



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO**  
**INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES NUCLEARES**



**FACULTAD DE QUÍMICA**

---

**SOBREVIVENCIA DE *Escherichia coli* Y *Candida albicans*  
PRESENTES EN AGUA POTABLE FRENTE A ZEOLITA NATURAL  
MODIFICADA CON Ag-Zn**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRA EN CIENCIAS  
AMBIENTALES**

**P R E S E N T A**

**IBT. KAREN ROSAS ECHEVERRÍA**

**COMITÉ TUTORIAL**

**DRA. EDITH ERIELIA GUTIERREZ SEGURA**

**DRA. MARÍA TERESA OLGUÍN GUTIÉRREZ**

**M en S.P. SERGIO PAVÓN ROMERO**

**TOLUCA, MÉXICO, AGOSTO DE 2020**



**El proyecto se llevó a cabo en el Laboratorio de Ciencias Ambientales de la Facultad de Química, de la Universidad Autónoma del Estado de México, donde se cuenta con el material y equipo necesario para el análisis fisicoquímico de las muestras de agua, mientras que el análisis microbiológico se realizó en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Química, UAEM. El análisis químico de los materiales zeolíticos se evaluó en las instalaciones del ININ y se contó con el soporte financiero parcial del Proyecto SEP-CONACyT 254665 "Comportamiento de intercambiadores iónicos y adsorbentes de origen natural frente a especies nucleares, químicas o microbiológicas consideradas contaminantes del agua".**

El proyecto de investigación con título “Sobrevivencia de *Escherichia coli* y *Candida albicans* presentes en agua potable frente a zeolita natural modificada con Ag-Zn”, fue registrado ante la Dirección de Estudios Avanzados con el número MACIAS-1019.

El proyecto se inscribe en la línea de investigación de Prevención, Control y Efectos de la Contaminación del Área de Calidad Ambiental del Programa de Posgrado en Ciencias Ambientales de la Universidad Autónoma del Estado de México.

## Agradecimientos

Al comité tutorial de este proyecto de Investigación, colaborar con ustedes ha sido un privilegio y un gran honor:

Dra. María Teresa Olguín Gutiérrez, gracias por brindarme la oportunidad de ser parte de este proyecto. Su apoyo incondicional, sus aportaciones y paciencia es algo que valoro mucho. Gracias por compartir su conocimiento, talento y experiencia.

Dra. Edith Erielia Gutiérrez Segura, muchas gracias por su disposición y apoyo en todo momento, gracias por ayudarme con su conocimiento y sus aportaciones que fortalecieron este proyecto.

M en S.P. Sergio Pavón Romero, gracias por compartir su conocimiento, por el apoyo y facilidades para realizar esta investigación.

A la Universidad Autónoma del Estado de México, a la Facultad de Química y a cada uno de los integrantes del comité de Posgrado en Ciencias Ambientales, por haberme aceptado en el Programa y brindarme la oportunidad de seguir preparándome profesionalmente.

Al Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares, por el apoyo y facilidades para realizar los análisis de caracterización de los materiales de investigación.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca otorgada con número de CVU: 935963 para la realización de estudios de Maestría en Ciencias Ambientales.

## Dedicatorias

Samuel, Sophya y Vanessa:

Son la razón, el motivo y la fuerza de todo lo que hago. Su presencia en mi vida me ayuda a trabajar día a día para ser mejor persona. Los amo infinitamente.

A Jorge Lucio Reyes Molina, por tu paciencia, compañía y amor.

A mis padres, Ismael Rosas Suárez y Braulia Echeverría González, mis logros están en deuda a su apoyo, ayuda y amor. Gracias por darme la oportunidad de ser una mujer preparada profesionalmente porque al darme estudios me han dado todo.

A Josué Francisco Rosas Echeverría, por alegrar mis días.

A Juan Alejandro Rosas Suárez, porque una promesa fue suficiente para lograr mis sueños.

A Juan Alejandro Rosas Jaimes y Guadalupe Suárez Domínguez por todo su amor, apoyo, bondad y por ser un ejemplo a seguir.

A cada uno de los integrantes de la Familia Rosas-Suárez y Echeverría-González porque los amo con toda el alma, su existencia alegra mi vida. Gracias por todo el apoyo que me han brindado, es algo que valoro mucho.

## Contenido

Resumen	8
Relación de Tablas	9
Relación de Figuras	9
Acrónimos	10
Glosario de Términos	12
Introducción	14
Capítulo 1	17
1. Antecedentes	17
1.1 Calidad del agua	17
1.1.2 Pruebas para coliformes y para <i>Escherichia coli</i>	18
1.2 Salud pública	19
1.3 Potabilización física y química del agua	19
1.4 Desinfección	20
1.5 Fuentes de infección por el agua potable	22
1.6 <i>Escherichia coli</i> ( <i>E. coli</i> )	22
1.7 <i>Candida albicans</i>	23
1.8 Zeolitas	24
1.8.1 Zeolitas acondicionadas con Plata	28
1.8.2 Zeolitas Acondicionadas con Zinc	29
1.9 Plata como desinfectante	30
1.10 Zinc como antimicótico	32
1.11 Modelo de Chick	33
1.12 Técnicas de caracterización	35
1.12. 1 Microscopía Electrónica de Barrido (MEB) y Espectroscopia de Energía Dispersiva de rayos-X	35
1.12. 2 Espectroscopía fotoelectrónica de rayos-X.	36
1.12. 3 Área superficial específica por la técnica de BET multipuntos	36

<b>Capítulo 2</b>	<b>39</b>
<b>2.1. Planteamiento del Problema</b>	<b>39</b>
<b>2.2. Justificación</b>	<b>41</b>
<b>2.3. Hipótesis</b>	<b>43</b>
<b>2.4. Objetivo General</b>	<b>43</b>
<b>2.5. Objetivos Específicos</b>	<b>43</b>
<b>Capítulo 3</b>	<b>44</b>
<b>3. Metodología</b>	<b>44</b>
<b>3.1. Material y método</b>	<b>44</b>
3.1.1 Material zeolítico	45
3.1.2 Acondicionamiento del material zeolítico con una solución de NaCl	45
3.1.3 Modificación del material zeolítico con Ag y Zn	45
<b>3.2. Caracterización de los materiales zeolíticos</b>	<b>46</b>
3.2.1 Microscopía Electrónica de Barrido (MEB) y Espectroscopia de Energía Dispersiva de rayos-X	46
3.2.2 Espectroscopía fotoelectrónica de rayos-X.	46
3.2.3 Área superficial específica por la técnica de BET multipuntos	46
<b>3.3. Caracterización de agua de pozo</b>	<b>47</b>
<b>3.4. Proceso de desinfección</b>	<b>47</b>
3.4.1 Ensayos Microbiológicos	47
3.4.2 Cinéticas de desinfección	48
3.4.3 Modelo de Chick	49
<b>Capítulo 4</b>	<b>50</b>
<b>4. Resultados</b>	<b>50</b>
<b>Capítulo 5</b>	<b>81</b>
<b>5.1. Discusión general</b>	<b>81</b>
<b>5.2. Conclusiones y Sugerencias</b>	<b>84</b>
<b>5.3. Referencias</b>	<b>86</b>

## Resumen

En la presente investigación se evaluó la sobrevivencia de *Escherichia coli* y *Candida albicans*, partiendo de los microorganismos de manera individual y en consorcio (suspendidos en agua potable), frente a una zeolita natural (proveniente del Estado de Oaxaca, México) acondicionada con Ag y Zn. El material zeolítico natural fue acondicionado con NaCl denominándose a este ZNa, posteriormente fue acondicionado con Ag y Zn en forma independiente, denominándose (ZAgZn1), por otro lado, se llevó a cabo el acondicionamiento de Ag y Zn en forma simultánea, denominándose (ZAgZn2). Los materiales obtenidos se caracterizaron por microscopía electrónica de barrido (MEB) y espectroscopia de energía dispersiva de rayos-X (EDS), espectroscopía fotoelectrónica de rayos-X (XPS) y se determinó, además, el área superficial específica mediante la técnica de BET multipuntos. Los resultados indicaron que el material más adecuado para aplicarse en el proceso de desinfección fue el ZAgZn2 con base en su área superficial siendo 1.22 veces superior así como tener mayor contenido de Ag y Zn comparado con ZAgZn1. El porcentaje en peso del Zn, en las muestras zeolíticas modificadas fue de  $0.18 \pm 0.04$  para la ZAgZn1 y  $2.66 \pm 1.16$  para la ZAgZn2. El de Ag fue similar en ambos materiales, siendo alrededor del 10.5%. Las especies químicas más sobresalientes fueron  $\text{Ag}^0$  y  $[\text{Zn}(\text{OH})]^+$  en ambos materiales. Posterior a la caracterización, se determinó el crecimiento microbiano (*Escherichia coli*, *Candida albicans* y *Escherichia coli-Candida albicans*) frente a la Zeolita ZAgZn2 en agua de pozo del municipio de Zinacantepec, Estado de México (México), a través de la técnica de filtración por membrana. La velocidad de inhibición microbiana y los parámetros cinéticos de desinfección, se evaluaron mediante el modelo de Chick. Se encontró que el proceso de inhibición celular para los sistemas microbianos individuales fue más eficiente que en consorcio en presencia del material zeolítico modificado con plata y zinc (ZAgZn2). *E. coli* suspendida en agua de pozo, se inhibe totalmente a los 60 minutos después de haber entrado en contacto con el material zeolítico ZAgZn2 y para *C. albicans* la inhibición total se logra a los 180 minutos. El tiempo necesario para la inactivación total del consorcio microbiano fue de 300 minutos.



## Relación de Tablas

Tabla 1. Procesos unitarios para la potabilización del agua en función de los contaminantes presentes. _____	20
Tabla 2. Clasificación de las zeolitas naturales _____	25
Tabla 3. Grupos funcionales de unión involucrados en la biosorción de plata _____	31
Tabla 4. Ventajas y Desventajas de los métodos de desinfección del agua _____	40

## Relación de Figuras

Fig. 1. Esquema de microscopio electrónico donde se muestra las componentes principales. _____	35
Fig. 2. Isotermas de adsorción _____	37

## Acrónimos

<b>Ag<sup>0</sup></b>	Plata metálica
<b>Ag/Ag</b>	Relación Plata/Plata
<b>AgNO<sub>3</sub></b>	Nitrato de plata
<b>Al</b>	Aluminio
<b>ATCC</b>	American Type Culture Collection
<b>Ca</b>	Calcio
<b>C. albicans</b>	<i>Candida albicans</i>
<b>Cl<sup>-</sup></b>	Cloruro
<b>DRX</b>	Difracción de rayos-X
<b>e<sup>-</sup></b>	Electrón
<b>EDS</b>	Espectroscopia de energía dispersa de rayos-X
<b>E. coli</b>	<i>Escherichia coli</i>
<b>eV</b>	Electrón Volts
<b>g</b>	gramos
<b>h</b>	hora
<b>k</b>	Constante de velocidad de inactivación (h <sup>-1</sup> )
<b>K<sup>+</sup></b>	ion potasio
<b>K (h<sup>-1</sup>)</b>	Constante de decaimiento celular
<b>Ln</b>	Logaritmo natural
<b>M</b>	molar
<b>MEB</b>	Microscopia electrónica de barrido
<b>N</b>	Número de organismos al tiempo t

<b>N<sub>0</sub></b>	Número inicial de microorganismos
<b>NaCl</b>	Cloruro de sodio
<b>nm</b>	nanómetro
<b>NOM</b>	Norma Oficial Mexicana
<b>np</b>	nanopartícula
<b>°C</b>	Grados Celsius
<b>pH</b>	potencial Hidrógeno
<b>ROS</b>	Especies de Oxígeno Reactivo
<b>rpm</b>	revoluciones por minuto
<b>R<sup>2</sup></b>	Coefficiente de determinación
<b>SH</b>	Grupos tiol
<b>sp.</b>	Especie
<b>t</b>	tiempo
<b>TSA</b>	Agar Triptisoya Caseína
<b>TSB</b>	Caldo Triptisoya Caseína
<b>UFC</b>	Unidades Formadoras de Colonias
<b>XPS</b>	Espectrómetro de fotoelectrones inducidos por rayos-X
<b>Z</b>	Zeolita natural
<b>ZNa</b>	Zeolita sódica
<b>ZAgZn</b>	Zeolita acondicionada con plata y zinc

## Glosario de Términos

**Agua efluente:** agua residual tratada que se descarga o libera de una planta de tratamiento.

**Agua cruda:** agua superficial o profunda que no ha sido tratada de ningún modo (también llamada agua no tratada).

**Aguas negras:** efluentes líquidos contaminados con material fecal de origen humano o animal.

**Aguas residuales:** líquido derivado de fuentes domésticas o industriales que no puede descargarse sin tratamiento en lagos o ríos.

**Agua sin tratar:** agua superficial o profunda que no ha sido tratada de ningún modo (también llamada agua cruda).

**Agua terminada:** agua que se libera al sistema de distribución tras un tratamiento.

**Clarificador (tanque de coagulación):** depósito donde los sólidos suspendidos de un agua cruda sufren coagulación y son eliminados.

**Cloramina:** desinfectante químico producido in situ por combinación de cloro y amoníaco en proporciones adecuadas.

**Cloro:** elemento usado en su estado gaseoso para desinfectar agua; se mantiene un nivel residual a lo largo de los sistemas de distribución.

**Coagulación:** formación de grandes partículas insolubles a partir de partículas coloidales más pequeñas mediante la adición de sulfato de aluminio y polímeros amónicos.

**Coliformes:** bacterias anaerobias facultativas gram negativas, no formadoras de endosporas y fermentadoras de lactosa.

