capacidad de 50 mL, se depositan las películas con la mezcla modificada dentro del fotorreactor se adiciona 45,5 mL de solución salina, se ajusta la aireación del medio y luego se agrega el inóculo (4,5 mL). La reacción tiene una duración de 9 horas, tomando una muestra de 1mL cada hora con la aireación apagada, luego de la toma se vuelve a encender. Como el biorreactor puede ser controlado por medio del software

LabVIEW permite un monitoreo de la radiación (luz), aireación, temperatura por medio de sensores LM35, se aprecia el biorreactor en la figura 7 y la metodología anteriormente descrita en la figura 8.

Figura 7. Biorreactor en funcionamiento.



2.6.4 Recuento en placa. A las muestras tomadas cada hora se le hacen diluciones de 10^{-1} hasta 10^{-6} por duplicado. Se toma 0,5 mL de la muestra y se lleva a 4,5 mL de solución salina en tubos estériles sin afectar la concentración del microorganismo. Para el conteo se emplea el método de recuento en placa con dos tipos de agar, agar nutritivo y tripticasa soya. En cada caja se siembra 0,1 mL de muestra diluida, esto se puede observar en la figura 9. Se lleva a incubación de 24 a 48 horas a 37°C , luego de ese tiempo se procede a leer cada caja, donde hayan aproximadamente 30 a 300 UFC para evitar errores de conteo por falta o exceso de colonias⁵⁷. Lo anterior se muestra en la figura 10.

⁵⁷ ROJAS TRIVIÑO, Alberto. Conceptos y prácticas de microbiología general. Universidad Nacional de Colombia. Sede Palmira. 2011. p 44

Figura 8. Metodología para la inactivación de *E. coli*.

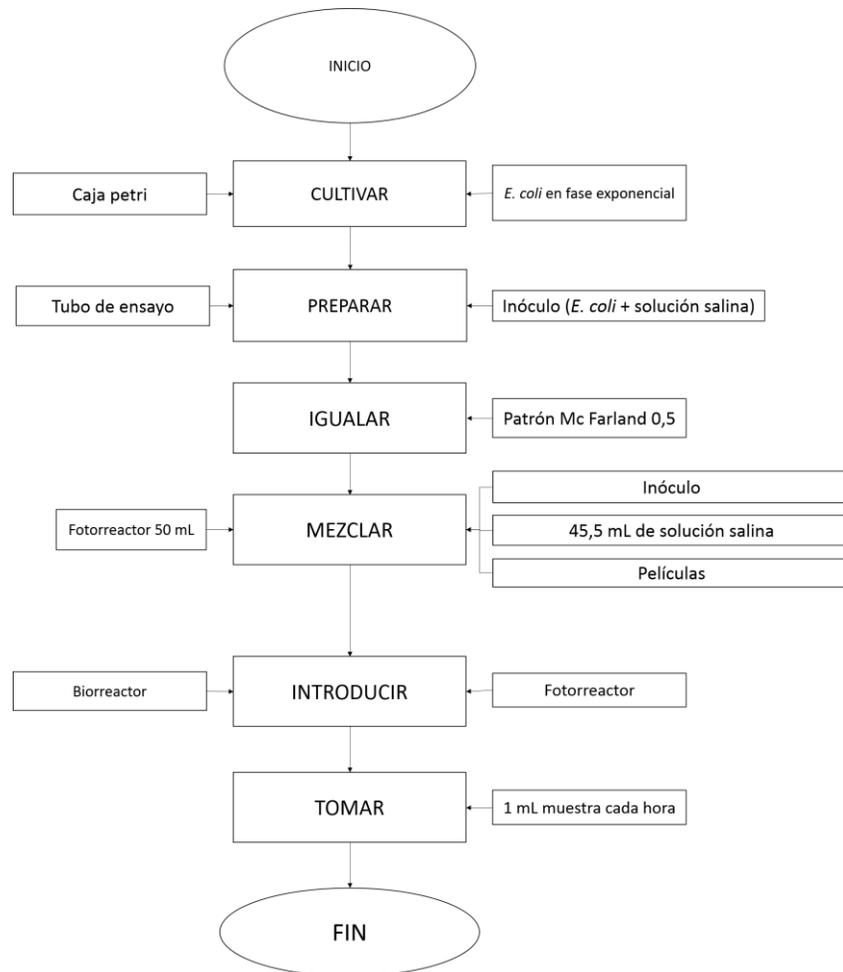
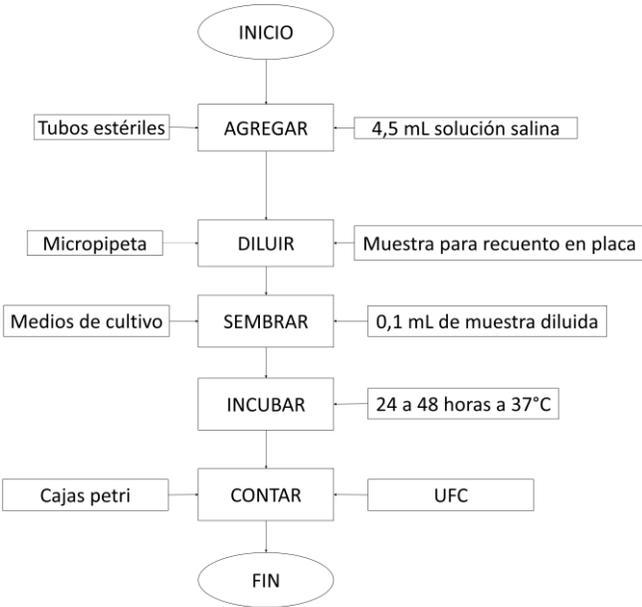


Figura 9. Ejecución de cada analista.



Figura 10. Método de recuento en placa



2.6.5 Validación del método. Para validar solo una de las mezclas se ve la necesidad de adquirir 124 cajas Petri con agar nutritivo y 124 cajas Petri con agar tripticasa soya, esto hace que el estudio se vuelva extenso y costoso; además como mínimo las dos réplicas por analista para cada tipo de medio de cultivo. Así que se decidió aplicar ese análisis para la mezcla con 2,49% de precursor, el cual presentó los mejores resultados según el trabajo de grado realizado en el grupo materiales Fotoactivos titulado; “EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LA CONCENTRACIÓN DEL ÓXIDO DE COBRE (x) EN MEZCLAS CON DIÓXIDO DE TITANIO $(\text{TiO}_2)_{(1-x)}(\text{CuO})_{(x)}$ SOBRE LA ACTIVIDAD MICROBICIDA EN PRESENCIA DE LUZ VISIBLE”.

Al tener el número de colonias en cada medio de cultivo (tripticasa soya y agar nutritivo) se procede a calcular el número de unidades formadoras de colonia por medio de la ecuación 5. Luego de esto se promedia las UFC de cada réplica por cada hora. Seguido se vuelve a hacer un promedio pero en este caso es respecto a la réplica 1 y 2. Con este promedio se calcula la desviación estándar y luego el coeficiente de variación de cada hora. Como cada analista tiene dos medios de cultivo, implica que deberá hacer los cálculos dos veces y con esto comprobar si el método empleado en el proyecto de Miguel Chávez y Gabriel Vivas es repetible, reproducible y robusto.

Ecuación 5. Valor real de UFC.

$$\text{Número real de UFC} = (\text{UFC} * (\text{dilución})^{-1}) / \text{volúmen de muestra}$$

3. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

3.1 COMPORTAMIENTO DE LA SUSPENSIÓN

3.1.1 Impregnación húmeda. Se presentaron pérdidas de las mezclas en la fase de secado y calcinación, por lo tanto fue necesario repetir 16 veces el método por cada porcentaje de precursor para obtener la cantidad suficiente para la suspensión⁵⁸.

3.1.2 Lavado de vidrio. El protocolo de lavado de vidrio no removió parte de las impurezas que tiene el sustrato. Por consiguiente que es necesario el uso de un reactivo con la capacidad de oxidar los residuos que son insolubles como lo es la solución sulfocrómica.

3.1.3 Suspensión de la mezcla TiO₂/CuO. Se realizó una primera suspensión a una velocidad de agitación de 3000 rpm por un periodo de 5 minutos; sin embargo después de una semana se presentó un precipitado por lo que fue necesario repetir la suspensión. En la segunda suspensión se adicionó 15mL de etilenglicol porque la primera suspensión no se fijó de manera adecuada al sustrato, cambiando en este punto la metodología propuesta en el proyecto de Miguel Chávez y Gabriel Vivas, se agitó a una velocidad de 9000 rpm por el mismo periodo que la primera, logrando que no precipitara la mezcla.

3.1.4 Deposición de la mezcla. Se depositó la primera suspensión y se comprobó que algunos vidrios no estaban completamente limpios impidiendo que la adherencia al sustrato fuera efectiva como se muestra en la figura 11.

Figura 11. Deposición de la mezcla sobre el sustrato



Las películas de 3000 rpm en la concentración de 0,62% presentan mayor uniformidad con respecto a las otras dos concentraciones, y las concentraciones 2,49 % y 1,56% son más porosas y presentan una adhesión menor respecto a la de

⁵⁸ BOLAÑOS David, PACHECO Nicolás. Evaluación del efecto de la temperatura de calcinación sobre mezcla TiO₂/CuO_x para la inactivación fotocatalítica de *E.coli* en presencia de luz visible. Universidad América. Bogotá D.C. 2014. p. 45

0,62%. Esto se debe a la precipitación de la suspensión, causando la pérdida de homogeneidad en las películas.

Con las suspensiones realizadas a 9000 rpm hay una mejor fijación en el sustrato, en consecuencia a la no precipitación de la mezcla.

3.1.5 Calcinación de las películas. La suspensión realizada a 3000 rpm se calcino a una temperatura de 600°C y un tiempo de 1 hora; sin embargo al hacer la prueba de funcionalidad se presenta un desprendimiento de la mezcla depositada; así que es necesario volver a calcinar esas películas a 700°C por otra media hora. Se modifica el método usado por Miguel Chávez y Gabriel Vivas.

Para las películas elaboradas con la segunda suspensión se empleó una temperatura de 600°C por un periodo de 2 horas. No precipita la mezcla al hacer la prueba de funcionalidad sobre estas películas.

3.2 COMPORTAMIENTO DE LAS PELÍCULAS

3.2.1 Caracterización estructural por difracción de rayos X (DRX). Por medio de los picos característicos del dióxido de titanio y el óxido de cobre fue posible compararlos con los de la mezcla.

Las pruebas se realizaron con barridos que van desde $2\theta = 20$ hasta $2\theta = 65$, para su identificación presentan un espectro experimental (línea azul) y un espectro respecto a la base de datos en el que se muestra la anatasa (línea roja) y el rutilo (línea negra)^{59 60}.