**Demanda bioquímica de oxígeno (DBO):** cantidad relativa de oxígeno disuelto que consumen los microorganismos para la oxidación completa del material orgánico e inorgánico de una muestra de agua.

**Filtración:** eliminación de partículas suspendidas en el agua mediante su paso o transferencia por una o más membranas permeables o por otros medios (como arena, antracita o tierra de diatomeas).

**Floculación:** tratamiento del agua posterior a la coagulación que emplea agitación suave para inducir que las partículas suspendidas formen agregados de mayor masa (flóculos).

**Polímero:** en el proceso de purificación del agua es una sustancia en forma líquida que se emplea como coagulante en el proceso de clarificación para provocar la floculación de una suspensión.

**Potable:** término que se aplica al agua que puede beberse, segura para el consumo humano.

**Quiste:** forma infecciosa de un protozoo encerrado en una envoltura gruesa que posee una notable resistencia física y química.

**Sedimento:** suelo, tierra, minerales y otras partículas grandes que se encuentran en el agua cruda.

**Sistema de distribución:** tuberías de agua, depósitos de almacenamiento, tanques y otras instalaciones usadas para suministrar agua potable a los consumidores o para mantenerla antes del suministro.

**Sólidos suspendidos:** pequeñas partículas de material sólido contaminante que no puede ser separado por métodos físicos ordinarios.

**Turbidez:** medida de los sólidos suspendidos en un agua.

## Introducción

El agua para consumo humano está sujeta a controles de calidad tanto química como microbiológica [99]. La Organización Mundial de la Salud (OMS) recomendó, que el agua destinada para beber no debe contener microorganismos indicadores de contaminación [102]. La presencia de microorganismos patógenos y agentes infecciosos en el agua está restringida, ya sea para beber o para fines recreativos [99].

Actualmente se sigue careciendo de acceso al agua, saneamiento e higiene. Alrededor de 2,200 millones de personas en el mundo, no cuentan con servicios de agua potable gestionados de manera segura; 4,200 millones de personas no cuentan con servicios de saneamiento y 3,000 millones carecen de instalaciones básicas para el lavado de manos [98].

El informe del Programa Conjunto de Monitoreo “Progress on drinking water, sanitation and hygiene: Special focus on inequalities 2000-2017”, indica que, si bien se han realizado progresos considerables en el logro al acceso del agua, el saneamiento y la higiene, existen enormes carencias en la calidad de los servicios prestados. El informe revela que 1,800 millones de personas han obtenido acceso a los servicios básicos de agua potable desde el año 2000, pero existen grandes desigualdades en la accesibilidad, disponibilidad y calidad de estos servicios. Se estima que 1 de cada 10 personas (785 millones) todavía carecen de servicios básicos, incluidos los 144 millones que beben agua de superficie, que no ha recibido tratamiento. Los datos muestran que 8 de cada 10 personas que viven en zonas rurales carecen de acceso a estos servicios, y en uno de cada cuatro países para diferentes grupos de riqueza, la cobertura de los servicios básicos de agua entre los más ricos, es por lo menos dos veces más, que entre los más pobres [98].

A nivel global, aproximadamente 842 000 personas mueren cada año, como consecuencia de un saneamiento de agua deficiente. Entre las principales enfermedades transmitidas por el agua, se encuentran: diarrea, gastroenteritis, fiebre tifoidea, cólera y hepatitis viral. La infancia es la etapa de mayor vulnerabilidad, ya que se registra la muerte de entre 800 y 1,000 niños al día y repercute en 156 millones que sufren retraso del crecimiento o malnutrición crónica [98].

Los principales contaminantes biológicos por la ingesta del agua, son los que se encuentran en heces fecales humanas e incluyen: bacterias, hongos, virus, protozoarios y helmintos. Estos microorganismos se multiplican en el intestino y se excretan en las heces; pueden sobrevivir fuera del cuerpo humano, en un medio acuático y en el suelo, desde donde contaminan el agua [48, 91, 96].

La *Escherichia coli* (*E. coli*) es un microorganismo indicador de contaminación y puede representar un serio peligro para la salud del hombre. *E. coli* es el microorganismo representante más destacado de la flora intestinal bacteriana. La mayoría de las cepas son inofensivas, mientras que algunos serotipos pueden provocar graves enfermedades [26, 62]. Los reservorios de este patógeno son el ganado bovino, rumiantes, aves, agua y alimentos contaminados con materia fecal [62].

En contraste, el género *Candida* existe en la naturaleza, en toda sustancia rica en hidratos de carbono simples. Son habitantes de zonas mucocutáneas, del aparato respiratorio y digestivo de animales domésticos y del hombre. Una dieta rica en dulces o frutas, representa un factor que controla el aumento de la población de *Candida* en el intestino. La *Candida albicans* (*C. albicans*) es el agente etiológico de la candidiasis, infección cosmopolita oportunista más frecuente en seres humanos, es una levadura comensal que provoca una infección superficial de la piel (micosis), infecciones nosocomiales de la mucosa oral e infección llamada algodoncillo (Herrera y Ulloa 1998); afecta a individuos de cualquier edad y sexo. El problema más común de contaminación de agua por *Candida albicans* se presenta en las piscinas, ya que, si el agua no se controla adecuadamente, representa un caldo de cultivo idóneo para diversas infecciones [68].

Por lo tanto, el agua limpia es absolutamente esencial para la salud pública, se requiere disponer de métodos que coadyuven a mejorar la calidad de ésta. La desinfección del agua, empleando un agente físico, biológico o químico, como la cloración, yodación y ozonación, contribuye a la eliminación de los microorganismos capaces de producir enfermedades [22]. Sin embargo, algunos de estos métodos tienen la desventaja de ser tóxicos, inestables y de alto costo, por lo que es necesario, buscar alternativas viables y eficaces para el tratamiento de agua, una de ellas es el uso de las zeolitas naturales acondicionadas con metales [49], debido a que su estructura tridimensional y su red cristalina tienen la particularidad de presentar una gran cantidad de cavidades, en las cuales están contenidos los iones, que pueden

sustituirse por iones metálicos con propiedades bactericidas y fungicidas tales como Ag y Zn.

En consecuencia, el objetivo del presente trabajo, fue modificar la zeolita natural del Estado de Oaxaca (México), con especies metálicas tanto de Ag como de Zn, a fin de obtener una zeolita bimetálica con propiedades bactericidas y microbicidas a la vez, eligiendo a *E. coli* y *C. albicans* como microorganismos indicadores de contaminación del agua. Los aspectos que se consideraron fueron el tipo de acondicionamiento para obtener la zeolita bimetálica; los microorganismos de manera individual y en consorcio; así como el tiempo de contacto entre las suspensiones de los microorganismos en agua de pozo y los materiales zeolíticos modificados.

El contenido del presente trabajo de investigación se divide en cinco capítulos.

En el capítulo 1, se describe la calidad del agua y el efecto en la salud pública, así como la importancia de la potabilización y desinfección del agua. Se mencionan las características de los microorganismos con los que se trabajó en este proyecto. Del mismo modo se aborda la importancia de las zeolitas, los tipos existentes y usos que se hace de este mineral, así como el acondicionamiento de las zeolitas con metales y las técnicas de caracterización que se emplean para su respectivo análisis.

El capítulo 2, contiene el planteamiento del problema, la justificación, hipótesis y objetivos del trabajo de investigación.

En el capítulo 3, se detalla la metodología experimental que fue desarrollada para alcanzar los objetivos propuestos.

Y en el capítulo 4, se encuentra el artículo titulado " *Antimicrobial evaluation in drinking water by Ag-Zn exchanged natural zeolite.* ", el cual ha sido enviado a una revista científica para su posible publicación.

Posteriormente, en el capítulo 5 se expone la discusión general de los resultados obtenidos, se presentan las conclusiones y sugerencias del trabajo de investigación.

Finalmente, el presente documento muestra las referencias consultadas.



## Capítulo 1

### 1. Antecedentes

#### 1.1 Calidad del agua

El agua libre de contaminantes biológicos y químicos es esencial para la salud pública y, por tanto, resultan necesarios procedimientos para controlar y comprobar la calidad del agua. El tratamiento del agua, que incluye la desinfección y la remediación de las aguas residuales, permite disponer de agua de alta calidad. Sin embargo, el agua está a veces en peligro incluso en los sistemas públicos de aguas residuales y de agua potable a gran escala. Los fallos en la calidad del agua provocan la difusión de importantes enfermedades infecciosas que pueden amenazar nuestras vidas [48].

El agua es con frecuencia una fuente potencial de enfermedades infecciosas y también de intoxicaciones químicas, puede originar efectos adversos a la salud de un número representativo de personas debido al crecimiento demográfico, desarrollo industrial y urbanización. Estos tres factores evolucionan rápidamente y se dan uno en función del otro. En décadas recientes miles de lagos, ríos y mares se han contaminado alarmantemente debido a las actividades humanas [51].

La pureza del agua es, por consiguiente, el factor individual más importante para asegurar la salud pública. Los métodos que normalmente se emplean para determinar la calidad del agua dependen de técnicas microbiológicas y químicas estandarizadas. Además de procedimientos físicos y químicos de purificación, el tratamiento del agua y las estrategias de purificación hacen uso de microorganismos para identificar, extraer y degradar las sustancias contaminantes. Incluso cuando el agua parece totalmente limpia y transparente puede estar contaminada con microorganismos patógenos y constituir un serio problema para la salud por lo que los suministros de agua deben ser analizados en cuanto a la presencia de microorganismos indicadores específicos, cuya existencia señala una posible contaminación con patógenos [48].

Un indicador muy empleado para la contaminación microbiana del agua es el grupo de los microorganismos coliformes. Los coliformes son indicadores útiles de contaminación microbiana porque muchos de ellos habitan en grandes cantidades el tracto intestinal del hombre y de otros animales. Por tanto, su presencia en el agua

indica contaminación fecal. Los coliformes son bacilos anaerobios facultativos, gramnegativos, no formadores de endosporas, que fermentan la lactosa con producción de gas a las 48 horas en una incubación a 36 °C. Esta definición operativa del grupo coliforme agrupa microorganismos que no están relacionados taxonómicamente. Muchos coliformes, sin embargo, son miembros del grupo de bacterias entéricas. Por ejemplo, el grupo coliforme incluye a *Enterobacter* que es normalmente inócua, al frecuente organismo intestinal *Escherichia coli* que sólo ocasionalmente es patógeno, y a *Klebsiella pneumoniae*, que es un patógeno menos frecuente que habita el intestino. En general, la presencia en una muestra de agua de coliformes totales, o especialmente de *E. coli*, indica una contaminación fecal que hace el agua no apta para el consumo humano. Cuando los coliformes se liberan al agua finalmente mueren, pero no tan rápidamente como algunos otros patógenos. El comportamiento de los coliformes y de los patógenos durante la purificación del agua es muy similar [48].

### 1.1.2 Pruebas para coliformes y para *Escherichia coli*

Se utilizan varias pruebas para determinar coliformes y *E. coli* en muestras de aguas. Todas se basan en el crecimiento de los organismos presentes en las muestras. Los métodos más comunes de recuento son el procedimiento del número más probable (MPN, del inglés most probable number) y el de la filtración por membrana (MF, del inglés membrane filter). El procedimiento del MPN usa medio de cultivo líquido en tubos a los que se añaden muestras de agua. El crecimiento en los tubos de cultivo indica que el agua está contaminada. En el procedimiento de la MF, se pasan al menos 100 ml del agua analizada a través de un filtro de membrana estéril, que atrapa las bacterias sobre la superficie de la membrana. El filtro se coloca luego sobre una placa con un medio de cultivo con eosina azul de metileno (EMB), que es un medio selectivo para organismos coliformes. Después de incubar, se cuentan las colonias y a partir de este valor se calcula el número de coliformes presentes en la muestra de agua original. Los métodos actuales con medios selectivos pueden detectar no sólo los coliformes totales, sino a la vez identificar específicamente a *E. coli*. Hay pruebas diseñadas con sustratos específicos que son en general más rápidas y exactas que

las pruebas clásicas con agar EMB. Estas pruebas se basan en la capacidad de los coliformes y de *E. coli* para metabolizar determinadas sustancias [48].

## 1.2 Salud pública

A pesar del control y prevención de enfermedades transmitidas por el agua, en muchos países se reportan aguas contaminadas con coliformes, lo que hace que la calidad del agua no sea la deseada. Si bien muchos países tienen agua en grandes cantidades, el aumento poblacional, la contaminación de las industrias, el uso excesivo de agroquímicos, la falta de tratamiento de aguas negras y la erosión de suelos por la deforestación hacen que ese recurso sea escaso. El agua pura es un recurso renovable, sin embargo, puede llegar a estar tan contaminada por las actividades humanas, que ya no sea útil, sino nociva, de calidad deficiente. La evaluación de la calidad del agua ha tenido un lento desarrollo. Hasta finales del siglo XIX no se reconoció el agua como origen de numerosas enfermedades infecciosas; sin embargo, es importante tanto la cantidad como la calidad del agua [17].

El agua hace posible un medio ambiente saludable, pero, también puede ser el principal vehículo de transmisión de enfermedades, ya que se ha contaminado con desechos humanos, animales o químicos [19]. Se considera que el agua está contaminada, cuando se ven alteradas sus propiedades químicas, físicas, biológicas o su composición, lo cual provoca la pérdida de su potabilidad [17].

## 1.3 Potabilización física y química del agua

Se denomina agua potable al agua "bebible" en el sentido que puede ser consumida por personas y animales sin riesgo de contraer enfermedades. El término se aplica al agua que ha sido tratada para su consumo humano según los estándares de calidad determinados por las autoridades locales e internacionales. Al proceso de conversión de agua común en agua potable se le denomina potabilización. Suele consistir en quitar los compuestos volátiles seguidos de la precipitación de impurezas con floculantes, filtración y desinfección con cloro u ozono [80].

Los tratamientos para potabilizar el agua, se pueden clasificar de acuerdo con los componentes o impurezas a eliminar, los parámetros de calidad y los grados de tratamientos de agua [80].

En tal sentido, se puede realizar una lista de procesos unitarios necesarios para la potabilización del agua en función de sus componentes:

Tabla 1. Procesos unitarios para la potabilización del agua en función de los contaminantes presentes.

---

<b>TIPO DE CONTAMINANTE</b>	<b>OPERACIÓN UNITARIA</b>
Sólidos gruesos	Desbaste
Partículas coloidales	Coagulación +Floculación +Decantación
Sólidos en suspensión	Filtración
Materia orgánica	Afino con Carbón Activo
Amoniaco	Cloración al Breakpoint
Gérmenes Patógenos	Desinfección
Metales no deseados (Fe, Mn)	Precipitación por Oxidación
Sólidos disueltos (Cl <sup>-</sup> , Na <sup>+</sup> , K <sup>+</sup> )	Osmosis Inversa

---

Fuente: Calidad y tratamiento del Agua, 2002. American Water Works Association

#### **1.4 Desinfección**

Fall, 2018 indica que la desinfección es un tratamiento que se emplea en la potabilización de aguas para destruir o inactivar principalmente los microorganismos patógenos, el objetivo de ésta es brindar protección a la salud humana. Existen diversos procesos de desinfección como los agentes químicos los cuales tienen un potencial de oxidación como el cloro, dióxido de cloro, ozono, bromo, yodo y

permanganato de potasio. También se cuentan con los agentes no químicos como el calor y la radiación UV.

La cloración es el método más común de desinfección. En dosis suficientes, el cloro mata a la mayoría de los microorganismos en 30 minutos, oxida y neutraliza eficazmente muchos compuestos orgánicos, mejorando el olor y el sabor.

Sin embargo todos los procesos de desinfección tienen notables desventajas tales como la producción de trihalometanos, poder limitado frente algunos virus y protozoarios muy resistentes, son caros e inestables y funcionales en pequeñas cantidades de agua. Por lo tanto, existe la necesidad de encontrar un desinfectante que cumpla con las siguientes características:

- No ser tóxico para el ser humano y animales
- Debe ser tóxico a bajas concentraciones para los microorganismos
- Debe ser soluble en el agua y tejido celular
- Eficaz a temperatura ambiente
- Formar una solución homogénea
- Conservar su acción en el tiempo
- No debe reaccionar con la materia orgánica
- Debe ser disponible y no costoso
- De fácil manipulación y poco peligroso
- Debe tener el poder de desodorizar a la vez
- Lograr una fácil penetración en las membranas bacterianas

Lamentablemente ninguno de los desinfectantes cumple con todos los requisitos. Encontrar al desinfectante ideal permite un gran avance en el estudio del tratamiento de aguas.

## 1.5 Contaminación biológica del agua potable e Infecciones

Con frecuencia, las enfermedades infecciosas se deben a la contaminación microbiana de materiales compartidos por muchos individuos. La vía más importante de enfermedades infecciosas con un origen común es el agua contaminada. Un fallo en cualquiera de los pasos del proceso de purificación del agua de bebida puede suponer la exposición de miles, o incluso de millones de individuos a un agente infeccioso. Las enfermedades transmitidas por el agua son una fuente importante de morbilidad y mortalidad, sobre todo en países no desarrollados [48].

Las fuentes de contaminación del agua pueden ser naturales o artificiales, la contaminación natural es generada por el ambiente, y la artificial por las actividades humanas. La importancia que ha cobrado la calidad del agua ha permitido evidenciar que entre los factores o agentes que causan su contaminación están: agentes patógenos, desechos que requieren oxígeno, sustancias químicas orgánicas e inorgánicas, nutrientes vegetales que ocasionan crecimiento excesivo de plantas acuáticas, sedimentos o material suspendido, sustancias radioactivas y el calor [80].

El presente estudio se enfoca principalmente en el análisis de agua contaminada intencionalmente con *Escherichia coli* ATCC-25922 y *Candida albicans* ATCC-10231, considerados como indicadores de contaminación biológica.

## 1.6 *Escherichia coli* (*E. coli*)

*Escherichia coli* (*E. coli*) es un microorganismo indicador de contaminación biológica y puede representar un serio peligro para la salud humana. *E. coli* es el microorganismo representante más destacado de la flora intestinal bacteriana. La mayoría de las cepas son inofensivas, mientras que algunos serotipos (patotipos: Enterotoxigénicas, Enteroinvasivas, Enterohemorrágicas, Enteroagregativas, Enteropatógenas) pueden provocar graves enfermedades [26, 62]. Los reservorios de este patógeno son el ganado bovino, rumiantes, mamíferos, aves, muchos otros más animales, agua y alimentos contaminados con materia fecal [62].

*Escherichia coli* es un bacilo Gram negativo, anaerobio facultativo no formador de esporas, móvil por flagelos, aunque existen cepas inmóviles. Este género y especie pertenece a la Familia *Enterobacteriaceae*, Generalmente fermenta lactosa, posee lisina descarboxilasa, produce indol. Se encuentra en una concentración de entre  $10^7$ - $10^8$  organismos vivos por gramo de heces fecales [112].

### **1.7 *Candida albicans***

*Candida albicans* es una levadura, hongo unicelular, no filamentoso que se reproduce principalmente por gemación y ocasionalmente por fisión binaria. Pertenece a la subdivisión Deuteromicota. Presenta una forma pseudofilamentosa, las células se alargan sin desprenderse, siendo este tipo de morfología intermedia entre una cadena de células de levadura y una hifa (Dimorfismo) [35].

El género *Candida* existe en la naturaleza, en toda sustancia rica en hidratos de carbono simples. Son habitantes de zonas mucocutáneas, del aparato respiratorio y digestivo de animales domésticos y del hombre; en éste último tiene una pequeña población y otros miembros de la microbiota intestinal (lactobacilos y bacterias anaerobias). Una dieta rica en dulces o frutas, son factores que controlan el aumento de la población en el intestino. La *Candida albicans* es el agente etiológico de la candidiasis, infección cosmopolita oportunista más frecuente en seres humanos, es una levadura comensal que provoca una infección superficial de la piel (micosis), infecciones nosocomiales de la mucosa oral, infección llamada algodoncillo [35]; afecta a individuos de cualquier edad y sexo.

El agua contaminada con heces humanas y animales, es un vehículo para la transmisión de microorganismos, que puede ser responsable de enfermedades mortales, especialmente en áreas rurales y otros asentamientos informales, en donde los habitantes dependen totalmente de fuentes de agua potable. Las enfermedades diarreicas agudas siguen siendo un problema importante de salud pública en los países en desarrollo, en donde los más afectados, son los grupos con poco financiamiento y falta de instalaciones higiénicas [13].

## 1.8 Zeolitas

Las zeolitas son aluminosilicatos cristalinos hidratados, que pueden ser de origen natural o sintético. Las zeolitas naturales se forman, como resultado de las erupciones volcánicas mediante reacciones hidrotérmicas de rocas volcánicas de silicio y ricas en álcalis. Los antecedentes geológicos sugieren, que las zeolitas se generan a partir de un magma basáltico rico en  $\text{SiO}_2$ , cuando sufre una violenta caída de temperatura [88].

El término "zeolita" fue utilizado inicialmente para designar a una familia de minerales naturales que presentaban, propiedades particulares, el intercambio de iones y la deshidratación reversible de agua. Esta última propiedad dio origen al nombre genérico de zeolita, el cual deriva de dos palabras griegas, zeo: que ebulle, y lithos: piedra [31].

Las zeolitas están conformadas por tetraedros de  $[\text{SiO}_4]^{4-}$  y  $[\text{AlO}_4]^{5-}$ . La sustitución isomórfica del de  $\text{Si}^{4+}$  por  $\text{Al}^{3+}$  da origen a una deficiencia de carga negativa, la cual se compensa con cationes tales como  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ , entre otros. + [11]. Además, las zeolitas forman redes tridimensionales abiertas que, en general, se ordenan en canales de tamaño de orden molecular [11].

Estas dos características les confieren numerosas propiedades, entre las que destacan la adsorción de gases y vapores y el intercambio de iones. Estas propiedades, y otras relacionadas han motivado que las zeolitas se utilicen ampliamente como materiales de investigación [11].

Las zeolitas, de manera general, están compuestas por aluminio, silicio, sodio, calcio, magnesio, potasio y agua. Las propiedades físicas, proveen aspectos únicos para una variedad amplia de aplicaciones prácticas.

Las zeolitas presentan las siguientes propiedades [11]:

- a) Alto grado de hidratación
- b) Baja densidad y un gran volumen cuando se deshidrata



- c) Estabilidad
- d) Intercambio catiónico
- e) Canales moleculares uniformes
- f) Adsorbentes
- g) Catalíticas

Se han caracterizado, aproximadamente 40 zeolitas que existen en la naturaleza, pero en la búsqueda de nuevos materiales se han desarrollado más de 130 estructuras sintéticas [97]. En la Tabla 2 se muestra la clasificación de algunas zeolitas naturales [10].

Tabla 2. Clasificación de las zeolitas naturales

Clasificación	Fórmula molecular	Volumen de poro cm <sup>3</sup> H <sub>2</sub> O/cm <sup>3</sup> cristal
<b>Grupo de las analcimas</b>		
Analcimas	Na <sub>16</sub> (Al <sub>16</sub> Si <sub>32</sub> O <sub>96</sub> ) 16H <sub>2</sub> O	0.18
Wairakita	Ca <sub>8</sub> (Al <sub>16</sub> Si <sub>32</sub> O <sub>96</sub> ) 16H <sub>2</sub> O	0.18
Keucita	K <sub>16</sub> (Al <sub>16</sub> Si <sub>32</sub> O <sub>96</sub> )	0
<b>Grupo de las natrolitas</b>		
Natrolita	Na <sub>16</sub> (Al <sub>16</sub> Si <sub>24</sub> O <sub>80</sub> ) 16H <sub>2</sub> O	0.21
Edingtonita	Ba <sub>2</sub> (Al <sub>4</sub> Si <sub>6</sub> O <sub>20</sub> ) 6H <sub>2</sub> O	0.35
Thomsonita	Na <sub>4</sub> (Al <sub>20</sub> Si <sub>20</sub> O <sub>80</sub> ) 24H <sub>2</sub> O	0.32
<b>Grupo de las Filipsitas</b>		
Filipsita	(K, Na) <sub>5</sub> (Al <sub>3</sub> Si <sub>11</sub> O <sub>32</sub> ) 10H <sub>2</sub> O	0.30
Garronita	NaCa <sub>2.5</sub> (Al <sub>6</sub> Si <sub>10</sub> O <sub>32</sub> ) 14H <sub>2</sub> O	0.41
Gismondina	Ca <sub>4</sub> (Al <sub>8</sub> Si <sub>8</sub> O <sub>32</sub> ) 16H <sub>2</sub> O	0.47
<b>Grupo de las heulanditas</b>		
Heulandita	Ca <sub>4</sub> (Al <sub>8</sub> Si <sub>28</sub> O <sub>72</sub> ) 24H <sub>2</sub> O	0.35
Clinoptilolita	Na <sub>6</sub> (Al <sub>6</sub> Si <sub>30</sub> O <sub>72</sub> ) 24H <sub>2</sub> O	0.34
Estilbita	Na <sub>2</sub> Ca <sub>4</sub> (Al <sub>10</sub> Si <sub>26</sub> O <sub>72</sub> ) 32H <sub>2</sub> O	0.38
<b>Grupo de las modernitas</b>		

**Sobrevivencia de *Escherichia coli* y *Candida albicans* presentes en agua potable frente a zeolita natural modificada con Ag-Zn**

---

Modernita	$\text{Na}_8 (\text{Al}_8 \text{Si}_{40} \text{O}_{96}) 24\text{H}_2\text{O}$	0.26
Ferrierita	$\text{Na}_{1.5} \text{Mg}_2 (\text{Al}_8 \text{Si}_{40} \text{O}_{96}) 18\text{H}_2\text{O}$	0.24
Epistilbita	$\text{Ca}_3 (\text{Al}_6 \text{Si}_{18} \text{O}_{48}) 16\text{H}_2\text{O}$	0.34
<b>Grupo de las Chabacitas</b>		
Chabacita	$\text{Ca}_2 (\text{Al}_4 \text{Si}_8 \text{O}_{24}) 13\text{H}_2\text{O}$	0.48
Erionita	$(\text{Ca}, \text{Mg}, \text{Na}, \text{K})_{4.5} (\text{Al}, \text{Si}_{27} \text{O}_{72}) 27\text{H}_2\text{O}$	0.36
Zeolita L	$\text{K}_6 \text{Na}_5 (\text{Al}_9 \text{Si}_{27} \text{O}_{72}) 21\text{H}_2\text{O}$	0.28
<b>Grupo de las faujasitas</b>		
Faujasitas (X, Y)	$\text{Na}_{12} \text{Ca}_{12} \text{Mg}_{12} (\text{Al}_{59} \text{Si}_{155} \text{O}_{584}) 26\text{H}_2\text{O}$	0.53
Zeolita A	$\text{Na}_{12} (\text{Al}_{12} \text{Si}_{12} \text{O}_{48}) 27\text{H}_2\text{O}$	0.47
Zeolita ZK-5	$\text{Na}_{10} (\text{Al}_{30} \text{Si}_{66} \text{O}_{192}) 98\text{H}_2\text{O}$	0.45
<b>Grupo de las Laumontitas</b>		
Laumontita	$\text{Ca}_4 (\text{Al}_8 \text{Si}_{16} \text{O}_{48}) 16\text{H}_2\text{O}$	0.35
Yugawaralita	$\text{Ca}_4 (\text{Al}_8 \text{Si}_{16} \text{O}_{48}) 16\text{H}_2\text{O}$	0.30
<b>Grupo de las Pentasil</b>		
Zeolita ZSM-5	$\text{Na}_n (\text{Al}_n \text{Si}_{96n} \text{O}_{192}) 16\text{H}_2\text{O}$	0.32
Zeolita ZSM-11		

Del grupo de las Heulanditas, la clinoptilolita presenta una buena capacidad de unión de metales y es una de las zeolitas naturales más abundantes. Su morfología con una estructura de ocho a diez anillos, presenta canales de fácil acceso; y debido a que se encuentra en diversas regiones, su composición varía y a su vez el comportamiento de intercambio iónico [10].