Los difractogramas que comprenden la figura 12, figura 13 corresponden a las películas de concentración de 2,49% de precursor calcinadas a 700°C y 600°C respectivamente, mostrando una pequeña variación respecto a la fase rutilo; así que la temperatura de calcinación no influyó en el cambio de estructura cristalina del dióxido de titanio. La figura 14 y figura 15 ilustra que la fase predominante de la mezcla es la anatasa, seguida del rutilo en un porcentaje muy mínimo en las mezclas de 1,56% y 0,62% de precursor, entre ellas no se observa diferencia aparente puesto que en todas se usó la misma cantidad de dióxido de titanio; gracias a su gran contenido de la fase anatasa la película deberá trabajar en luz visible⁶¹. Sin embargo por la cercanía de los picos del óxido de cobre (II) y el rutilo

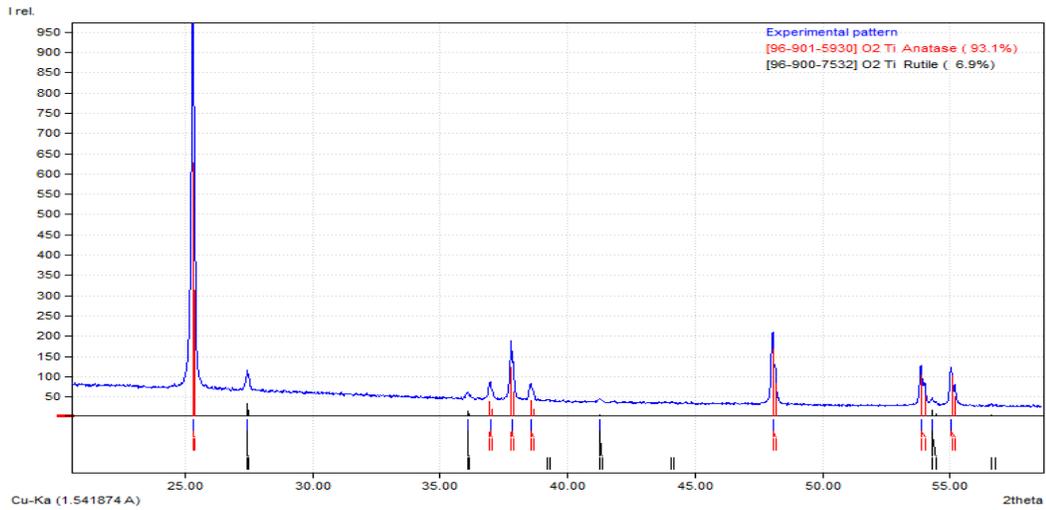
⁵⁹MACIAS, Leonardo. GARCIA, María. Cuantificación de fases en óxidos de titanio por medio de difracción de rayos X. En: memorias del Congreso Técnico Científico ININ-SUTIN. p. 27

⁶⁰RIOS, G. GIANNINI, D. Estudio morfológico y estructural de nanopartículas de CuO empleando técnicas de dispersión de rayos X. En: Revista de la sociedad química del Perú. 2015. Vol. 81. p. 261.

⁶¹CORREA Juan, AGUIRRE Cristian. Obtención, caracterización y actividad fotocatalítica del óxido de titanio dopado con nitrógeno a partir de urea y nitrato de amonio para su utilización en la región

es probable un solapamiento que impide identificar el óxido de cobre en la mezcla, lo que sugiere que esta caracterización no es suficiente para identificar todas las fases cristalinas⁶².

Figura 12. Difractograma de la película 2,49% de precursor calcinada a 700°C



del visible del espectro electromagnético. Universidad tecnológica de Pereira. Facultad de tecnologías, química industrial. Pereira. 2014. p 32

⁶² Ibid. p. 60

Figura 13. Difractograma de la película 2,49% de precursor calcinada a 600°C

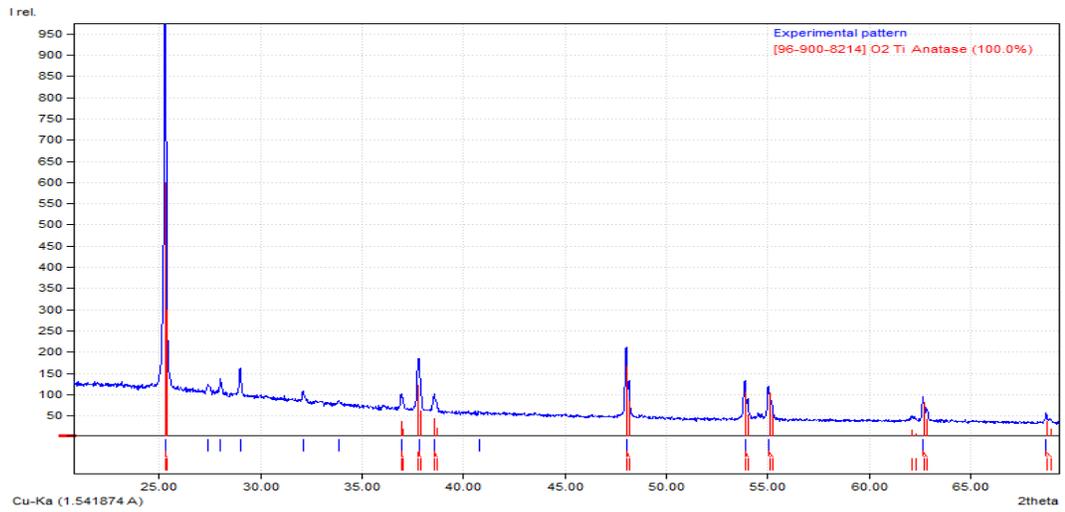


Figura 14. Difractograma de la película 1,56% de precursor calcinada a 700°C

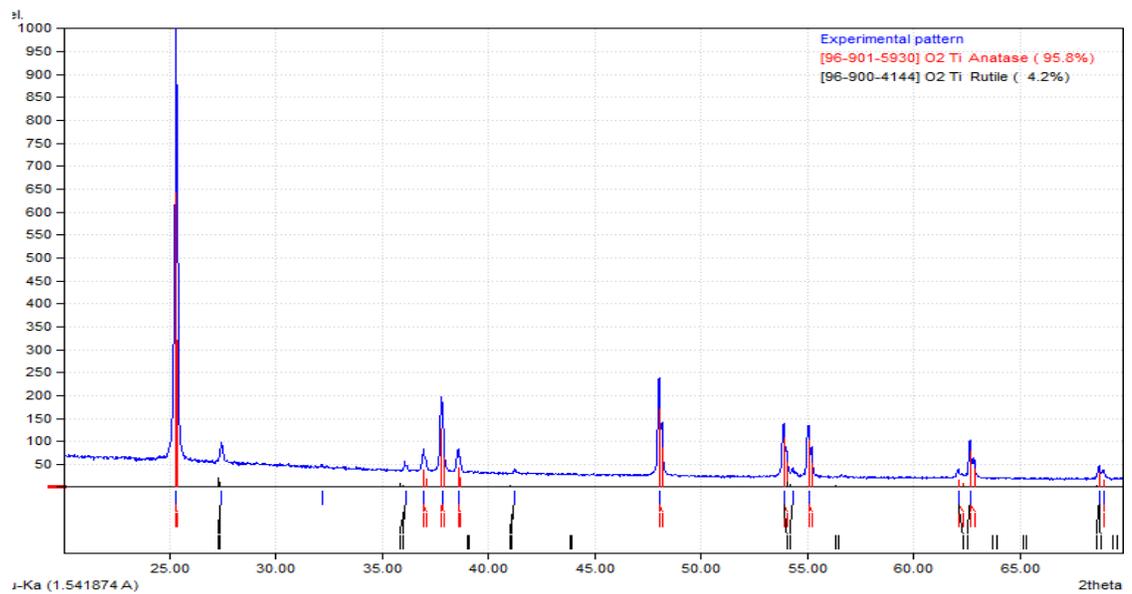
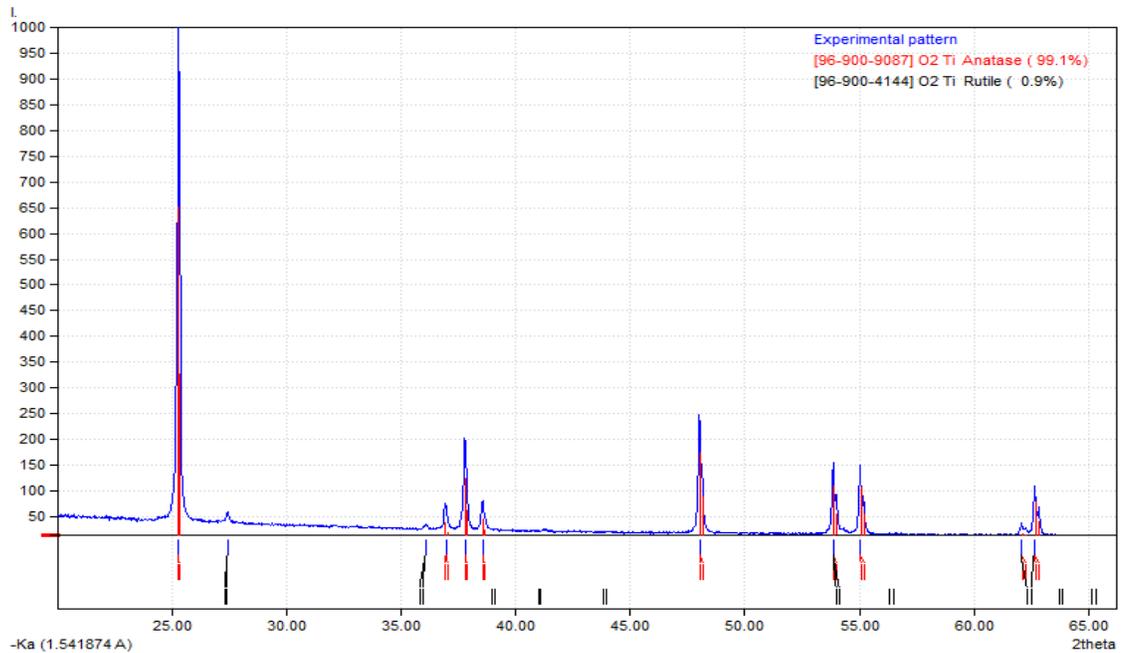


Figura 15. Difractograma de la película 0,62% de precursor calcinada a 700°C



3.2.2 Caracterización morfológica por microscopía electrónica de barrido (SEM). Se realizó la caracterización morfológica de 4 películas a 10 μm y 1 μm . Una de 0,62%, 1,56% y 2,49% todas con una velocidad de agitación en la suspensión de 3000rpm y una de 2,49 a 9000 rpm. Como se muestra en la figura 16, figura 17 y figura 18 hay aglomeraciones de dióxido de titanio (pequeñas bolas) y los cristales de óxido de cobre (formas amorfas y de gran tamaño).

En la figura 19 no se observa los cristales de óxido de cobre, así que es probable que en esta película el óxido de cobre formara una capa muy delgada que no se lee en el microscopio electrónico de barrido.

Figura 16. SEM de la película de 0.62%

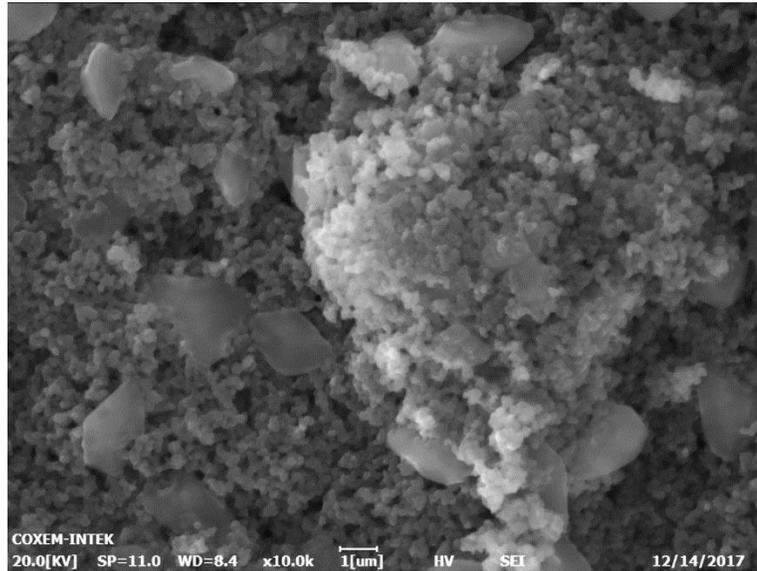


Figura 17. SEM de la película de 1.56%

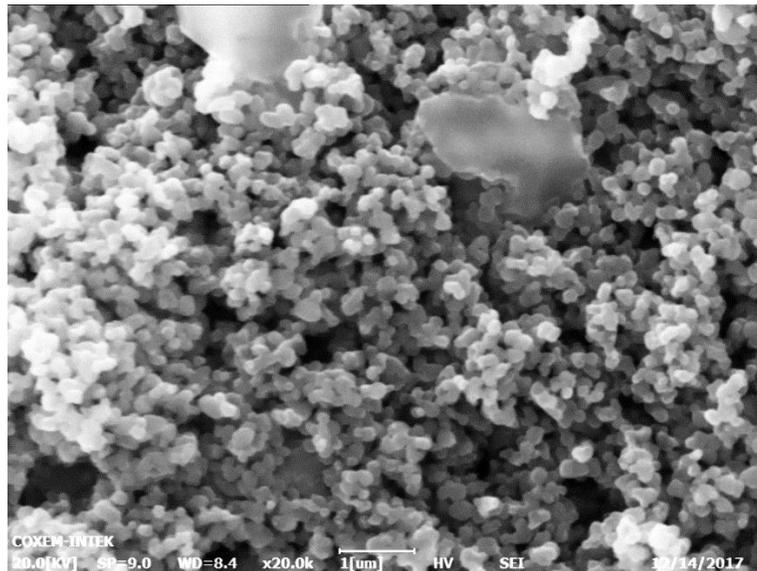


Figura 18. SEM de la película de 2.49%

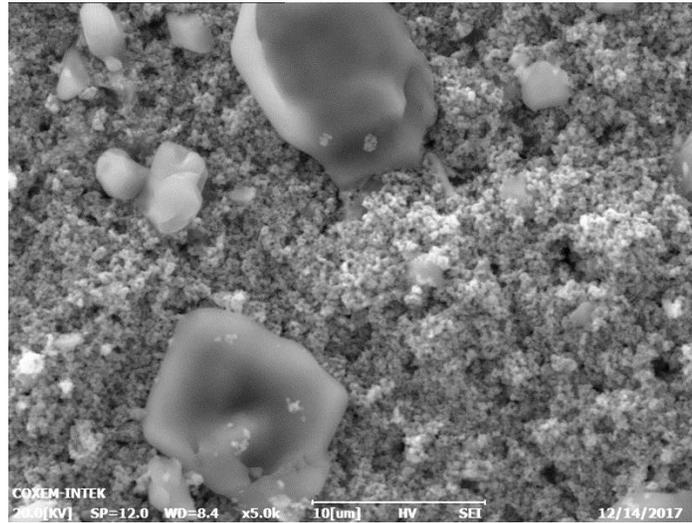
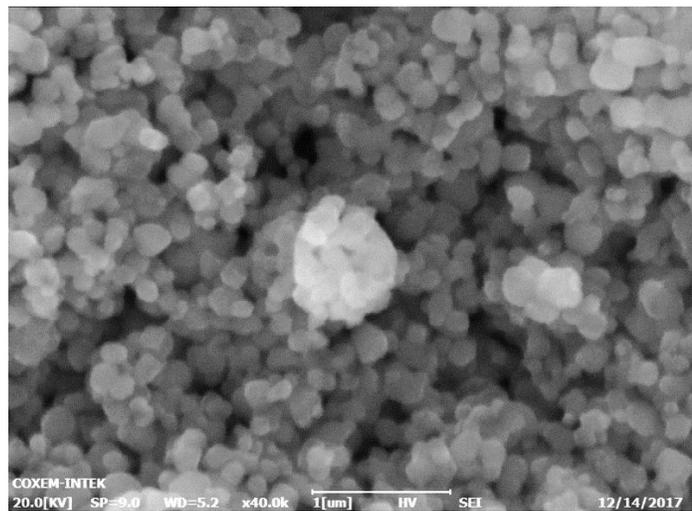


Figura 19. SEM de la película de 2.49% a 9000 rpm



3.3 ADECUACIÓN DEL FOTORREACTOR

Las características necesarias del fotorreactor para la inactivación de *E. coli* son: el control de la temperatura, el funcionamiento adecuado de los leds, la oxigenación del medio, tubos con capacidad de 50mL, la completa hermeticidad de los tubos a la hora de la fotorreacción.

Esas condiciones ya las cumple el fotorreactor del grupo Materiales Fotoactivos, además de que las variables se monitorean y controlan gracias a un software (LabVIEW); sin embargo eran necesarias algunas adecuaciones estructurales. Se

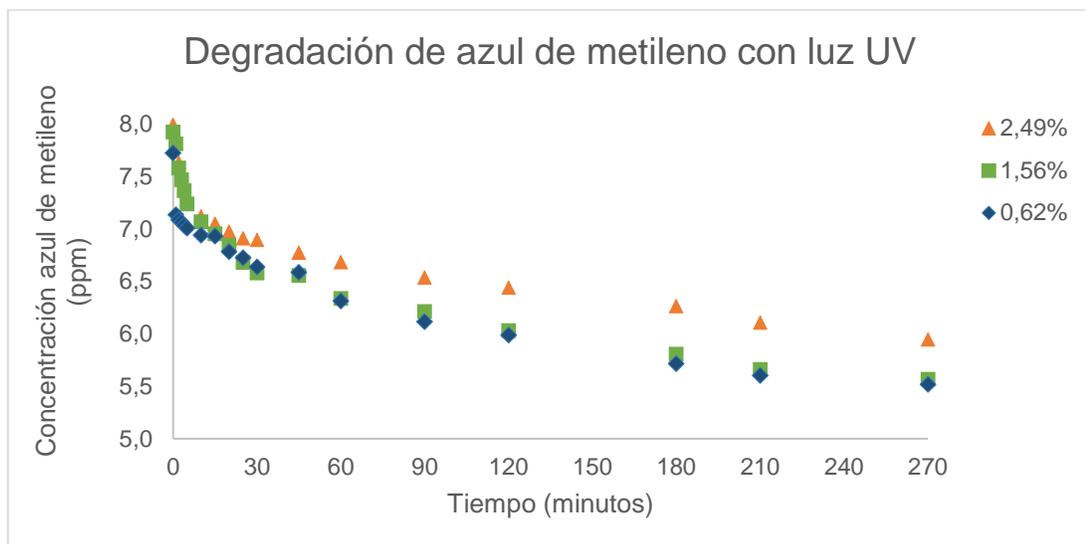
llevó a cabo la instalación de nuevas bisagras; las anteriores dejaban que la tapa abriera más de 180° lo que ocasionó el desajuste de las mismas. Se colocó un picaporte para facilitar la apertura de la tapa, puesto que esta cierra herméticamente gracias a un imán. Los planos del reactor se encuentran en el anexo E.

3.4 INACTIVACIÓN DE *E. coli*

3.4.1 Prueba de funcionalidad de las películas con azul de metileno. Se realizaron pruebas con las películas elaboradas con la mezcla $\text{TiO}_2/\text{CuO}_{(x)}$ con las tres concentraciones (0,62% - 1,56% y 2,49%). Se realizó la degradación con azul de metileno, tomando muestra y leyendo la absorbancia en el espectrofotómetro los 5 primeros minutos cada minuto, luego cada 5 minutos hasta los 30 minutos, seguido de cada 15 minutos hasta los 60 minutos, después cada 30 minutos hasta las dos horas y por último cada hora hasta las 4 horas y 30 minutos.

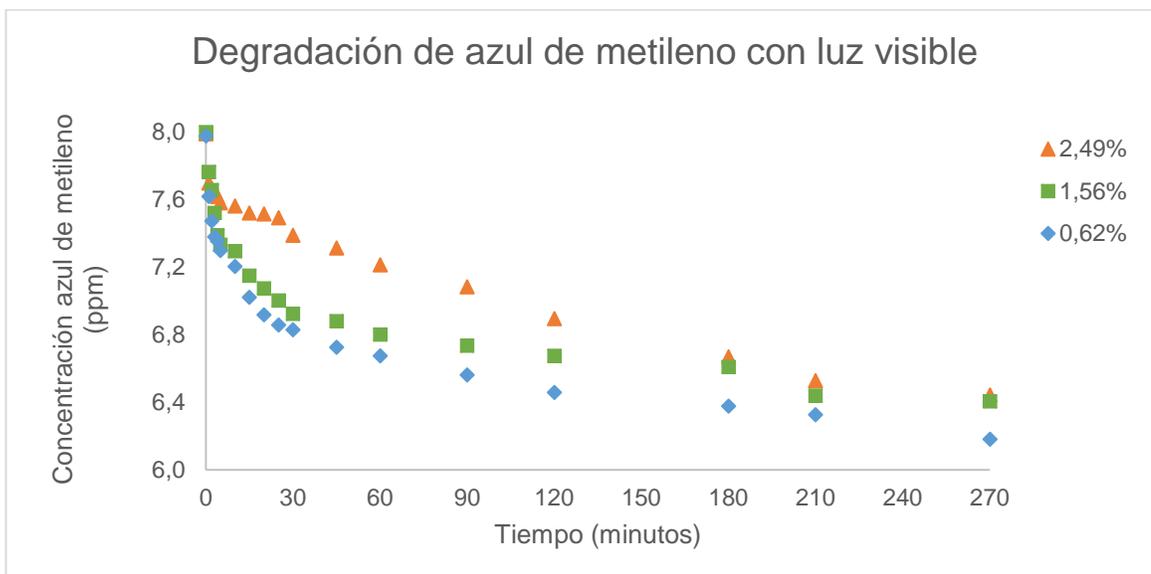
En la gráfica 2 se puede ver la funcionalidad fotocatalítica de las películas de 2,49%, 1,56% y 0,62% al disminuir la concentración de azul de metileno; sin embargo la película con mejor actividad fotocatalítica para degradar azul de metileno es la que contiene menor concentración del precursor.