El estudio de las zeolitas naturales en México, data de aproximadamente 20 años [52]. La historia de las Zeolitas Naturales en México está estrechamente relacionada con el intenso trabajo de búsqueda del Dr. Frederick Mumpton, quien hizo el primer

reporte de yacimientos de zeolitas en rocas sedimentarias en México (1973) y que al descubrir el primer yacimiento importante de zeolitas en Oaxaca (1975), dio inicio junto con el Dr. Liberto de Pablo (1975, 1978, 1986, 1996), a la prospección de nuevos yacimientos en el país y sobre todo, a la investigación de los nuevos materiales encontrados en cuanto a propiedades y aplicaciones [52].

Las zeolitas se utilizan en [78]:

- a) Cargas en la industria del papel para la mejora de la calidad de impresión, relleno de poros y fibras, aporte de brillo, opacidad, retención y blancura.
- b) Áridos ligeros en construcción.
- c) Intercambiadores iónicos en purificación de aguas.
- d) Descontaminantes de residuos sólidos, líquidos y gaseosos.
- e) Catalizadores y soportes de catalizadores mediante: craqueo catalítico, hidro craqueo, hidroisomerización, transformación del metanol en gasolina, alquilación, isomerización de aromáticos, polimerización, síntesis orgánica y química inorgánica.
- f) Soportes de fertilizantes y acondicionadores de suelos en sistemas de zeopónicos.
- g) Adsorbentes resistentes a los ácidos en secado de gases.
- h) Trampas para isótopos en efluentes líquidos de instalaciones nucleares y como materiales de relleno y cubierta de residuos radioactivos en sus almacenamientos.
- i) Como retenedor-distribuidor del óxido nítrico (NO) en el organismo humano, para la estabilización de la tensión arterial, tratamiento de la trombosis (coagulación en los vasos sanguíneos).
- j) Como antibióticos, así como para el control de enfermedades renales.
- k) Como intercambiadores iónicos mediante: ablandamiento de aguas industriales y domésticas (remoción de  $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{Mg}^{2+}$ ); eliminación de iones de  $\text{NH}_4^+$  del agua residual; soporte de fertilizantes y drogas medicinales; y en el almacenamiento de desechos radiactivos.
- l) En la fabricación de vidrios sódico-cálcicos.

- m) En la fabricación de cosméticos y en la industria de los fármacos para la elaboración de productos donde actúan como sustancias portadoras-liberadoras de principios activos.
- n) Adsorción e intercambiador catiónico.

México tiene la preminencia de que el 50 % del territorio nacional está formado por secuencias volcánicas del tipo plioceno, la cuales afloran extensivamente en estados del noroccidente (Sonora, Sinaloa, Chihuahua, Durango) y occidente de México (Jalisco y Nayarit), en México central (Zacatecas, Guanajuato, San Luis Potosí, Querétaro, Hidalgo) y sur de México (Guerrero, Oaxaca) [63]; por lo tanto, es de esperarse que en nuestro país existan grandes yacimientos de zeolitas naturales, en su mayoría del tipo clinoptilolita.

Es importante señalar que las zeolitas naturales acondicionadas con metales [56], pueden ser un material viable y eficaz en el tratamiento de agua, debido a su gran capacidad de intercambio iónico, logrando beneficios como:

- i) La reducción de la contaminación ambiental en las aguas residuales industriales y municipales; ii) el proceso de reducción de la dureza del agua; iii) el mejoramiento de la productividad agrícola, como fertilizantes [18].

#### *1.8.1 Zeolitas acondicionadas con Plata*

Se han realizado diversas investigaciones relacionadas con zeolitas intercambiadas con metales y su actividad antimicrobiana. Hay varios trabajos publicados que han reportado zeolitas que soportan iones como Ag, Cu, Zn, Hg, Sn, Pb, Bi, Cd, Cr, Ti [94], esta propiedad de las zeolitas las hace altamente funcional en procesos de intercambio iónico, catálisis y adsorción. Sin embargo, en los procesos de purificación de agua es una técnica prometedora debido a que la calidad del agua que ingresa a la desinfección cambia según los procesos naturales o las actividades antropogénicas. Estudios anteriores han revelado que los iones Ag pueden inhibir una gran variedad de microorganismos [69].

Chiericatti *et al.* (2014) emplearon mordenita intercambiada con iones plata, para describir sus propiedades antifúngicas. Inoue (2002) encuentra que la actividad bactericida de la zeolita de plata, se ve favorecida en presencia de radicales hidroxilos, estos radicales se forman por la reducción de peróxido de hidrógeno. Shi *et al.* (2013), fabricaron una membrana antibacterial que contenía zeolitas intercambiadas con plata. Mientras que Nagy *et al.* (2011); Flores-López *et al.* (2012) y Rai *et al.* (2009), emplean las zeolitas intercambiadas con plata para la generación de nanopartículas y para evaluar su efecto antimicrobiano

### 1.8.2 Zeolitas Acondicionadas con Zinc

El Zn y otros metales han sido reconocidos con propiedades antimicrobianas y se han utilizado para prevenir infecciones antes de los antibióticos [105, 111].

Pérez y Calaña en 1995, realizaron un estudio con 40 pacientes que padecían onicomicosis. A dichos pacientes se les realizó una intervención quirúrgica seguida de la aplicación local de zeolita esterilizada. Dicho estudio se realizó en el Servicio de Dermatología del Hospital Provincial Clínico quirúrgico "Celia Sánchez Manduley" en el período comprendido entre mayo de 1992 y mayo de 1993, en la Habana Cuba. El 30% de la onicomicosis correspondió a candidiasis ungueal y el 70% a tiña ungueal. Se observaron resultados excelentes en el 96,8% de los casos. El tiempo mínimo de curación fue de 3 meses y el máximo de observación de 6 meses.

En este estudio se demostró la capacidad de la zeolita para adsorber grandes cantidades de agua, cambiar el pH y el intercambio iónico [71].

A partir de la zeolita natural cubana (clinoptilolita-heulandita) procedente del yacimiento de Tasajeras, en la provincia de Villa Clara, se obtuvo un producto activo zeolítico denominado ZZ. El proceso de obtención se realizó mediante el intercambio iónico en condiciones hidrotermales, lo que permitió la inclusión de iones zinc ( $Zn^{+2}$ ) en su composición iónica. La caracterización del principio activo obtenido y su comparación con la zeolita natural de partida, permitieron comprobar que la técnica que se utilizó no provocó cambios estructurales. Por tanto, dicho producto responde

a la misma clinoptilolita-heulandita de origen, con la única diferencia que aparece el elemento zinc en su composición química. Se determinó que este principio activo zeolítico tiene una marcada actividad antimicrobiana frente a 27 cepas, que incluyen bacterias Gram (+), Gram (-) y varias cepas de *Candida albicans*.

Con la técnica desarrollada se produjeron varios lotes de ZZ a nivel de laboratorio y a escala industrial, los cuales cumplieron con todos los parámetros de calidad exigidos para su generalización en producciones farmacéuticas. Posteriormente, se desarrollaron con este principio activo dos medicamentos de uso externo, en forma de ungüento y tabletas vaginales. Los dos medicamentos ofrecieron ventajas económicas sobre otros similares [70].

Por lo que se ha sugerido el óxido de zinc (ZnO) para luchar contra el crecimiento indeseable de bacterias y hongos [54, 86].

En México se tienen los trabajos realizados por Rivera (2000), De la Rosa (2001) y Burrola (2004), quienes determinaron el efecto antibacteriano de zeolitas naturales mexicanas intercambiadas con plata, cobre o zinc, frente a bacterias patógenas oportunistas e indicadoras de contaminación fecal. En estos trabajos se encontró que los materiales zeolíticos poseen actividad microbicida, del orden de 99% bajo las condiciones experimentales propuestas.

Sin embargo, aún no se tienen reportes de una evaluación de sobrevivencia de *Escherichia coli* y *Candida albicans* en consorcio frente a una zeolita natural modificada con Ag y Zn, para comparar el comportamiento, en términos de eficiencia de desinfección y cinética del proceso, cuando se parte de los microorganismos de manera individual.

### **1.9 Plata como desinfectante**

La plata ha sido empleada como agente antibacterial a lo largo de la historia y en diversas ramas de la industria, entre ellas en aplicaciones biomédicas. Fue en la época de los 40's cuando la revolución de los antibióticos inició y con ello el uso de la plata con fines terapéuticos se redujo. Sin embargo, años después surgen cepas

resistentes a antibióticos que en la actualidad son tratadas con una gran cantidad de antimicrobianos entre ellos penicilina, vancomicina y tetraciclinas, quienes exhiben eficacia y a su vez comparten responsabilidad en el desarrollo de las resistencias [2, 57]. A medida que aumenta la cantidad de antibióticos a los que los microorganismos son resistentes, ha aumentado el interés en el uso de metales, principalmente la plata, como agentes bactericidas [37, 75].

Uno de los mecanismos por el cual la plata inhibe el crecimiento bacteriano, se lleva a cabo a partir de la unión de los átomos de  $Ag^+$  con los grupos tiol ( $-SH$ ). En la Tabla 2, se muestra la afinidad de la plata a polisacáridos sulfatados y aminoácidos. Estas moléculas son las principales constituyentes de enzimas respiratorias y la unión de la plata a estos grupos propicia su inactivación, al inhibir la incorporación de fosfatos y liberando manitol, succinato, prolina y glutamina de la célula [75].

Tabla 3. Grupos funcionales de unión involucrados en la biosorción de plata [101].

<b>Grupo de unión</b>	<b>Fórmula estructural</b>	<b>pKa</b>	<b>Átomo Ligando</b>	<b>Ocurrencia en biomoléculas seleccionadas</b>
Sulfidril (Tiol)	-SH	8.3 y 10.3	S	Aminoácidos (AA)
Sulfonato	$\begin{array}{c} O \\    \\ S-O^- \\   \\ O^- \end{array}$	1.3	O	Polisacáridos Sulfatados (SPS)

Las especies de plata que forman enlaces estables S-Ag con compuestos que contienen grupos tiol en la membrana celular, interrumpe la generación de energía transmembranal y el transporte de iones al interior de la célula. Además, forman parte de la acción catalítica de oxidación que da como resultado enlaces disulfuro (R-S-S-R) los cuales modifican la forma de la célula. Estos enlaces pueden modificar estructuras proteicas y enzimáticas de vital importancia tales como ribosomales o

relacionadas con la respiración celular y generación de ATP, lo que puede ocasionar la muerte de la célula [25, 44, 75].

Hossain et al. (2014) y Eckhardt et al. (2013) proponen que las nanopartículas de plata se acumulan en la pared celular bacteriana. Se unen al ácido desoxirribonucleico, interactúan con enzimas y proteínas de membrana y forman especies reactivas de oxígeno (ROS por sus siglas en inglés) inducidas por plata.

Las ROS son oxidantes reactivos de vida corta, los cuales incluyen al radical superóxido, radical hidroxilo (OH), peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) y oxígeno (O<sub>2</sub>).

Estos pueden ser generados dentro o fuera de la célula producto del metabolismo aerobio y su producción depende del ambiente al que están expuestos y la toxicidad del oxígeno ocurre, cuando el estrés oxidativo supera los sistemas de defensa de la célula [25].

### **1.10 Zinc como antimicótico**

La terapia contra los hongos ha estado presente desde principios del siglo XIX. Algunos tratamientos, tales como los basados en compuestos de zinc, han perdurado a través del tiempo, por su efectividad, escasos efectos colaterales y bajo costo [9].

Además de su actividad antimicrobiana y antimicótica, el zinc es un nutrimento indispensable en el organismo humano (se recomienda la ingesta de 15 mg/día), y su deficiencia o excesiva exposición (inhalación, oral o dérmica) pueden ocasionar problemas de salud.

El zinc es necesario para la correcta función de un gran número de metaloenzimas. Dentro de estas enzimas se encuentran: alcohol deshidrogenasa, fosfatasa alcalina, anhidrasa carbónica, leucinaminopeptidasa, superoxidodismutasa, ácido desoxirribonucleico (DNA) y ácido ribonucleico (RNA) polimerasa. De la misma manera, el zinc es requerido para un metabolismo normal de los ácidos nucleicos, proteínas y membrana, así como para el crecimiento y división celular. De acuerdo al Department of health and human services, su deficiencia ha sido asociada con



dermatitis, anorexia, crecimiento retardado, lenta cicatrización de heridas, hipogonadismo con capacidad reproductiva disminuida, función inmunológica disminuida, baja función mental y un incremento en la incidencia de malformaciones congénitas y problemas durante el embarazo. Y así como la deficiencia de zinc ha sido asociada con efectos adversos, la sobreexposición al zinc se ha asociado con efectos tóxicos, tales como: fiebre, leucocitos elevados en sangre, disminución de la función pulmonar y fluido broncoalveolar, al inhalar altas concentraciones de vapores de óxido de zinc; dolor abdominal, vómito, anemia, daños en el páncreas y decremento de colesterol, después de exposición oral e irritación de leve a severa como respuesta a exposición dérmica.

Por lo tanto, los materiales zeolíticos son empleados como intercambiadores iónicos, debido a su composición de redes tridimensionales tetraédricas. Esta red permite el acomodo de moléculas de tamaño diverso entre ellas fármacos y a su vez permite la liberación de estas moléculas con la capacidad oligodinámica propia de las zeolitas. Para conocer una aproximación del mecanismo mediante el cual se lleva a cabo el proceso de desinfección, los resultados se ajustan a modelos matemáticos.

### 1.11 Modelo de Chick

En el presente estudio la velocidad de inhibición microbiana y los parámetros cinéticos de la desinfección de agua de pozo por la zeolita natural acondicionada con plata y zinc, se ajustan al modelo de Chick.

En el modelo de Chick, la inactivación de un microorganismo se representa en una cinética de primer orden, considerando que la concentración del desinfectante es constante [15]. La forma linearizada de este modelo, se expresa mediante la siguiente ecuación.

$$\ln\left(\frac{N_t}{N_0}\right) = -kt$$

En dónde:

$N_t$  = concentración de microorganismos en el tiempo  $t$  (número de bacterias o levaduras/volumen)

$N_0$  = concentración inicial de microorganismos (número de bacterias y levaduras/volumen)

$k$  = constante cinética, que muestra la velocidad de decaimiento celular (1/tiempo)

$t$  = tiempo

## 1.12 Técnicas de caracterización

### 1.12. 1 Microscopía Electrónica de Barrido (MEB) y Espectroscopia de Energía Dispersiva de rayos-X

La microscopía electrónica de barrido (MEB) y análisis elemental por espectroscopia de rayos X de Energía Dispersa (EDS) se emplea para conocer la morfología y composición elemental de los materiales. El fundamento de la microscopía electrónica de barrido, SEM, radica en que los electrones emitidos por un cátodo de tungsteno pasan a través de una columna en la que se ha hecho un vacío alrededor de  $10^{-7}$  Torr. En ella el haz inicial es concentrado por una serie de lentes electromagnéticas que producen una disminución de su diámetro hasta hacerse casi puntual (hasta unos 10 nm). Al mismo tiempo, la intensidad de corriente se disminuye, lo que implica una menor cantidad de electrones primarios. El haz de electrones con estas últimas características, es desplazado sobre toda la superficie de la muestra a modo de un pincel que va barriendo la muestra con continuas idas y venidas [100].



Fig. 1. Esquema de microscopio electrónico donde se muestra las componentes principales [100].

Las imágenes que se obtienen en el microscopio electrónico de barrido corresponden a electrones secundarios o electrones retro dispersados emitidos tras la interacción con la muestra del haz incidente de entre 5 y 30 KeV. El haz de electrones se desplaza sobre la muestra realizando un barrido en las direcciones X e Y de tal modo que la posición en la que se encuentra el haz en cada momento coincide con la aparición de

brillo, proporcionalmente a la señal emitida, en un determinado punto de la pantalla. Esta particularidad otorga a esta señal la posibilidad de aportar información “en relieve”. La emisión de electrones retro dispersados depende fuertemente del número atómico de la muestra. Esto implica que dos partes de la muestra que tengan distinta composición se revelan con distinta intensidad, aunque no exista ninguna diferencia de topografía entre ellas.

Los rayos X que se generan en una muestra sometida a bombardeo electrónico permiten identificar los elementos presentes y establecer su concentración [100].

### *1.12. 2 Espectroscopia fotoelectrónica de rayos-X.*

La Espectroscopia Fotoelectrónica de rayos X (X ray Photoelectron Spectroscopy), es una técnica de análisis químico superficial virtualmente aplicable a todas aquellas muestras estables en condiciones de Ultra Alto Vacío (UAV). Actualmente representa una de las más importantes técnicas de caracterización de superficies de materiales. Es esencial en la determinación de la composición química, tanto desde el punto de vista cualitativo como cuantitativo de la superficie de diferentes materiales, estos involucran cerámicos, microelectrónicos, semiconductores, plásticos y polímeros, catalizadores, repuestos, partes mecánicas, entre otros [79].

### *1.12. 3 Área superficial específica por la técnica de BET multipuntos*

El método BET se basa en el cálculo del número de moléculas de adsorbato, en este caso de nitrógeno, adsorbidas en monocapa, es decir, el número de moléculas necesario para cubrir la pared del sólido con una única capa. Al ponerse en contacto un gas con la superficie de un sólido se produce un equilibrio entre las moléculas adsorbidas y las moléculas en fase gaseosa, que depende de la presión del gas y de la temperatura. La relación entre las moléculas adsorbidas y la presión a temperatura constante se puede recoger en una isoterma de adsorción. Estas isotermas informan directamente el volumen adsorbido a una determinada presión y permiten también calcular el área superficial del sólido, el tamaño y forma de poro, su distribución, los

calores de adsorción, etc. Hay seis isothermas de adsorción estándares para gases en sólidos como se muestra en la Fig. 2.

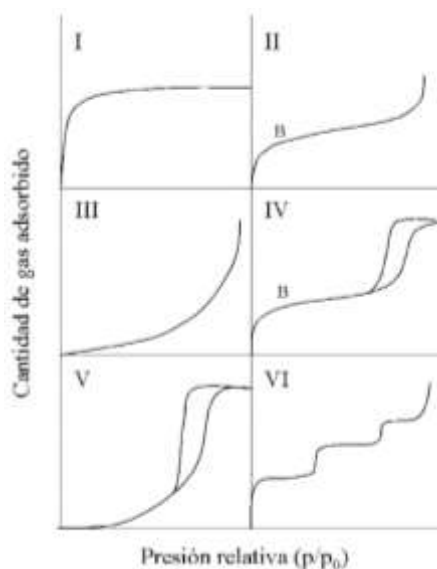


Fig. 2. Isothermas de adsorción [76].

El tipo I, se asocia con sólidos microporosos que tienen superficies externas relativamente pequeñas (por ejemplo, carbón activado, zeolitas moleculares y ciertos tipos de óxidos). La cantidad limitante de adsorción es gobernada por el volumen accesible de micro poros en lugar del área superficial interna.

El tipo II, es la forma normal de una isoterma obtenida con un material adsorbente no poroso o macroporoso. Este tipo de isoterma representa una adsorción monocapa-multicapa. El punto B de la Figura 2. es usualmente interpretado como la formación completa de la monocapa y el inicio de una adsorción en multicapas.

El tipo III, no es muy común, pero hay un número de sistemas (por ejemplo, nitrógeno en polietileno) que dan isothermas con curvatura gradual. Indica interacciones adsorbato-adsorbentes débiles.

El tipo IV, se caracteriza por una curva de histéresis causada por condensación capilar en mesoporos. Este tipo de isothermas se da en muchos adsorbentes mesoporosos industriales.

Una isoterma tipo V no es común. Está relacionada a la isoterma tipo III en donde las interacciones adsorbato-adsorbente son débiles. Se obtiene con ciertos adsorbentes porosos. Una isoterma tipo VI, donde la forma de los escalones depende del sistema y la temperatura, representa una adsorción en multicapas sobre una superficie uniforme no porosa [76].

## Capítulo 2

### 2.1. Planteamiento del Problema

La Organización Mundial de la Salud (2018), indica que el agua contaminada y el saneamiento deficiente, están relacionados con la transmisión de enfermedades como el cólera, la disentería, la hepatitis A, la fiebre tifoidea y la poliomielitis. Los servicios de agua y saneamiento inexistentes, insuficientes o gestionados de forma inapropiada, exponen a la población a riesgos prevenibles para su salud.

La gestión inadecuada de las aguas residuales urbanas, industriales y agrícolas conlleva que el agua que beben cientos de millones de personas se vea peligrosamente contaminada. Se calcula, que unas 842 000 personas mueren cada año de diarrea, como consecuencia de la insalubridad del agua, de un saneamiento insuficiente o de una mala higiene de las manos [102]. Sin embargo, la diarrea se puede prevenir y con ello la muerte de unos 361 000 niños menores de cinco años, si se abordaran estos factores de riesgo [103]. La diarrea es la enfermedad más conocida que guarda relación con el consumo de alimentos o agua contaminados.

El aspecto más importante para mejorar la salud de las personas, es proporcionar a las comunidades agua limpia. En este siglo XXI se estima que 1.1 billones de personas de todo el mundo, todavía no tienen acceso al agua potable, especialmente en zonas rurales y comunidades de bajos ingresos [102].

El agua potable es esencial para la salud del hombre, por lo que es necesario disponer de métodos para tener agua de calidad, desafortunadamente ésta puede verse alterada fácilmente, siendo la fuente de las enfermedades infecciosas más importante.

Cabe destacar que actualmente, se desarrollan investigaciones para contribuir a la desinfección del agua, ya que éstas tienen como objetivo la eliminación de microorganismos patógenos, la Tabla 4 resume los métodos existentes.

Tabla 4. Ventajas y desventajas de los métodos de desinfección del agua (Fall, 2018).

<b>Método</b>	<b>Ventaja</b>	<b>Desventaja</b>
<b>Cloro</b>	Disponibilidad, económico, estabilidad.	THM, poder limitado frente algunos virus y protozoarios muy resistentes
<b>Ozono</b>	Más poderoso y sin producir THM	Caro e inestable
<b>Dióxido de cloro</b>	Más poderoso que el cloro	Caro e inestable
<b>Calor</b>	Esterilizar	≠ desinfección y caro
<b>UV</b>	Inactivación rápida y eficiente de los microorganismos	Pequeñas cantidades de agua
<b>Zeolitas</b>	No tóxico, eficaz a temperatura ambiente, disponible y no costoso, fácil de manipulación y poco peligroso, estabilidad	Aún son materia de estudio

Recientemente han surgido nuevos proyectos, a fin de encontrar un agente microbicida eficiente, basado en zeolitas, para el tratamiento del agua contaminada con microorganismos patógenos ya que las zeolitas son un grupo de compuestos con infinidad de aplicaciones y usos, tanto a escala doméstica, como a escala industrial o de investigación. Sus características las hacen materiales muy versátiles en cuanto a la finalidad de su uso.



## 2.2. Justificación

El tratamiento de aguas es un componente esencial dentro de los servicios que el sector del saneamiento brinda a la sociedad. Durante siglos, el saneamiento consistió principalmente en llevar aguas limpias a las ciudades y a la vez transportar los desechos fuera de las comunidades para descargarlos en el medio natural. Sin embargo, con el incremento de la población en las ciudades como resultado de la Revolución Industrial en el siglo XIX, esta práctica no pudo sostenerse. La ocurrencia de enfermedades que trascendieron en epidemias impulsó la necesidad del desarrollo e implementación de tecnologías para el tratamiento de aguas desde los inicios del siglo XX. [62]

La contaminación microbiológica de agua de consumo humano es preocupante. Se ha documentado la existencia de enfermedades de origen hídrico, por la presencia de microorganismos patógenos (bacterias indicadoras de contaminación fecal, *Pseudomona aureginosa*, *Legionella pneumophilia*, *Acanthamoeba*, por mencionar algunas). De los 3.575 millones de muertes referentes a agua, saneamiento e higiene, el 42.6% se deben a la diarrea y representan más de 4 billones del producto bruto, a nivel mundial [113].

La enfermedad diarreica aguda es un problema de salud pública en el mundo, pero sobre todo en los países en desarrollo como México. La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que esta enfermedad origina 1.5 millones de muertes de niños al año, relacionadas con agua contaminada y saneamiento inadecuado. México se encuentra en los primeros lugares a nivel mundial de mortalidad en menores de 5 años [77].

Debido a esta problemática, los procesos de desinfección de agua son de gran importancia, para garantizar la salud de la población. Los procesos más utilizados en la desinfección de agua son la cloración, radiación UV, ozonificación, osmosis inversa y los procesos físicos llamados operaciones unitarias. A pesar de ello, estos procesos generan subproductos tóxicos para el ser humano, además de ser procesos caros. Por esta razón, surgen nuevos proyectos a fin de encontrar un agente microbicida eficiente.

Las zeolitas por sus características y propiedades se estudian para el tratamiento del agua contaminada con microorganismos patógenos, considerando aspectos importantes tales como características estructurales de las zeolitas, el tipo de ion metálico y su concentración en la red cristalina de los materiales, el tipo de microorganismo, la calidad del agua a tratar, entre otros. Una de las zeolitas más abundantes es la clinoptilolita, no obstante, las investigaciones sobre sus propiedades, ha sido muy limitado. Para la investigación detallada de este mineral, es preciso el conocimiento de las características estructurales y morfológicas de su fase pura, pues en la naturaleza ocurren como mezclas con otras fases zeolíticas como la heulandita y mordenita, además de otros silicatos, lo que dificulta la comprensión del comportamiento del material [30].

El uso de las zeolitas naturales acondicionadas con metales brinda alternativas viables y eficaces para el tratamiento de agua, actualmente existen diferentes métodos de síntesis de zeolitas intercambiadas con metales. Sin embargo, no se sabe de manera clara como las variables de acondicionamiento influyen sobre sus propiedades, por lo que es necesario profundizar en ellas. En la presente investigación, resulta de interés combinar las propiedades bactericidas de la plata y fungicidas del zinc, para que, de esta manera, se genere una zeolita natural modificada con Ag-Zn, que sea eficiente el proceso de desinfección del agua en presencia tanto de bacterias como de levaduras.