Gráfica 2. Degradación de azul de metileno con luz ultravioleta.



La gráfica 3 muestra los resultados de la degradación de azul de metileno en luz visible. Es notorio el hecho que la concentración no disminuye tanto como con luz UV como consecuencia que la energía que proporciona la irradiación UV es mucho mayor que la visible y logra generar más portadores de carga en menor tiempo. Se mantiene que la mejor película para degradar azul de metileno es la que está modificada con una cantidad de precursor menor.

Gráfica 3. Degradación de azul de metileno con luz visible.



3.4.2 Resultados solución de prueba.

Solución de prueba: solución salina + *E. coli*

Analista 1: Paula Melissa Bohórquez Moreno

Analista 2: María Camila Gamboa Borrego

Se muestra en las tablas 6 y 7 las unidades formadoras de colonia de las diluciones escogidas para los dos medios de cultivo por analista en cada intervalo de tiempo. En las tablas 8 y 9 está el promedio de los datos de las diluciones de cada réplica en los dos agares. Las tablas 10 y 11 reportan el promedio entre la réplica 1 y la 2, la desviación estándar y el coeficiente de variación. Se observa que los porcentajes del coeficiente de variación superan el 35% lo que indica que los datos no son homogéneos, por lo tanto se comprueba estadísticamente que el método no es reproducible ni repetible.

Tabla 6. Unidades formadoras de colonia en cada hora y en distinto medio de cultivo para el analista 1.

Analista 1				
Hora	Tripticasa Soya		Agar Nutritivo	
	Réplicas		Réplicas	
	1	2	1	2
0	1,00E+07	2,00E+07	5,00E+07	4,00E+07
	1,50E+07	2,20E+07	2,80E+07	1,10E+07
	1,02E+07	1,18E+07	2,14E+07	1,46E+07
1	9,00E+06	2,00E+07	4,00E+06	1,60E+07
	2,30E+06	9,50E+06	1,90E+06	5,40E+06
	1,45E+06	1,28E+06	5,00E+05	1,09E+06
2	1,00E+06	8,00E+06	2,00E+06	1,10E+07
	2,00E+06	7,00E+06	1,30E+06	4,50E+06
	1,19E+06	1,08E+06	6,80E+05	1,35E+06
3	1,60E+07	1,00E+06	3,00E+06	2,00E+07
	8,00E+06	9,00E+05	1,50E+06	4,80E+06
	1,03E+06	9,90E+05	5,30E+05	1,22E+06
4	5,00E+06	2,40E+07	1,00E+06	1,50E+07
	5,10E+06	9,40E+06	1,00E+06	9,80E+06
	1,05E+06	1,12E+06	7,20E+05	1,17E+06
5	2,30E+06	1,18E+07	1,10E+06	6,20E+06
	8,70E+05	9,80E+05	6,40E+05	9,50E+05
	1,50E+06	1,45E+07	3,00E+05	7,00E+05
6	7,90E+05	1,16E+06	3,90E+05	5,80E+05
	6,30E+05	8,10E+05	3,40E+05	4,90E+05
	9,30E+04	2,10E+05	6,20E+04	1,04E+05
7	7,90E+05	1,05E+06	4,20E+05	7,00E+05
	1,19E+05	1,98E+05	5,50E+04	9,80E+04
	9,50E+04	1,34E+05	3,90E+04	8,60E+04
9	2,52E+04	2,15E+04	2,56E+04	1,34E+04

Tabla 7. Unidades formadoras de colonia en cada hora y en distinto medio de cultivo para el analista 2.

Analista 2				
Hora	Tripticasa Soya		Agar Nutritivo	
	Réplicas		Réplicas	
	1	2	1	2
0	5,00E+07	7,00E+07	4,00E+07	2,00E+07
	4,50E+07	6,30E+07	1,50E+07	1,10E+07
	2,23E+07	2,78E+07	1,15E+07	8,50E+06
1	4,00E+06	2,30E+07	6,00E+06	3,40E+07
	1,90E+06	8,40E+06	3,40E+06	6,80E+06
	1,88E+06	1,67E+06	4,20E+05	1,54E+06
2	2,00E+06	2,10E+07	2,00E+06	2,70E+07
	1,40E+06	9,60E+06	2,80E+06	8,40E+06
	2,10E+06	1,94E+06	5,60E+05	1,07E+06
3	4,00E+06	1,50E+07	1,00E+06	1,10E+07
	1,10E+06	8,50E+06	1,70E+06	5,60E+06
	1,38E+06	2,04E+06	6,30E+05	9,80E+05
4	1,00E+06	1,60E+07	5,00E+06	2,00E+06
	2,00E+06	9,00E+06	1,20E+06	1,10E+06
	1,36E+06	1,88E+06	2,20E+05	2,30E+05
5	4,60E+06	1,45E+07	2,60E+06	3,00E+06
	1,04E+06	1,97E+06	4,50E+05	3,40E+05
6	6,00E+05	4,80E+06	9,00E+05	4,30E+06
	7,50E+05	1,29E+06	1,60E+05	8,70E+05
7	2,40E+05	9,10E+05	1,20E+05	3,90E+05
	4,30E+04	2,25E+05	6,00E+04	9,80E+04
8	3,10E+05	8,50E+05	3,40E+05	9,50E+05
	5,00E+04	1,92E+05	2,50E+04	1,03E+05
9	4,80E+04	1,63E+05	2,80E+04	8,50E+04
	2,19E+04	2,54E+04	1,14E+04	1,07E+04

Tabla 8. Promedio de las UFC en cada réplica en los dos medios de cultivo para el analista 1.

Analista 1				
Hora	Tripticasa Soya		Agar Nutritivo	
	Réplicas		Réplicas	
	1	2	1	2
0	1,17E+07	1,79E+07	3,31E+07	2,19E+07
1	4,25E+06	1,03E+07	2,13E+06	7,50E+06
2	1,40E+06	5,36E+06	1,33E+06	5,62E+06
3	8,34E+06	9,63E+05	1,68E+06	8,67E+06
4	3,72E+06	1,15E+07	9,07E+05	8,66E+06
5	1,59E+06	6,39E+06	8,70E+05	3,58E+06
6	1,15E+06	7,83E+06	3,45E+05	6,40E+05
7	3,62E+05	5,10E+05	2,01E+05	2,97E+05
8	4,55E+05	1,66E+05	2,38E+05	9,20E+04
9	6,01E+04	7,78E+04	3,23E+04	4,97E+04

Tabla 9. Promedio de las UFC en cada réplica en los dos medios de cultivo para el analista 2.

Analista 2				
Hora	Tripticasa Soya		Agar Nutritivo	
	Réplicas		Réplicas	
	1	2	1	2
0	3,91E+07	5,36E+07	2,22E+07	1,32E+07
1	2,59E+06	1,10E+07	3,27E+06	1,41E+07
2	1,83E+06	1,08E+07	1,79E+06	1,22E+07
3	2,16E+06	8,51E+06	1,11E+06	5,86E+06
4	1,45E+06	8,96E+06	2,14E+06	1,11E+06
5	2,82E+06	8,24E+06	1,53E+06	1,67E+06
6	6,75E+05	3,05E+06	5,30E+05	2,59E+06
7	1,42E+05	5,68E+05	9,00E+04	2,44E+05
8	1,80E+05	1,78E+05	1,83E+05	9,40E+04
9	3,50E+04	9,42E+04	1,97E+04	4,79E+04

Tabla 10. Datos estadísticos para las pruebas realizadas por el analista 1.

Analista 1						
Hora	Trypticase Soya			Agar Nutritivo		
	Media de réplicas 1 y 2	S	%CV	Media de réplicas 1 y 2	S	%CV
0	1,48E+07	4,38E+06	29,56%	2,75E+07	7,97E+06	28,97%
1	7,26E+06	4,25E+06	58,58%	4,82E+06	3,79E+06	78,76%
2	3,38E+06	2,80E+06	82,96%	3,47E+06	3,03E+06	87,38%
3	4,65E+06	5,22E+06	112,14%	5,18E+06	4,95E+06	95,60%
4	7,61E+06	5,51E+06	72,37%	4,78E+06	5,48E+06	114,61%
5	3,99E+06	3,40E+06	85,21%	2,22E+06	1,91E+06	86,06%
6	4,49E+06	4,73E+06	105,34%	4,93E+05	2,09E+05	42,35%
7	4,36E+05	1,05E+05	24,10%	2,49E+05	6,79E+04	27,26%
8	3,10E+05	2,04E+05	65,75%	1,65E+05	1,03E+05	62,45%
9	6,89E+04	1,25E+04	18,11%	4,10E+04	1,23E+04	30,01%

Tabla 11. Datos estadísticos para las pruebas realizadas por el analista 2.

Analista 1						
Hora	Trypticase Soya			Agar Nutritivo		
	Media de réplicas 1 y 2	S	%CV	Media de réplicas 1 y 2	S	%CV
0	4,64E+07	1,03E+07	22,12%	1,77E+07	6,36E+06	36,02%
1	6,81E+06	5,96E+06	87,55%	8,69E+06	7,67E+06	88,17%
2	6,34E+06	6,37E+06	100,53%	6,97E+06	7,33E+06	105,18%
3	5,34E+06	4,49E+06	84,18%	3,49E+06	3,36E+06	96,38%
4	5,21E+06	5,31E+06	101,95%	1,63E+06	7,28E+05	44,82%
5	5,53E+06	3,83E+06	69,27%	1,60E+06	1,03E+05	6,42%
6	1,86E+06	1,68E+06	90,10%	1,56E+06	1,45E+06	93,30%
7	3,55E+05	3,01E+05	84,97%	1,67E+05	1,09E+05	65,21%
8	1,79E+05	1,77E+03	0,99%	1,38E+05	6,26E+04	45,27%
9	6,46E+04	4,19E+04	64,88%	3,38E+04	1,99E+04	58,93%

En el anexo F se encuentra el reporte de la incertidumbre de la micropipeta usada para las diluciones y para la siembra; la tabla 12 reporta en coeficiente de variación la imprecisión estimada para estas medidas. Entre más diluida esté la concentración de las bacterias más imprecisión se acumula, puesto que son diluciones seriadas.

Al mismo tiempo si se siembra las concentraciones más diluidas se obtendrá una imprecisión mayor.