### 2.3. Hipótesis

El comportamiento de la sobrevivencia de los microorganismos de un consorcio microbiano integrado por *Escherichia coli* y *Candida albicans* suspendido en agua, es similar que cuando se parte de cada uno de los microorganismos de manera individual, empleando una zeolita natural modificada con Ag y Zn, como agente microbicida.

### 2.4. Objetivo General

Evaluar la sobrevivencia de *Escherichia coli* ATCC25922 y *Candida albicans* ATCC10231 en consorcio frente a la zeolita natural modificada con Ag y Zn, para comparar el comportamiento, en términos de eficiencia de desinfección y cinética del proceso, cuando se parte de suspensiones con los microorganismos de manera individual.

### 2.5. Objetivos Específicos

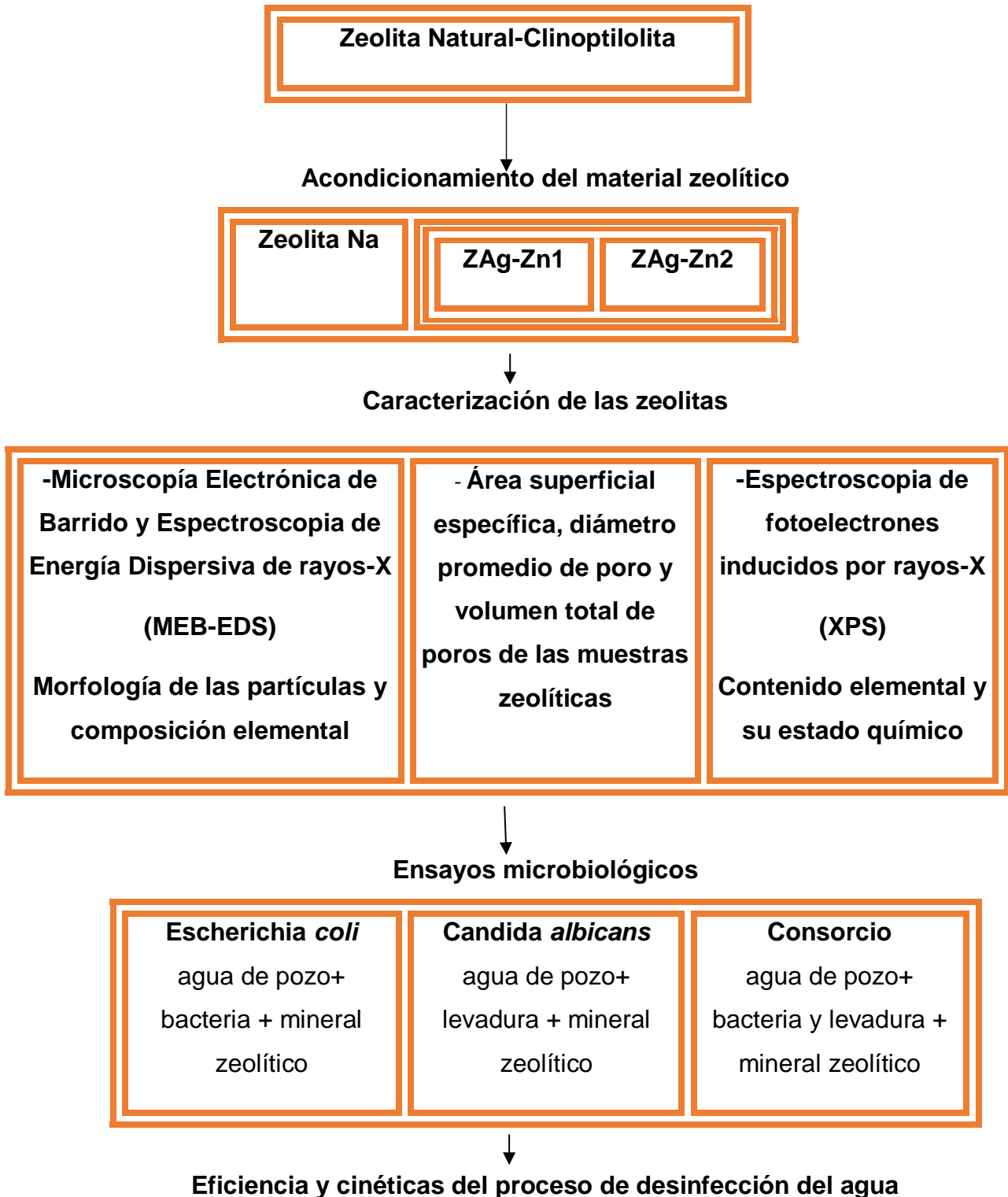
- 1) Obtener los materiales zeolíticos: Zeolita natural, Zeolita-Na, Zeolita-Ag-Zn.
- 2) Caracterizar a la zeolita natural, zeolita natural-Na, y zeolita natural Ag-Zn mediante MEB, EDS, XPS, BET.
- 3) Determinar la eficiencia de la desinfección de la zeolita natural-Ag-Zn, a través de la inhibición microbiana de *Escherichia coli* ATCC25922 y *Candida albicans* ATCC10231, partiendo de los microorganismos de manera individual y en consorcio en agua de pozo.
- 4) Aplicar modelos matemáticos para describir el comportamiento mortalidad microbiana en función del tiempo.

## Capítulo 3

### 3. Metodología

#### 3.1. Material y método

##### Diagrama del desarrollo experimental



### 3.1.1 Material zeolítico

Se utilizó una zeolita natural (ZN) proveniente del estado de Oaxaca (México), la cual se trituró mecánicamente, hasta obtener un tamaño de partícula de 12 mallas.

### 3.1.2 Acondicionamiento del material zeolítico con una solución de NaCl

Con el propósito de obtener una zeolita natural homoiónica, 50 gramos de zeolita natural (ZN, tamaño 12 mallas), se pusieron en contacto con 250 mL de una solución de NaCl 0.1 M, manteniendo la mezcla a reflujo durante 8 h. Esto se repitió 3 veces, posteriormente el sólido se lavó con agua desionizada, hasta la eliminación de los iones cloruros. Para ello, al agua de lavado, se le agregó unas gotas de nitrato de plata, para comprobar la ausencia de los iones cloruros, los cuales precipitan como cloruro de plata. La zeolita acondicionada con cloruro de sodio (ZNa) se secó en una estufa a 85 °C, durante 3 h.

### 3.1.3 Modificación del material zeolítico con Ag y Zn

La modificación del material zeolítico con Ag y Zn (Z-AgZn) se realizó empleando dos técnicas, las cuales se mencionan a continuación:

a) Se pesaron 25 gramos de la zeolita sódica (ZNa), a los cuales se les agregaron 250 mL de una solución de nitrato de plata (0.1 M), la mezcla se llevó a reflujo de 12 h. Posteriormente, se adicionaron 250 mL de nitrato de zinc (0.1 M) y se dio inicio al segundo reflujo durante 12 h, obteniéndose así la zeolita modificada con Ag y Zn, la cual se etiquetó como ZAgZn1.

b) Se colocaron 25 gramos de la zeolita sódica en un matraz y se le agregaron 250 mL de una solución de nitrato de plata y 250 mL de una solución de nitrato de zinc, la mezcla se llevó a reflujo de 12 h. Terminado el tiempo, se realizaron lavados con agua desionizada, hasta la eliminación del  $\text{NO}_3^-$ . La muestra se secó en una estufa a 85 °C, durante 3 h. A este material se le etiquetó como ZAgZn2.

### 3.2. Caracterización de los materiales zeolíticos

#### 3.2.1 Microscopía Electrónica de Barrido (MEB) y Espectroscopia de Energía Dispersiva de rayos-X

Los materiales no modificados y modificados con Ag y Zn, se caracterizaron mediante Microscopía Electrónica de Barrido (MEB) con un equipo JEOL modelo LV-5900, a fin de observar la morfología de cada uno de ellos. Así mismo, se determinó, la composición elemental por Espectroscopia de Energía Dispersiva de rayos-X (EDS), utilizando un sistema OXFORD® EDS acoplado al microscopio electrónico para conocer la composición de los materiales zeolíticos antes y después de los diferentes acondicionamientos.

#### 3.2.2 Espectroscopía fotoelectrónica de rayos-X

Se empleó un espectrómetro de fotoelectrones inducidos por rayos-X (XPS) Thermo Scientific modelo K-Alpha, para determinar el contenido elemental y conocer los estados químicos de los componentes en superficie de muestras sólidas. El equipo emplea una fuente monocromada de rayos-X Al K $\alpha$  (1486 eV) y trabaja a ultra alto vacío, en el intervalo de 1E-10 - 5E-9 mbar. El sistema cuenta con compensación de cargas estáticas por flujo de iones Ar, para analizar muestras no conductoras y una platina para análisis angular en el intervalo de  $\pm 90^\circ$  con respecto a la superficie de análisis. Las energías fueron determinadas y se cuantificaron las señales de los espectros generales de XPS, así como las deconvoluciones y los ajustes de los espectros detallados del oxígeno, silicio, aluminio, plata y zinc, en los materiales que los contenían. El análisis de los datos se llevó a cabo empleando el software OriginPro 8.1, se deconvolucionaron los datos y se ajustaron de acuerdo al valor de ancho de línea (FWHM), de cada elemento analizado.

#### 3.2.3 Área superficial específica por la técnica de BET multipuntos

Para determinar el área superficial específica, el diámetro promedio de poro y el volumen total de poros de las muestras zeolíticas, se usó el método de Brunauer,

Emmet & Teller (BET), empleando un quipo Micrometrics model 2362. El radio del poro se calculó con base en la ecuación propuesta por Gregg y Sing (1982).

### 3.3. Caracterización de agua de pozo

El agua de pozo se recolectó en el municipio de Zinacantepec, Estado de México (México) y se caracterizó con base a la NOM-127-SSA-1994. Se tomaron dos muestras antes del proceso de desinfección. Para los análisis fisicoquímicos se recogieron muestras de agua en botellas de polietileno con tapones de rosca herméticos, las cuales se lavaron previamente con una solución al 1% de detergente no iónico (Extran), se trataron con una solución de HCl al 5% y abundante agua y luego se enjuagaron con agua desionizada. Las muestras fueron almacenadas en hielo y transportadas al laboratorio donde se procesaron los fisicoquímicos. Los parámetros (cloruros, dureza total, fluoruro, hierro, nitratos, nitritos, sodio, sólidos disueltos totales y sulfatos) se analizaron en el laboratorio acreditado del IITCA. Por otro lado, las muestras de agua fueron esterilizadas previamente para su uso en el proceso de desinfección.

### 3.4. Proceso de desinfección

#### 3.4.1 Ensayos Microbiológicos

Partiendo de las cepas de referencia ATCC25922 de *Escherichia coli* y ATCC10231 de *Candida albicans*, se tomaron muestras para sembrarlas en agar MacConkey o de papa y dextrosa (PDA), según fuera el caso. Posteriormente, una muestra de cada cultivo, se sembraron en 15 mL de caldo triptisoya caseína-TSB, las cuales se incubaron durante una noche en un baño María con agitación (Shaker Water Bath), a temperatura de 28°C para el caso de *C. albicans* y de 37°C para *E. coli*. Cabe mencionar que, mediante la tinción de Gram, se verificó la viabilidad y pureza de la *E. coli*. Las suspensiones microbianas se colocaron en una centrifuga Roto-Uni II a 10,000 rpm, durante 10 min y se re-suspendieron en agua desionizada estéril usando un equipo Vortex-2 Genie. Posteriormente las diferentes suspensiones de los microorganismos se ajustaron al patrón de turbidez 0.5, en la escala de McFarland.

### 3.4.2 Cinéticas de desinfección

Para evaluar la cinética de la desinfección del agua de pozo por la zeolita natural-AgZn<sub>2</sub>, a través de la inhibición microbiana de *Escherichia coli* y *Candida albicans*, partiendo de los microorganismos de manera individual y en consorcio, se colocaron 20 mg del mineral zeolítico acondicionado con plata y zinc en un matraz Erlenmeyer de 250 mL con 100 mL de agua de pozo, previamente esterilizada e inoculada con los microorganismos de prueba.

Los matraces fueron inoculados de manera independiente, con 1 mL de *E. coli*, *C. albicans* y el consorcio *E. coli*-*C. albicans*, respectivamente. Se incubaron a 37°C en un baño María con agitación (Shaker Water Bath) y se tomaron muestras a 0, 20, 30, 45, 60, 120, 180, 240, 300 min. Para cada tiempo, se tomaron alícuotas de 0.1 mL de los matraces (agua de pozo+ bacteria y/o levadura + mineral zeolítico), determinando la inhibición celular de *E. coli* y *C. albicans*, mediante el método de filtración por membrana, establecido en la NOM-041-SSA1-1993. La filtración de la alícuota de las diferentes suspensiones, concentró las células viables sobre la superficie de la membrana de celulosa estéril y cuadrículada (Sartorius stedim biotech, de 0.45 µm x 47 mm). Una vez concluido el proceso de filtración, se quitó la membrana, para colocarla en cajas de Petri con el medio de cultivo agar triptisoya caseína-TSA destinado para *E. coli*, *C. albicans* y el consorcio (el agar se esterilizó en la autoclave durante 15 min a 15 lb de presión y a 120°C). Para distinguir el comportamiento de las bacterias y levaduras en consorcio frente a los materiales zeolíticos modificados con Ag y Zn, se prepararon cajas Petri con amikacina a una concentración de 30 µg en agar triptisoya caseína-TSA. Los experimentos se realizaron por triplicado.

Las cajas sembradas se incubaron (Incubadora Dry type bacteriological BLUE M) a 37°C para las bacterias y para las levaduras a 28°C, durante 24 h, y éstas se mantuvieron en observación durante 3, 4 y 5 días. Posteriormente se contaron las unidades formadoras de colonias (UFC), en cada placa, a fin de realizar los cálculos correspondientes de la sobrevivencia microbiana.



### 3.4.3 Modelo de Chick

La velocidad de inhibición microbiana y los parámetros cinéticos de la desinfección de agua de pozo por la ZAgZn<sub>2</sub>, se obtuvieron al ajustar los datos experimentales al modelo de Chick.

En el modelo de Chick, la inactivación de un microorganismo se representa en una cinética de primer orden, considerando que la concentración del desinfectante es constante [15]. La forma linealizada de este modelo, se expresa mediante la siguiente ecuación.

$$\ln\left(\frac{N_t}{N_0}\right) = -kt$$

En dónde:

N<sub>t</sub> = concentración de microorganismos en el tiempo t (número de bacterias o levaduras/volumen)

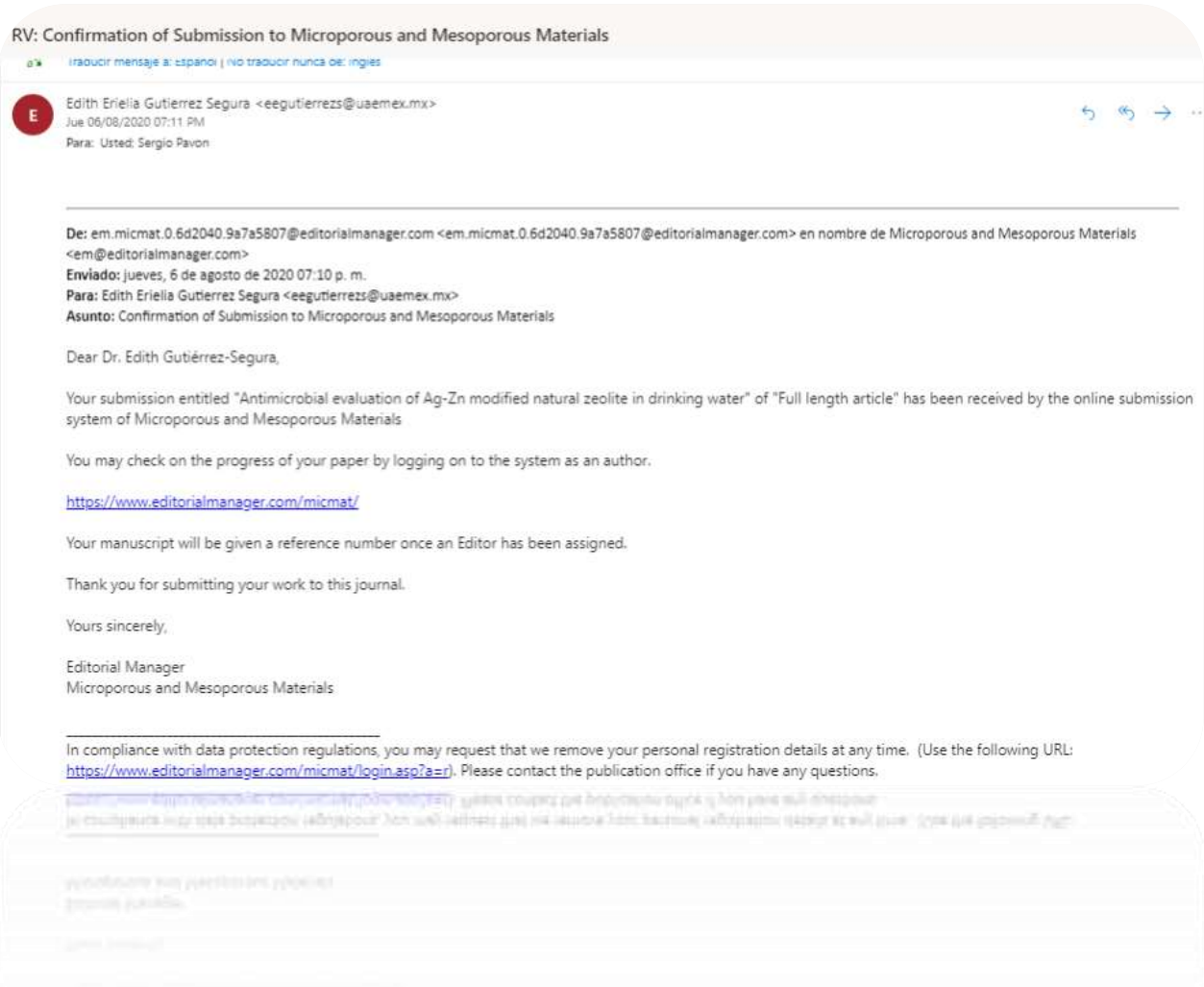
N<sub>0</sub> = concentración inicial de microorganismos (número de bacterias y levaduras/volumen)

k = constante cinética, que muestra la velocidad de decaimiento celular (1/tiempo)

t = tiempo

## Capítulo 4

### 4. Resultados



## Antimicrobial evaluation of Ag-Zn modified natural zeolite in drinking water

K. Rosas-Echeverría, S. Pavón-Romero, E. Gutiérrez-Segura\*

Facultad de Química, Universidad Autónoma del Estado de México, Paseo Colón y Tollocan s/n, C.P. 50000 Toluca, Estado de México, México.

### Abstract

Ag and Zn natural zeolites were obtained through two methodologies (AgZnZ<sub>1</sub> and AgZnZ<sub>2</sub>). The modified zeolitic materials were characterized using Scanning Electron Microscopy and Energy-dispersive X-ray spectroscopy (SEM-EDS), N<sub>2</sub> adsorption/desorption isotherms (BET surface area, mean diameter pore, total pore volume), and X-ray photoelectron spectrometry (XPS). The kinetic of the antimicrobial activity of the AgZnZ<sub>2</sub> for *E. coli* and *C. albicans* (individual and consortium) in well water samples were evaluated to know the efficiency as microbicide for bacteria and yeasts. It was found that the morphology of the modified natural zeolites did not change after treatments. However, contrast point was observed corresponding to Ag deposited on their surfaces. The elemental composition of these materials showed the preference of zeolite for Ag than Zn, in both AgZnZ<sub>1</sub> and AgZnZ<sub>2</sub> systems. The textural parameters changed according with the methodology to obtain the Ag-Zn modified natural zeolites. Ag<sup>0</sup> and [Zn(OH)]<sup>+</sup> were considered as main chemical species present in the zeolitic network. The cell decay of *E. coli* and *C. albicans* in contact with AgZnZ<sub>2</sub> followed the pseudo-first-order kinetic model and the behavior of the mortality depended on the characteristics of each microorganism and the individuality or consortium of them. The k value is 4 times higher for *E. coli* than *C. albicans* in individual conditions and 1.8 times higher for the *C. albicans* in comparison with its behavior in the consortium (*E. coli* and *C. albicans*). The mortality of *E. coli* in consortium no follows the pseudo-first order kinetic model using AgZnZ<sub>2</sub> as microbicide.

**Keywords:** Natural zeolite; *Escherichia coli*; *Candida albicans*; well water; silver; zinc.

## 1. Introduction

The water for human consumption is essential that it does not present microbial or chemical pollutant [1]. According to World Health Organization (WHO), there are 844 million people in the world that have limited access to drinking water, including 159 million people in rural areas who consume surface water without prior treatment [2]. Drinking water is easily polluted by biological contaminants, and the disinfection process during the purification treatment of drinking water has the purpose of eliminating pathogenic microorganisms contained in the water [3]. The disinfectants most commonly utilized in the surface water and wastewater disinfection are physical (heat, ionizing irradiation, ultraviolet light and membrane filtration) and chemical agents (chlorine and iodine by-products, ozone, hydrogen peroxide, and ammonia derivatives) [4,5]. Additionally, these chemical disinfectants can react with chemical substances from water and produce toxic by-products for the environment [6]. Photocatalysis ( $\text{TiO}_2$ ,  $\text{ZnO}$ ,  $\text{ZrO}_2$ ,  $\text{V}_2\text{O}_5$ ,  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ,  $\text{SnO}_2$ ,  $\text{CdS}$  and  $\text{ZnS}$ ) is considered an alternative disinfectant process, their mechanism is based in the use sunlight to produce reactive hydroxyl radical, which is capable of inactivating microorganisms and virus [7,8]. Furthermore, the cations such as  $\text{Ag}^+$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Sn}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Ti}^{2+}$  and  $\text{Cd}^{2+}$ , are considered antimicrobial agents. It is important to mention that the chemical and thermal stability, the safety of use and long duration are advantages that inorganic materials have over organic materials used as antimicrobial agents [1]. Carbon nanoparticles (CNP) and chitosan (CHIT) in the form of CHIT-CNP composite have been investigated for their disinfection capability against *E. coli* under sunlight in water. The research showed that the materials achieved similar disinfection potential as compared only with the sunlight when the same dose of CNP in the two materials was applied. Diverse sorbents including Ag/GAC, Ag/zeolite and Ag/ $\text{TiO}_2$  have been investigated for their capability of disinfecting *E. coli* (Gram-negative bacteria), *S. aureus* (Gram-positive bacteria) and *C. albicans* (yeast). The study showed that the best disinfectant was Ag/zeolite against *S. aureus* and *E. coli* (98.8 and 93.5%) and 15 min of exposure are required, however the inactivation of *C. albicans* is not satisfactory for all materials [1]. Furthermore, ZnO has been used to kill undesirable bacteria and fungi in several media [9,10]. Nevertheless, some studies have demonstrated that Ag-ZnO NPs obtained by chemical synthesis can be shows antimicrobial activity and toxicological features, since oxidative stress, cytotoxicity, genotoxicity until apoptosis [11].

Natural zeolites are sedimentary rocks, that consist in microporous crystalline aluminosilicates with regular tunnel [12]. For this reason, zeolites are considered as important substrate for

support metal ions due to their high ion exchange capacity, porosity, great surface area BET, hydrophilic character, tunable chemical stability, sustainable nature, high thermal stability and low cost [13] and its gran abundant sources in many areas of the world [14]. For the ion exchange capacity of the zeolite it is possible to exchange  $\text{Ag}^+$  ions in the zeolitic structure and subsequently the reduction to nanometric size  $\text{Ag}^0$  [15]. There are several published works that have reported zeolites supporting ions as  $\text{Ag}^+$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  [16]. This ion exchange property of the zeolites makes it highly functional in different processes among others removal of cations species from polluted water, catalysis and adsorption. However, in water purification processes is a promising technique due that the quality of the water incoming the disinfection changing according to natural processes or anthropogenic activities [17]. Ag, Zn and other metals have been recognized with antimicrobial properties and have been used to prevent infections before the antibiotics [18,19].

Previous studies have revealed that Ag ions from Ag NPS can inhibit a grand variety of microorganisms in aqueous medium and that their efficiency power depends of several water conditions such as temperature, pH, organic matter and competition with other ions [6]. Additionally, pH and turbidity should be taken into consideration onto contact time of virus disinfection process during wastewater treatment [20]. The use of Ag and Zn exchanged natural zeolites applications remains largely unknown.

Therefore, this work aimed to obtain material based in natural zeolite exchanged with Ag and Zn considering two methodologies to describe the kinetic of the disinfection process of well water against *Escherichia coli* and *Candida albicans* (individually and in the consortium) as indicators of microbiological polluted water. It is important to mention that the Ag is efficient to deactivate the bacteria growth and the Zn also for yeast.

## 2. Experimental

### 2.1. Materials and methods

Natural zeolite (NZ) was obtained from Etna, Oaxaca, Mexico, crushed and sieved at 12 mesh to obtain homogeneous particle sizes around 1.68 mm. All chemicals used in this work were of analytical grade. In order to obtain a homoionic natural zeolite and to increase its ion exchanged capacity [14], 50 g of NZ, were contacted with 250 mL of a 0.1 M NaCl solution, and refluxed for 5 h, the phases were separated and a fresh solution was added again, this procedure was repeated 3 times (denoted NaZ). Subsequently, the samples of NaZ material

were washed with deionized water until chloride ions were no detected, using an  $\text{AgNO}_3$  test. The NaZ was dried at 358 K for 3 h.

The AgZn-zeolites were prepared by ion exchanged method following two procedures. In the first of them, 25 g of the NaZ were contacted with 250 mL of 0.1 M  $\text{AgNO}_3$  solution and refluxed twice with fresh solution for 6 h (denoted AgZ). Later, the samples AgZ were washed with deionized water and then it was under reflux with 250 mL of 0.1 M  $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  solution for 6 h. This procedure was carried out twice, in the same way as above. This sample was denoted as AgZnZ<sub>1</sub>.

In the second procedure, 25 g of the NaZ were contacted with 250 mL of 0.1 M  $\text{AgNO}_3 + \text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  solution and refluxed twice for 6 h. This sample was named as AgZnZ<sub>2</sub>. In this case, the metal salt solutions were prepared separately and then mixed so that the total of volume solution was 250 mL. Then both materials were washed with deionized water until no presence of nitrate ions was detected. Finally, materials were dried at 358 K for 3 h. All the above procedures when  $\text{Ag}^+$  was used were performed in a dark room and the samples were stored in vials with aluminum foil.