Tabla 12. Imprecisión estimada reportada en %CV

Imprecisión por diluciones y siembra						
	10⁻¹	10⁻²	10⁻³	10⁻⁴	10⁻⁵	10⁻⁶
Imprecisión por dilución	0,40%	0,80%	1,20%	1,60%	2,00%	2,40%
Imprecisión por siembra	0,08%	0,16%	0,24%	0,32%	0,40%	0,48%
Total	0,48%	0,96%	1,44%	1,92%	2,40%	2,88%

Los porcentajes de eficiencia de las películas se muestran en la tabla 13 y 14, consistente con la poca disminución de la carga microbiana en la hora 9.

Tabla 13. Porcentaje de eficiencia de las películas para las pruebas del analista 1.

Porcentaje de eficiencia Analista 1			
Tripticosa Soya		Agar Nutritivo	
Réplica		Réplica	
1	2	1	2
32%	33%	40%	36%

Tabla 14. Porcentaje de eficiencia de las películas para las pruebas del analista 2.

Porcentaje de eficiencia Analista 2			
Tripticosa Soya		Agar Nutritivo	
Réplica		Réplica	
1	2	1	2
40%	36%	42%	34%

La variable elegida para medir la robustez fue el cambio de medio de cultivo para la siembra, sin embargo no se puede analizar ese parámetro debido a que el método falla antes de la siembra, por consiguiente el método no es robusto; aunque ninguno de los medios de cultivo influye con el crecimiento de la bacteria así que se puede usar cualquiera.

Las razones por las que el método no pudo funcionar se exponen a continuación.

Envenenamiento del catalizador. Hay dos razones por las que se puede generar esto. La primera, cuando se descompone el sulfato de cobre pentahidratado se produce óxido de cobre (II) pero también se produce dióxido de azufre, este último compuesto se posa en los sitios activos del catalizador e impide que se lleve a cabo la reacción, inactiva catalizadores que tengan dióxido de titanio^{63 64}.

La segunda razón es por contaminación de agentes externos, la preparación de este catalizador es muy sensible y cualquier agente externo que sea afín con los sitios activos inactivará parte del catalizador. Por eso es necesario la trazabilidad de los reactivos y la certeza que los equipos usados estén en condiciones perfectas para el uso.

Modificación de la estructura cristalina. La concentración de sulfato de cobre también ayuda a la modificación cristalina del dióxido de titanio, a una concentración mayor a 1,3% de este precursor, parte de la fase anatasa se convierte en rutilo⁶⁵.

Hidratación del dióxido de titanio. El TiO_2 pierde su efectividad con el tiempo, debido a la presencia de mayor cantidad de producto hidratado, lo que evita que los fotones de luz se activen⁶⁶.

Valor del pH en el medio donde se hace la inactivación. A un pH mayor de 6,5 cambia el punto isoeléctrico de la película lo que disminuye la actividad fotocatalítica⁶⁷

⁶³ PEREIRA, Cristiane. URQUIERA, Ernesto. Reduction of NO with CO on CuO or Fe_2O_3 catalysts supported on TiO_2 in the presence of O_2 , SO_2 and water steam. En: Fuel. 2013. p. 143-145

⁶⁴ YAN, Dong. YU, Ya. Poisoning effect of SO_2 on Mn-Ce/ TiO_2 catalysts for NO reduction by NH_3 at low temperature. En: Fuel Chemistry and technology. 2016. Vol 44. p. 233-235.

⁶⁵ JIAGUO, Yu. YANG, Hai. Photocatalytic hydrogen production over CuO-modified titania. En: Journal of colloid and interfase science. 2011. p. 277

⁶⁶ Cohen Juan. Evaluación de propiedades fotocatalíticas de cemento adicionado con nanopartículas de $\text{TiO}_{2-x}\text{N}_x$ (oxinitruro de titanio). Universidad Nacional de Colombia. Medellín. 2015. p 2

⁶⁷ ROJAS Naydú, SÁNCHEZ Andrea. Evaluación de tres métodos para la inactivación de coliformes y *Escherichia coli* presentes en agua residual doméstica, empleada para riego. Universitas Scientiarum. Vol 15. No 2. 2010.

4. CONCLUSIONES

- El método usado para sintetizar las películas posee variables que no han sido controladas como lo son la temperatura de calcinación y las proporciones de la suspensión. Se establece que no se debe exceder los 600°C para la calcinación. En el protocolo de lavado de vidrios debe ser usado solución sulfocrómica para remover por completo los las sustancias que se encuentran es estos.
- La caracterización de difracción de rayos X solo muestra con claridad las fases del dióxido de titanio sin embargo al tener el rutilo picos en el difractograma muy cercanos al óxido de cobre, este último no se puede apreciar por el solapamiento. Las caracterizaciones morfológicas muestran el óxido de cobre y el dióxido de titanio en la superficie de la película.
- El prototipo del reactor para la inactivación de microorganismos no necesita adecuaciones, por lo tanto solo se debe realizar un chequeo de la funcionalidad de las partes que contiene.
- El método usado para inactivar los microorganismos no es repetible, reproducible o robusto dado que los valores de coeficiente de variación supera el 35%. Es necesario modificarlo para obtener los resultados esperados (99,99% de inactivación) puesto que solo se obtuvo entre el 32% y el 40% de inactivación de la bacteria.

5. RECOMENDACIONES

- Se recomienda el uso de otro precursor como el nitrato de cobre para la obtención de óxido de cobre (II)
- Se recomienda usar no más de 1,3% de sulfato de cobre en la mezcla con dióxido de titanio.
- Se recomienda calcinar las películas por dos horas para que tengan mayor fijación al sustrato y evitar posibles desprendimientos.
- Se recomienda la medición del pH cuando se realice la inactivación de la bacteria.

BIBLIOGRAFÍA

ADAWIYA, Haider. RIYAD, Hassan. Exploring potential environmental applications of TiO₂ nanoparticles. En Energy Procedia. 2017. p. 333

ALONSO, Lina. POVEDA, Jeimy. Estudio comparativo de técnicas de recuento rápido en el mercado y placas PETRIFILM™ 3M™ para el análisis de alimentos. Pontificia Universidad Javeriana. 2008. p. 25-26.

ARUNADEVI, R. KAVITHA, B. Investigation of the drastic improvement of photocatalytic degradation of Congo red by monoclinic Cd, Ba-CuO nanoparticles and its antimicrobial activities. En: Surfaces and interfaces. Noviembre de 2017. p. 32-33

AUGUGLIARO, Vincenzo. BELLARDITA, Mariana. Overview on oxidation mechanisms of organic compounds by TiO₂ in heterogeneous photocatalysis. En: Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry reviews. 2012. p. 225-227.

BAHJAT, Kadhim. Ablation characteristics of TiO₂ /UPE-PMMA blend nanocomposites: Empirical and Simulation approaches. En: Energy Procedia. 2017. Vol. 119. p. 719-720

BALZAROTTI, Riccardo. CRISTIANI, Cinzia. Sping coating deposition on complex geometry substrates: Influence of operative parameters. En: Surface and coatings technology. 2017. p. 5.

BOCZKAJ, Grzegorz. FERNANDES, André. Wastewater treatment by means of advanced oxidation processes at basic pH conditions: A review. En: Chemical engineering journal. 2017. p. 6-8.

BOLAÑOS David, PACHECO Nicolás. Evaluación del efecto de la temperatura de calcinación sobre mezcla TiO₂/CuO_x para la inactivación fotocatalítica de *E.coli* en presencia de luz visible. Universidad América. Bogotá D.C. 2014. p. 45

CARACOL RADIO. Más de 23.000 niños en La Guajira padecen de enfermedades diarreicas. [en línea] Noviembre de 2016. Disponible en: (http://caracol.com.co/emisora/2016/11/25/riohacha/1480074372_810264.html).

Carrillo Elisa, Lozano Aura. Validación del método de detección de coliformes totales y fecales en agua potable utilizando agar Chiromocult. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá D.C. 2008. 17 p

Cohen Juan. Evaluación de propiedades fotocatalíticas de cemento adicionado con nanopartículas de $\text{TiO}_{2-x}\text{N}_x$ (oxinitruro de titanio). Universidad Nacional de Colombia. Medellín. 2015. p 2

CORREA Juan, AGUIRRE Cristian. Obtención, caracterización y actividad fotocatalítica del óxido de titanio dopado con nitrógeno a partir de urea y nitrato de amonio para su utilización en la región del visible del espectro electromagnético. Universidad tecnológica de Pereira. Facultad de tecnologías, química industrial. Pereira. 2014. p 32

CYTED. Ciencia y Tecnología para el Desarrollo. Agua Potable para comunidades rurales, reuso y tratamientos avanzados de aguas residuales domésticas. Capítulo 20: Indicadores de contaminación fecal de aguas. Madrid España. Primera edición. 2003. p. 225-227.

DEWIL, Raf. MANTZABINOS, Dionissios. New perspectives for advanced oxidation processes. En: Journal of environmental management. 2017. p. 95-97.

DU, Ye. LU, Xiao. Formation and control of disinfection byproducts and toxicity during reclaimed water chlorination: A review. En: Journal of environmental sciences. 2017. p. 51-63.

EJIGU, Fasil. TRYLAND, Ingun. Decay rate of virus and faecal indicator bacteria (FIB) in seawater and the concentration of FIBs in different wastewater systems. En: Microbial risk analysis. 2018. p. 7-8

EL TIEMPO. ¿Sabe usted dónde se toma la mejor y la peor agua del país?. [en línea]. año 2016. Disponible en: (<http://www.eltiempo.com/multimedia/especiales/calidad-del-agua-en-colombia/16555634/1/>).

FORBES, Betty. Diagnóstico Microbilógico. Métodos y estrategias de laboratorio para las pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos. Editorial Médica Panamericana. Edición 12. 2007. Buenos Aires. p. 189.

GHASEMI, Nasrin. CuO and Ag/CuO Nanoparticles: Biosynthesis and antibacterial properties. En: Journal Materials letters. 2017. p. 2-3.

GOBRECHT, Alexia. Combining linear polarization spectroscopy and the Representative Layer Theory to measure the Beer–Lambert law absorbance of highly scattering materials. En: Analytica Chimica. vol. 853, p. 487

HIROSHI, Irie. KASUHIDE, Kamiya. Visible light sensitive Cu (II)-Grafted TiO₂ photocatalysts: Activities and X-ray absorption fine structure analyses. American Chemical Society. Vol. 113. No.24. 2009. p. 10763.

HOUAS, Ammar. Photocatalytic degradation pathway of methylene blue in water. En: Applied Catalysis B: Environmental. Vol 31, No 2. p. 145-150
Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación. Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración. NTC-ISO/IEC 17025. 2 ed. Bogotá D.C.: El instituto, 2005. 17 p.

INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS Y CERTIFICACIÓN. Referencias bibliográficas. Contenido, forma y estructura NTC 5613. Bogotá D.C.: El instituto, 2008. 33p. c.

_____. Documentación. Presentación de tesis, trabajos de grado y otros trabajos de investigación. NTC 1486. Bogotá D.C.: El instituto. 2008. 36p.

_____. Referencias documentales para fuentes de información electrónicas. NTC 4490. Bogotá D.C.: El instituto. 1998. 23p.

INSTITUTO DE SALUD PÚBLICA. Validación de métodos y determinación de la incertidumbre de la medición: "Aspectos generales sobre la validación de métodos". Santiago. 2010. 3-4 p

INSTITUTO NACIONAL DE SALUD. Protocolo de vigilancia y control de la mortalidad por enfermedad diarreica agua en menores de 5 años. Vigilancia y control de factores de riesgo ambiental. 25 de septiembre de 2009.

ISENBERG, H. Clinical Microbiology procedures Handbook. Vol 1. American Society for Microbiology. Washington D.C. 1992.

JIAGUO, Yu. YANG, Hai. Photocatalytic hydrogen production over CuO-modified titania. En: Journal of colloid and interfase science. 2011. p. 277

KHRAISHEH, Majeda. WU, Lijun. Photocatalytic disinfection of *Escherichia coli* using TiO₂P25 and Cu-doped TiO₂. En: Journal of Industrial and Engineering Chemistry. 2014. p. 370.

LARREA, Jenny. ROJAS, Marcia. Bacterias indicadoras de contaminación fecal en la evaluación de la calidad de las aguas: revisión de la literatura. En: Revista CENIC. Vol. 44. 2013. p. 3

MACIAS, Leonardo. GARCIA, María. Cuantificación de fases en óxidos de titanio por medio de difracción de rayos X. En: memorias del Congreso Técnico Científico

ININ-SUTIN. p. 27

MARTINEZ, Diego. CORDOBA, Carlos. Construcción y calibración de un equipo para la deposición de nanopelícula sol-gel por el método de rotación ó spin coating. En: Revista Colombiana de Física. Universidad de Nariño. p. 2.

MEDINA, Iliana. ARÁMULA, Luis. Diseño y fabricación de un aparato para el depósito de películas delgadas por el método de rotación. Investigación y Ciencia. Vol 17, núm 45. 2009. p. 45-46.

MINISTERIO DE SALUD Y PROTECCIÓN SOCIAL. Lineamientos técnicos para la estandarización y validación de métodos de ensayo. Dirección Redes en Salud Pública. Bogotá D.C. 2014. 7 p.

MORENO, David. Evaluación de la actividad fotocatalítica de una mezcla de óxido de cobre y dióxido de titanio mediante la degradación de azul de metileno. Universidad de América. 2014. p. 20.

NGUYEN, Dinh. CHO, Kwang. Synthesis of frost-like CuO combined graphene-TiO₂ by self-assembly method and its high photocatalytic performance. En: Applied Surface science. 2017. p. 553-554.

OPPAC S.A. Hoja de seguridad del Sulfato de Cobre. CE N° 1907/2006. Versión 10. 2013

ORDOÑEZ María, ROJAS Diana. Diseño y elaboración de una guía preliminar para la validación de métodos microbiológicos estándar. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá D.C. 2007. 17-18 p

ORGANIZACIÓN MUNDAL DE LA SALUD (OMS). Progreso en saneamiento y suministro de agua. [en línea]. 2012. Disponible en (http://www.who.int/water_sanitation_health/monitoring/jmp2012/fr/).

_____. Enfermedades diarreicas. [en línea] mayo 2017. Disponible en: (<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs330/es/>).

ORTIZ Diana. Validación e implementación de una metodología para el análisis microbiológico de un producto líquido preservado elaborado en una industria farmacéutica. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá D.C. 2008. 25 p

PADILLA, José. Validación secundaria del método de recuento en placa en superficie de *Bacillus cereus* y *Staphylococcus aureus* en muestras de alimentos en un laboratorio de referencia. Pontificia Universidad Javeriana. 2007. p. 24.

PAPAMIJA, Marcela. SARRIA, Victor. Photocatalytic degradation of ibuprofen using titanium dioxide. Universidad de los Andes. 2009. p, 51

PARODI, M. RODRIGUEZ, L. Application of the Berreman effect to the characterization of TiO₂ thin layers formed onto titanium substrates. En: Procedia Materials science. 2012. Vol 1. p. 470-471.

PEREIRA, Cristiane. URQUIERA, Ernesto. Reduction of NO with CO on CuO or Fe₂O₃ catalysts supported on TiO₂ in the presence of O₂, SO₂ and water steam. En: Fuel. 2013. p. 143-145

PHAM, Thanh. LEE, Kyu. Cu doped TiO₂/GF for photocatalytic disinfection of *Escherichia coli* in bioaerosols under visible light irradiation: Application and mechanism. En: Applied Surface Science. 2013. p. 16

PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA. Ficha de datos de seguridad. Sulfato de cobre pentahidratado (CuSO₄ · 5H₂O). [en línea]. Disponible en ([http://portales.puj.edu.co/doc-quimica/FDS-LabQcaDianaHermith/CuSO4%20\(5H2O\).pdf](http://portales.puj.edu.co/doc-quimica/FDS-LabQcaDianaHermith/CuSO4%20(5H2O).pdf))

POSADA, Jaime. Elementos básicos de estadística descriptiva para el análisis de datos. Capítulo 7: Medidas de tendencia general. Ed. Luis Amigó. Medellín. 2016. p. 73-75

RAHEEMA, Aslam. GONZALES, Wenceslao. Spin-coating of moderately concentrated superparamagnetic colloids in different magnetic field configurations. En: Colloids and Surfaces A. 2017. p. 532-533.

REDDY, Venkata. KAVITHA, Beluri. TiO₂-based photocatalytic disinfection of microbes in aqueous media. En: Environmental research. 2017. p. 297-298.

RIOS, G. GIANNINI, D. Estudio morfológico y estructural de nanopartículas de CuO empleando técnicas de dispersión de rayos X. En: Revista de la sociedad química del Perú. 2015. Vol. 81. p. 261.

ROCK, C; RIVERA, B. La calidad del agua, E. coli y su salud. College of agriculture and life science. Universidad de Arizona. Marzo del 2014

ROJAS Naydú, SÁNCHEZ Andrea. Evaluación de tres métodos para la inactivación de coliformes y *Escherichia coli* presentes en agua residual doméstica, empleada para riego. Universitas Scientiarum. Vol 15. No 2. 2010.

ROJAS TRIVIÑO, Alberto. Conceptos y prácticas de microbiología general. Universidad Nacional de Colombia. Sede Palmira. 2011. p 44

SIVAGAMI, K. SAKTHIVEL, K. Advanced oxidation process for the treatment of tannery wastewater. En: Journal of environmental chemical engineering. 2017. p. 3.

SUÁREZ, Laura. PULGARÍN, Cesar. New evidence for disinfection, self-cleaning and pollutant degradation mediated by GF-TiO₂ – Cu mats under solar/visible light in mild oxidative conditions. En: Journal of photochemistry and photobiology A: Chemistry. 2017. p. 351-353

THE FEM. Microbiology Action Team. Method validation of u.s. environmental protection agency (epa) microbiological methods of Analysis. The EPA Forum on Environmental Measurements (FEM). 2009. 1-1 p

VERMA, Kartikey. CHAUDAHARY, Babulal. Investigation of structural, morphological and optical properties of Mg: ZnO thin films prepared by sol-gel spin coating method. En: Vacuum. 2017. p. 3-4.

VILLANUEVA, Carolina. Fotocatálisis con TiO₂/ultravioleta y TiO₂ CuSO₄/visible como sistemas de desinfección para inactivar *E. coli* proveniente de agua residual doméstica. Pontificia Universidad Javeriana. 2011. p. 19-29.

WANG, Zhaohui. SUN, Linyan. Chemical instability of graphene oxide following exposure to highly reactive radicals in advanced oxidation processes. En: Journal of colloid and interface science. 2017. p. 3-5.

WANJUGI, Pauline. SIVAGANESAN, Mano. Differential decomposition of bacterial and viral fecal indicators in common human pollution types. En: Water Research. 2016. Vol 105. p. 592-593.

XION, Lin. SUN, Weiling. Heterogeneous photocatalysis of methylene blue over titanate nanotubes: Effect of adsorption. En: Journal of Colloid and Interface Science. 2010. p. 211-212.

YAN, Dong. YU, Ya. Poisoning effect of SO₂ on Mn-Ce/TiO₂ catalysts for NO reduction by NH₃ at low temperature. En: Fuel Chemistry and technology. 2016. Vol 44. p. 233-235.

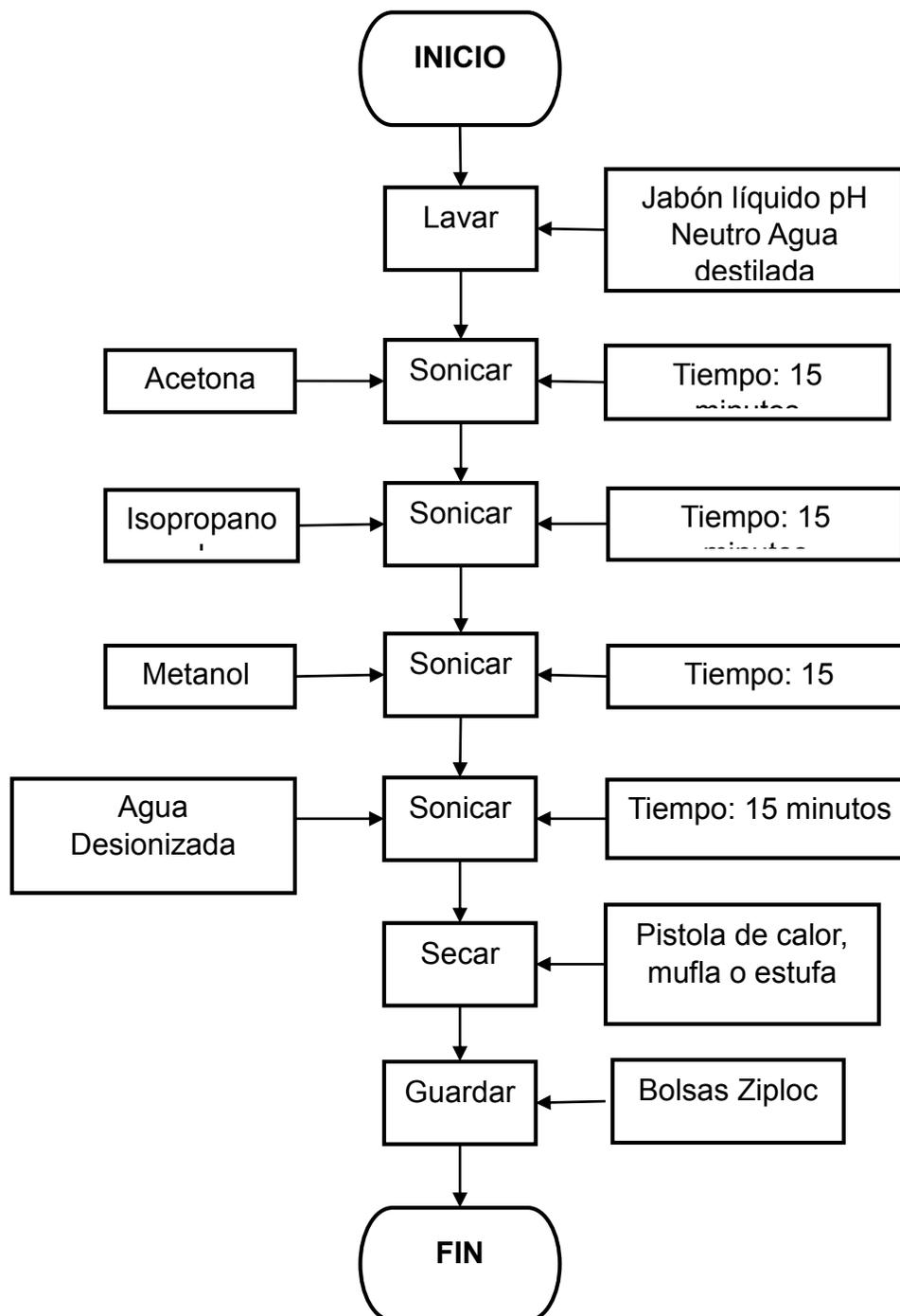
YOUSEF, Ayman. BARAKAT, Nasser. Inactivation of pathogenic *Klebsiella pneumoniae* by CuO/TiO₂ nanofibers: A multifunctional nanomaterial via one-step electrospinning. En: Ceramics International. 2012. p. 4526.

_____. HALWANY, El. Cu₀-doped TiO₂ nanofibers as potential photocatalyst and antimicrobial agent. En: Journal of Industrial and Engineering Chemistry. 2014. p. 252.

ANEXOS

ANEXO A

PROTOCOLO DE LAVADO DE VIDRIOS



ANEXO B

PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN DEL PRECURSOR

Para una concentración de 0,05 M de Sulfato de cobre pentahidratado ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), y tomando como base 100 mL de agua destilada, se le añadirá la siguiente cantidad de reactivo:

$$\frac{0,05 \text{ n CuSO}_4}{1 \text{ L}} * \frac{249,7 \text{ g}}{\text{n}} = 12,485 \frac{\text{g}}{\text{L}}$$

Como la ecuación anterior es de acuerdo a un litro, entonces se debe utilizar 1,248 g de precursor en 100 mL de agua destilada.

ANEXO C

PREPARACIÓN DE LA MEZCLA TiO_2/CuO A DIFERENTES CONCENTRACIONES

Como la cantidad de precursor varía de acuerdo a la concentración, se requiere tres concentraciones 0,62%, 1,56%, y 2,49% del $CuSO_4$, para la conocer la cantidad necesaria en la etapa de agitación para la activación de la mezcla, se realizó el siguiente cálculo:

$$0,62\%, \frac{g CuSO_4}{g TiO_2} * 0,4 g TiO_2 = 0,00248 g CuSO_4$$

Conocida la cantidad de precursor se decide utilizar la solución de 0,05 M preparada anteriormente debido a que el valor obtenido es mínimo, el cálculo se presenta a continuación:

$$\frac{0,00248 g CuSO_4}{249,7 \frac{g}{n} * 0,05 \frac{n}{L}} = 0,0002 L$$

Como ese volumen es muy pequeño fue esencial el uso de una micropipeta, tomando 200 μL de la solución de 0,05 M del $CuSO_4$, obteniendo así la concentración deseada del precursor. Se realiza el mismo procedimiento para las demás concentraciones.

ANEXO D

TABLAS DE DEGRADACIÓN DE AZUL DE METILENO

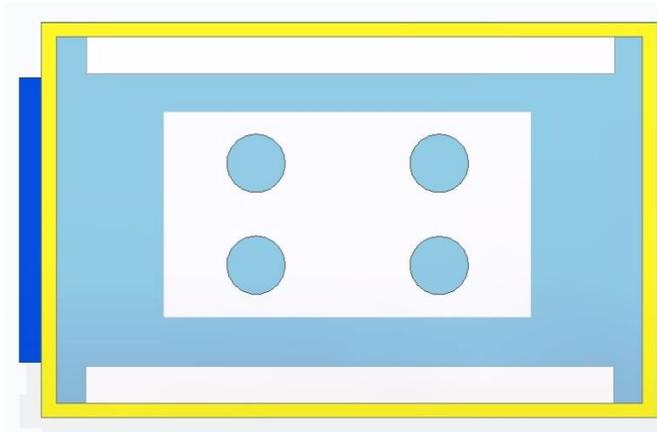
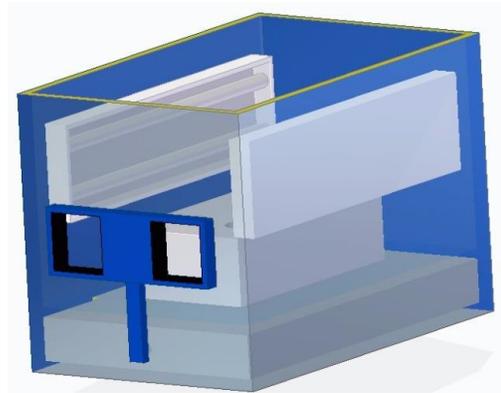
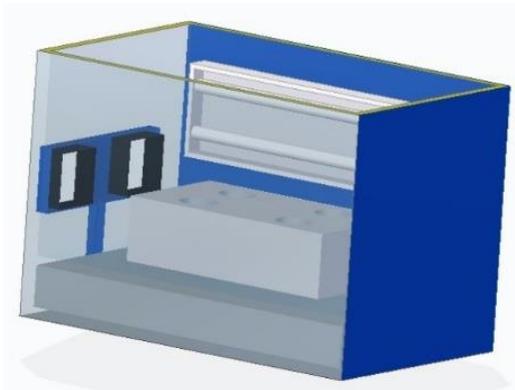
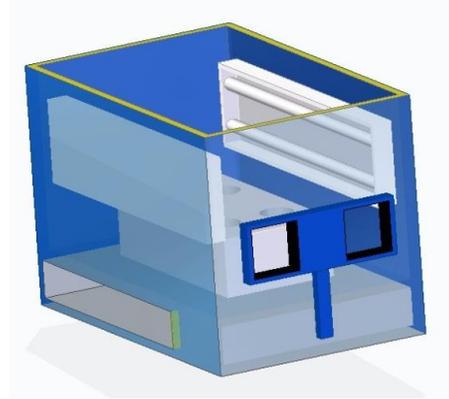
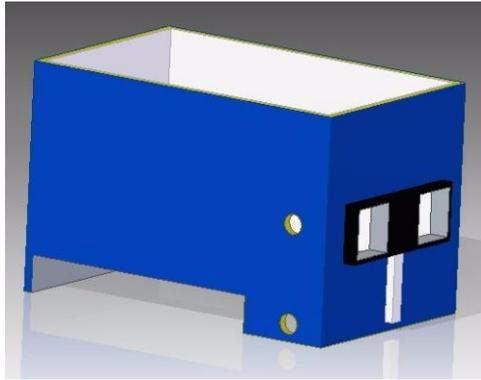
LUZ VISIBLE					
2,49%		1,56%		0,62%	
t (minutos)	Concentración (ppm)	t (minutos)	Concentración (ppm)	t (minutos)	Concentración (ppm)
0	7,989	0	7,998	0	7,975
1	7,697	1	7,763	1	7,617
2	7,664	2	7,655	2	7,472
3	7,650	3	7,519	3	7,378
4	7,617	4	7,387	4	7,354
5	7,580	5	7,331	5	7,298
10	7,561	10	7,293	10	7,204
15	7,519	15	7,148	15	7,021
20	7,514	20	7,072	20	6,917
25	7,491	25	7,002	25	6,856
30	7,387	30	6,922	30	6,828
45	7,312	45	6,880	45	6,725
60	7,213	60	6,800	60	6,673
90	7,082	90	6,734	90	6,560
120	6,894	120	6,673	120	6,457
180	6,668	180	6,607	180	6,377
210	6,527	210	6,438	210	6,325
270	6,443	270	6,405	270	6,180

ANEXO D
(CONTINUACIÓN)

LUZ UV					
2,49%		1,56%		0,62%	
t (minutos)	Concentración (ppm)	t (minutos)	Concentración (ppm)	t (minutos)	Concentración (ppm)
0	7,993	0	7,923	0	7,721
1	7,829	1	7,810	1	7,133
2	7,632	2	7,580	2	7,086
3	7,514	3	7,467	3	7,063
4	7,373	4	7,364	4	7,035
5	7,289	5	7,237	5	7,007
10	7,119	10	7,068	10	6,941
15	7,049	15	6,950	15	6,931
20	6,974	20	6,842	20	6,781
25	6,908	25	6,678	25	6,725
30	6,894	30	6,579	30	6,635
45	6,772	45	6,555	45	6,584
60	6,682	60	6,335	60	6,311
90	6,537	90	6,212	90	6,114
120	6,438	120	6,029	120	5,987
180	6,264	180	5,804	180	5,714
210	6,104	210	5,658	210	5,602
270	5,945	270	5,564	270	5,517

ANEXO E

PLANOS DEL FOTORREACTOR



Autor: Felipe Pinto.

ANEXO F

FICHA TÉCNICA MICROPIPETA



SOCOREX

CARACTERÍSTICAS Y DESEMPEÑO
INFORMACIÓN DE PEDIDO INFORMAÇÕES PARA REQUISITAR

Acura 825, adjustable volume micropipettes

Volume µL	Division µL	Inaccuracy (E%)			Imprecision (CV%)			Tip style	Cat. No.
		Min. vol.	Mid. vol.	Max. vol.	Min. vol.	Mid. vol.	Max. vol.		
0.1 - 2	0.002	≤± 8.0 % ¹⁾	≤± 4.0 %	≤± 2.0 %	< 6.0 % ²⁾	< 3.3 %	< 1.5 %	Ultra 10 µl	825.0002
0.5 - 10	0.01	≤± 2.5 % ²⁾	≤± 1.8 %	≤± 1.0 %	< 1.8 % ²⁾	< 1.2 %	< 0.5 %	Ultra 10 µl	825.0010
1 - 10	0.01	≤± 2.5 %	≤± 1.8 %	≤± 1.0 %	< 2.5 %	< 1.8 %	< 0.7 %	200 µl	825.0010Y
2 - 20	0.02	≤± 2.5 %	≤± 1.8 %	≤± 1.0 %	< 1.7 %	< 1.1 %	< 0.5 %	200 µl	825.0020
5 - 50	0.1	≤± 1.5 %	≤± 1.3 %	≤± 1.0 %	< 1.0 %	< 0.7 %	< 0.4 %	200 µl	825.0050
10 - 100	0.1	≤± 1.5 %	≤± 1.2 %	≤± 0.8 %	< 1.0 %	< 0.6 %	< 0.2 %	200 µl	825.0100
20 - 200	0.2	≤± 1.5 %	≤± 1.1 %	≤± 0.6 %	< 0.6 %	< 0.4 %	< 0.2 %	200 µl	825.0200
100 - 1000	1.0	≤± 1.5 %	≤± 1.0 %	≤± 0.5 %	< 0.5 %	< 0.4 %	< 0.2 %	1000 µl	825.1000

¹⁾ Measured at 0.5 µL. Indicative data at 0.2 µL: E ≤ 12%, CV < 8% ²⁾ Measured at 1 µL. Indicative data at 0.5 µL: E ≤ 8%, CV < 3%

Quality Control Certificate

Instrument

MODEL/CAT. NO. : ACURA 825.0010
VOLUME RANGE : 0.5-10 µl
SERIAL NO. : 26022041 NEW

Test data

CONTROL DATE : 14-Mar-2016
OPERATOR ID : V. Davoli
BALANCE : checked against Swiss master standard
AIR TEMP : Between 20-25°C [+/- 0.5°C]
AIR PRESSURE : 976 hPa
WATER TEMP : 21.4 °C
LIQUID DENSITY : 0.997902 g/cm³
METHOD : Based on ISO 8855

ANEXO G

CERTIFICADO DE ANÁLISIS DE MEDIOS DE CULTIVO

	MICROGEN LTDA	Código: FL26
	CERTIFICADO DE ANÁLISIS	Versión: 1
		Página: 1

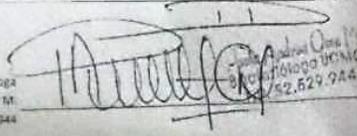
PRODUCTO:	AGAR TRIPTICASA DE SOYA
LOTE:	443-17
CÓDIGO:	0410-AC
REGISTRO SANITARIO:	2014RD 0003082
FECHA DE FABRICACIÓN:	Noviembre 04 de 2017
FECHA DE VENCIMIENTO:	Febrero 04 de 2018

CONTROL INTERNO			
CARACTERÍSTICAS FÍSICAS:			
Aspecto y Color del Medio Preparado:	Almendra Pálido		
pH Medio Preparado:	7.1		
Prueba de Esterilidad:	24 H	48 H	72 H
	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO

CONTROL EXTERNO						
ENSAYO	CEPA UTILIZADA	ATCC	DILUCIÓN	ESTANDAR	RESULTADO	CRECIMIENTO
Productividad	E. coli	25922	1/1000	> 100 UFC	120 UFC	Colonias medianas, opacas características de la cepa
Selectividad	E. faecalis	19433	1/1000	≥ 100 UFC	210 UFC	Colonias amarillo verdoso, morfología características de la cepa.

CONCLUSIÓN:	El Agar Tripticasa de Soya cumple con las características de crecimiento exigidos por la ISO 11133: numeral 7.2.2.1.1, microbiology of food, animal feed and water - preparation, production, storage and performance testing of culture media.
--------------------	---

Bacterióloga
 Dra. Paola Andrea Ossa M.
 T.P. - 52529544



Laboratorio de Microbiología UCNM
Tel: 52.629.944

ANEXO G

(CONTINUACIÓN)

	MICROGEN LTDA	Código: FL26
	CERTIFICADO DE ANÁLISIS	Versión: 1 Mayo 5/2016

PRODUCTO:	AGAR NUTRITIVO
LOTE:	435-17
CÓDIGO:	0410-AC
REGISTRO SANITARIO:	2014RD-0003082
FECHA DE FABRICACIÓN:	Octubre 30 de 2017
FECHA DE VENCIMIENTO:	Enero 30 de 2018

CONTROL INTERNO

CARACTERÍSTICAS FÍSICAS:

Aspecto y Color del Medio Preparado	Almendra Pálida						
pH Medio Preparado	6,8						
Prueba de Esterilidad	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;">24 H</td> <td style="width: 33%;">48 H</td> <td style="width: 33%;">72 H</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">NEGATIVO</td> <td style="text-align: center;">NEGATIVO</td> <td style="text-align: center;">NEGATIVO</td> </tr> </table>	24 H	48 H	72 H	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
24 H	48 H	72 H					
NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO					

CONTROL EXTERNO

ENSAYO	CEPA UTILIZADA	ATCC	DILUCIÓN	ESTANDAR	RESULTADO	CRECIMIENTO
Productividad	E. coli	25922	1/1000	> 100 UFC	340 UFC	Colonias medianas tamaño y morfología características de la cepa
Productividad	E. faecalis	19433	1/1000	> 100 UFC	198 UFC	Colonias pequeñas tamaño y morfología características de la cepa

CONCLUSIÓN: El Agar Nutritivo cumple con las características de crecimiento exigidos por la ISO 11133, numeral 7.2.2.1.1, microbiology of food, animal feed and water preparation, production, storage and performance testing of culture media.

Bacterióloga
 Dra. Paola Andrea Osse M.
 T.P. 52529944



ELABORO PAOLA	REVISO COM	APROBO Comité de Calidad
------------------	---------------	-----------------------------

 Fundación Universidad de América	FUNDACIÓN UNIVERSIDAD DE AMÉRICA	Código:
	PROCESO: GESTIÓN DE BIBLIOTECA	Versión 0
	Autorización para Publicación en el Repositorio Digital Institucional – Lumieres	Julio - 2016

AUTORIZACIÓN PARA PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO DIGITAL INSTITUCIONAL LUMIERES

Nosotras PAULA MELISSA BOHÓRQUEZ MORENO y MARÍA CAMILA GAMBOA BORREGO en calidad de titulares de la obra VALIDACIÓN DEL EFECTO DE LA CONCENTRACIÓN DE ÓXIDO DE COBRE (x) EN MEZCLA CON DIÓXIDO DE TITANIO (TiO₂)_(1-x) (CuO)_(x) PARA LA INACTIVACIÓN FOTOCATALÍTICA DE *E. coli* EN PRESENCIA DE LUZ VISIBLE , elaborada en el año 2017 , autorizamos al Sistema de Bibliotecas de la Fundación Universidad América para que incluya una copia, indexe y divulgue en el Repositorio Digital Institucional – Lumieres, la obra mencionada con el fin de facilitar los procesos de visibilidad e impacto de la misma, conforme a los derechos patrimoniales que nos corresponden y que incluyen: la reproducción, comunicación pública, distribución al público, transformación, en conformidad con la normatividad vigente sobre derechos de autor y derechos conexos (Ley 23 de 1982, Ley 44 de 1993, Decisión Andina 351 de 1993, entre otras).

Al respecto como Autores manifestamos conocer que:

- La autorización es de carácter no exclusiva y limitada, esto implica que la licencia tiene una vigencia, que no es perpetua y que los autores pueden publicar o difundir su obra en cualquier otro medio, así como llevar a cabo cualquier tipo de acción sobre el documento.
- La autorización tendrá una vigencia de cinco años a partir del momento de la inclusión de la obra en el repositorio, prorrogable indefinidamente por el tiempo de duración de los derechos patrimoniales de los autores y podrá darse por terminada una vez los autores lo manifiesten por escrito a la institución, con la salvedad de que la obra es difundida globalmente y cosechada por diferentes buscadores y/o repositorios en Internet, lo que no garantiza que la obra pueda ser retirada de manera inmediata de otros sistemas de información en los que se haya indexado, diferentes al Repositorio Digital Institucional – Lumieres de la Fundación Universidad América.
- La autorización de publicación comprende el formato original de la obra y todos los demás que se requiera, para su publicación en el repositorio. Igualmente, la autorización permite a la institución el cambio de soporte de la obra con fines de preservación (impreso, electrónico, digital, Internet, intranet, o cualquier otro formato conocido o por conocer).
- La autorización es gratuita y se renuncia a recibir cualquier remuneración por los usos de la obra, de acuerdo con la licencia establecida en esta autorización.
- Al firmar esta autorización, se manifiesta que la obra es original y no existe en ella ninguna violación a los derechos de autor de terceros. En caso de que el trabajo haya sido financiado por terceros, los autores asumen la responsabilidad del cumplimiento de los acuerdos establecidos sobre los derechos patrimoniales de la obra.
- Frente a cualquier reclamación por terceros, los autores serán los responsables. En ningún caso la responsabilidad será asumida por la Fundación Universidad de América.
- Con la autorización, la Universidad puede difundir la obra en índices, buscadores y otros sistemas de información que favorezcan su visibilidad.

Conforme a las condiciones anteriormente expuestas, como autores establecemos las siguientes condiciones de uso de nuestra obra de acuerdo con la **licencia Creative Commons** que se señala a continuación:

	FUNDACIÓN UNIVERSIDAD DE AMÉRICA	Código:
	PROCESO: GESTIÓN DE BIBLIOTECA	Versión 0
	Autorización para Publicación en el Repositorio Digital Institucional – Lumieres	Julio - 2016

	Atribución- no comercial- sin derivar: permite distribuir, sin fines comerciales, sin obras derivadas, con reconocimiento del autor.	<input type="checkbox"/>
	Atribución – no comercial: permite distribuir, crear obras derivadas, sin fines comerciales con reconocimiento del autor.	<input checked="" type="checkbox"/>
	Atribución – no comercial – compartir igual: permite distribuir, modificar, crear obras derivadas, sin fines económicos, siempre y cuando las obras derivadas estén licenciadas de la misma forma.	<input type="checkbox"/>

Licencias completas: http://co.creativecommons.org/?page_id=13

Siempre y cuando se haga alusión de alguna parte o nota del trabajo, se debe tener en cuenta la correspondiente citación bibliográfica para darle crédito al trabajo y a sus autores.

De igual forma como autores autorizamos la consulta de los medios físicos del presente trabajo de grado así:

AUTORIZAMOS	SI	NO
La consulta física (sólo en las instalaciones de la Biblioteca) del CD-ROM y/o Impreso	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
La reproducción por cualquier formato conocido o por conocer para efectos de preservación	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Información Confidencial: este Trabajo de Grado contiene información privilegiada, estratégica o secreta o se ha pedido su confidencialidad por parte del tercero, sobre quien se desarrolló la investigación. En caso afirmativo expresamente indicaremos, en carta adjunta, tal situación con el fin de que se respete la restricción de acceso.	SI	NO
	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>

Para constancia se firma el presente documento en Bogotá, a los 15 días del mes de febrero del año 2018.

LOS AUTORES:

Autor 1

Nombres	Apellidos
Paula Melissa	Bohórquez Moreno
Documento de identificación No	Firma
1032467263	

Autor 2

Nombres	Apellidos
María Camila	Gamboa Borrego
Documento de identificación No	Firma
1031160115	