## 2.2. Characterization

The morphology and elemental analysis of NZ, NaZ, AgZnZ<sub>1</sub> and AgZnZ<sub>2</sub> were determined using the electron scanning microscope JEOL model LV-5900 at low vacuum coupled with a sonde DX-4 to determine the chemical composition based on energy dispersive X-ray spectroscopy (EDS). The specific surface area, mean pore diameter and pore volume of zeolite samples were obtained from the  $\text{N}_2$  adsorption/desorption isotherms and Equation of Gregg and Sing [21] using a Micromeritics model 2362 instrument. The samples previously were dehydrated at 473 K for 3 h. The elemental compositions of the NaZ, AgZnZ<sub>1</sub> and AgZnZ<sub>2</sub> samples were determined with an X-ray photoelectron spectrometer (XPS), Thermo Scientific brand model K-Alpha. The equipment uses a monochrome X-ray source Al  $\text{K}\alpha$  (1486 eV) and works at ultra-high vacuum, in the range of  $1\text{E}-10$  and  $5\text{E}-09$  mbar. The energies of each of the present elements were determined. The adjustments of the experimental data were carried out with the full-width at half maximum height (FWHM) of each element analyzed.

## 2.3. Water sampling

Well water sample was collected from the outlet of a drinking water supply tank of the municipality of Zinacantepec, State of Mexico (Mexico). Well water sample was characterized

in accordance with the Mexican normativity [22] and samples were taken before the disinfection process in duplicate. Well water samples were collected for the physicochemical analyzes in polyethylene bottles with hermetic screw caps, pre-washed with a 1% solution of non-ionic detergent (Extran), treated with a 5% HCl solution and abundant water and then rinsed with deionized water. The samples were stored on ice and transported to the laboratory where the physicochemical were processed. The parameters (chlorides, total hardness, fluoride, iron, nitrates, nitrites, sodium, total dissolved solids and sulphates) were analyzed in a certified laboratory. On the other hand, well water samples were sterilized previously for their use in disinfection process.

## 2.4. Antimicrobial activity

### 2.4.1. Microorganisms and inoculum preparation

*E. coli* (*E. coli* ATCC 25922) and *C. albicans* (ATCC10231) have been chosen to antimicrobial test by NaZ and AgZnZ<sub>2</sub> using the standard test dilution. *E. coli* and *C. albicans* were cultivated and propagated in Mac Conkey and PDA mediums, respectively, with the purpose of verifying its viability and purity.

For the experiments, 0.1 mL of an overnight culture inoculum of each microorganism was transferred to 15 mL sterile tryptic soy broth (TSB) and was incubated with constant agitation in a water bath shaker (New Brunswick Scientific) at 120 rpm for 18 h, at 28 and 37 °C for *C. albicans* and *E. coli*, respectively. After incubation, the formed cells were dyed and observed under optic microscope with the purpose of verifying its purity. Later, each microorganism was washed by centrifugation at 10,000 rpm for 10 min (Roto-Uni II) followed by resuspension in deionized sterilized water using an equip (Vortex-2 Genie). Further, the bacteria and yeast suspensions used for inoculation were prepared at McFarland 0.5 density.

### 2.4.2. Kinetic

The disinfection behavior of NaZ and AgZnZ<sub>2</sub> against *E. coli*, and *C. albicans*, were evaluated individually and in consortium. For this purpose, 20 mg of each zeolite were added into 100 mL of well water inoculated with each microorganism (*E. coli* or *C. albicans*). A 0.1 mL aliquot of well water sample was taken at 0, 20, 30, 45, 60, 120, 180, 240 and 300 min. This procedure was carried out, in same way for consortium (*E. coli* and *C. albicans*). Immediately, the well water samples were concentrated by vacuum filtration using nitrocellulose membranes (Sartorius stedim biotech) with pore size 0.45 µm, according to [23]. After, the membranes

were deposited in sterile a TSB medium, the plates were growth in threes replicates at 37 °C for 24 h, and the viable CFU on the plate was accounted daily until 3-5 days. To eliminate interference in quantification of *E. coli* growth onto *C. albicans* in consortium, amikacin was added previously and the CFU were obtained by difference ( $CFU_{C. albicans} = (CFU_{E. coli} + CFU_{C. albicans}) - CFU_{E. coli}$ ).

#### 2.4.3. Chick's model

Kinetic parameters of disinfection of well water by AgZnZ<sub>2</sub> against *E. coli*, *C. albicans* and in consortium (*E. coli* - *C. albicans*) were calculated using linear form of Chick model. This model is based on first-order kinetics as follows: [24].

$$\ln\left(\frac{N_t}{N_o}\right) = -kt \quad \text{Eq. 1}$$

where  $N_t$  is the concentration of microorganisms (CFU/mL) at time  $t$ ;  $N_o$  is the initial concentration of microorganisms (CFU/mL);  $k$  is the rate constant ( $\text{min}^{-1}$ ) and  $t$  is the time (min).

### 3. Results and discussion

#### 3.1 Characterization

##### 3.1.1 Morphology and elemental composition

The morphology of zeolites type clinoptilolite was not changed after it is exchanged with Na, Ag and Zn, as it can be observed in Fig. 1a-c. Fig. 1a shows the zeolite from Oaxaca (Mexico) exchanged with sodium (NaZ), which presented different regions with various sizes, shaped hexagonal tiles with their imperfections. Similar results were obtained by Rossainz-Castro et al. [24]. Fig. 1b shows crystal phases in the form of fibers in AgZnZ<sub>1</sub> typical of mordenite. This mineral probably contributed to ionic exchange between the Na<sup>+</sup> from the mordenite to the Ag<sup>+</sup> and Zn<sup>2+</sup> from the corresponding solutions. It was found aggregates of silver deposited on the surface of this mineral phase, as can be observed in the same figure.

When the NaZ was in contact with the bicomponent solution of AgNO<sub>3</sub> and Zn(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, the morphology of the obtained modified natural zeolite (AgZnZ<sub>2</sub>) was not changed (Fig. 1c).



However, aggregates of Ag were observed on the surface of the zeolitic components in a similar way than for AgZnZ<sub>1</sub>.

The elemental composition of NaZ were based in elements such as O, Al, Si and K; however, Na, Mg, Ca and Fe were found in minor proportion (Table 1 and Fig. 1d). When zeolite was exchanged with Ag and Zn in two stages, the presence of Zn in this material, was not outstanding, which indicate a low affinity of zeolite for Zn<sup>2+</sup> ion than Ag<sup>+</sup> ion during ionic exchanged process (Fig. 1e). However, the existence of Ag and Zn was observed when the modification of the zeolite was done using the bimetallic solution (Fig. 1f), which indicate that Na<sup>+</sup> was replaced in the zeolite by both Ag<sup>+</sup> and Zn<sup>2+</sup> (Table 1). In zeolites samples exchanged with Ag-Zn, the proportion of Na, Fe and Ca and Mg decreased respect to NaZ due to ionic exchanged. The amount of other elements of the zeolite samples were similar considering the standard deviations.

The Si/Al ratio of the NaZ was  $\geq$  to 5 characteristics of natural zeolites as clinoptilolite [25,26] and not changes were observed after its modification with Ag and Zn. The relation of Si/Al is important since the aluminum play a role in the physical and chemical properties and for this reason the natural zeolites can be used as catalyzers, adsorbents, and ionic exchangers [27].

When the zeolite was modified with Ag and Zn, the data obtained clearly show the preference of zeolite for Ag than Zn, in both systems, this behavior could be influenced by the ionic exchanged order and radius of the metal cations (Ag is a monovalent cation and Zn is a divalent cation). According to Eisenmann theory [16], the Si/Al ratio favor an anionic field that give higher affinity for cations of minor charge than others, therefore Ag was more retained than Zn in zeolite structure. Benaliouche et al. [28] explain that the monovalent cation selective ion-exchange in aqueous solution can be causes minor noticeable alteration than divalent cation in the zeolite crystalline structure.

Likewise, the analyses EDS indicate that the proportion of Zn in zeolite samples is major in AgZnZ<sub>2</sub> (2.66%) than the AgZnZ<sub>1</sub> (0.18 %); while both zeolite samples presented similar proportion of Ag (10.5 %). Based on these results, was chosen the AgZnZ<sub>2</sub> sample for carried out the antimicrobial evaluation.

### 3.1.2 Textural properties

The N<sub>2</sub> adsorption/desorption isotherms of NaZ, AgZnZ<sub>1</sub> and AgZnZ<sub>2</sub> is showed in Fig. 2a-c. The shape of the isotherms for NaZ, AgZnZ<sub>1</sub> and AgZnZ<sub>2</sub> corresponds to Type II according with the IUPAC classification [21,29] indicating macroporous adsorbents. Nitrogen adsorption

isotherms show the formation of a monolayer of adsorbed gas at low pressure and multilayer adsorption at high relative pressure [29]. In contrast, the values of mean pore diameter obtained to NaZ, AgZnZ<sub>1</sub>, and AgZnZ<sub>2</sub> (Table 2) were founded in the range of 2-50 nm, according to IUPAC classification, these values corresponded to mesoporous materials [30].

Three zeolites showed an accelerated increment of adsorbed volume in the range of relative pressure 0.9 to 1.0 indicating that this behavior is due to the saturation of macropores generated by interparticle spaces [31].

Natural zeolites contain some impurities, such as clays, quartz, and other minerals which can be influence onto textural properties of materials [30]. The Ag and Zn incorporation to the NaZ sample has not affected the shape of N<sub>2</sub> adsorption-desorption isotherm. Furthermore, hysteresis loop shown by the samples appears at 0.5 -1.0 relative pressure in the N<sub>2</sub> adsorption-desorption isotherm and correspond to hysteresis type H3 in the IUPAC classification. This hysteresis is given by non-rigid aggregates solids consisting of plates like-particles but also if the pore network consists of macropores which are not completely filled with pore condensate as was mention by Thommes et al. [32]. A low-pressure region of N<sub>2</sub> adsorption plot of all samples (Fig. 2d) shows the absence of micropores in zeolites [33]. Benaliouche et al. [28] found that AgZn-zeolites presented a type Ia isotherm corresponding to IUPAC classification and total pore volume corresponding to microporous materials.

The BET surface area, pore volume, mean pore diameter and total pore volume of samples are given in Table 2. The BET surface area of samples follows the order: NaZ<sub>BET</sub> > AgZnZ<sub>2BET</sub> > AgZnZ<sub>1BET</sub>. The BET surface area decreased 7 % for AgZnZ<sub>2</sub> and 24 % for AgZnZ<sub>1</sub> with respect to NaZ. This means that the Ag<sup>+</sup> and Zn<sup>2+</sup> ions were incorporated into the zeolite network and it confirms the modification of the zeolitic material with the two metallic species. Similar behavior was founded for the Ag<sup>+</sup> ion exchanged Y-zeolite used for CO<sub>2</sub>/CH<sub>4</sub> separation [34], or in the case of the modification of NaY with ZnS and ZnO to obtain ZnS/NaY and ZnO/NaY, respectively [35].

It is important to mention that the total pore volume is the highest for the AgZnZ<sub>2</sub>. The sample AgZnZ<sub>1</sub> presents the lowest BET surface area and total pore volume, which could have a negative effect on its antimicrobial efficiency. The Zn percentage and the textural properties of AgZnZ<sub>2</sub> will play an important role in the kinetic process of water disinfection. This point will be discussed later.

### 3.1.3 Chemical speciation

NaZ shows the main binding energies corresponding to Na, Si, Al and O from the crystalline structure (Fig. 3a). Similar results were found for clinoptilolite analyzed by NAP-XPS [36]. It also was observed the presence of C in NaZ that could be an impurity of the natural zeolite because of its origin.

Fig. 3b shows XPS spectrum of the NaZ in the Na 1s region, where a peak at 1072.11 eV was observed. It was reported by Ruiz-Serrano (2010) that this peak is related to the binding energy of Na in Na<sub>2</sub>O; therefore, Na ions are bonded to O ions of zeolite crystalline structure. The peak at 102.7 eV corresponds to tetrahedral Si 2p of zeolite structure (Fig. 3c), and it is associated to SiO<sub>4</sub> and terminal Si–OH groups. The binding energy at 74.41 eV in the Al 2p energy region of zeolite sample (NaZ) corresponds to the tetrahedral AlO<sub>4</sub> groups (Fig. 3d).

Fig. 3e shows the deconvolution of O 1s region in the NaZ, and it is observed two main peaks at 531.36 eV and 532.34 eV, which corresponds to the O-Al and O-Si bindings, respectively [37]. Therefore, it was presumed that the O element played an important role in the attachment of Na-O-Si and Na-O-Al.

The modified natural zeolites (AgZnZ<sub>1</sub> and AgZnZ<sub>2</sub>) showed the presence of Na, O, Si and Al in their bonding energy spectrum.

The XPS spectra as well as the energy-dispersive X-ray spectroscopy (EDS) data of the modified natural zeolites (AgZnZ<sub>1</sub> and AgZnZ<sub>2</sub>) demonstrate that Ag and Zn coexist in the zeolitic network (Fig. 4). Fig. 4a-b shows the Ag 3d region of AgZnZ<sub>1</sub> and AgZnZ<sub>2</sub>, respectively. In this figure is observed the existence of three species of Ag, Ag<sup>+</sup> at 367.61 and 367.93 eV, Ag<sup>0</sup> at 368.47 and 368.74 eV and Ag<sup>δ+</sup>, at 369.55 and 369.54 eV, respectively. According to the literature, the atmospheric oxygen (O<sub>ads</sub>), lattice oxygen (O<sub>lat</sub>), and silanol groups of NaZ were responsible for produced a kind of specie Ag between the ionic and metallic form Ag<sup>δ+</sup>, during ionic exchange time allowing the type bonds Ag-O<sub>ads</sub>, Ag-O<sub>lat</sub>, and Ag-O-Si [31]. The results of Table 3 indicate that the relation between the areas of Ag<sup>+</sup> and Ag<sup>0</sup> was 0.47 and 0.85 for AgZnZ<sub>1</sub> and AgZnZ<sub>2</sub>, respectively. The main specie Ag for both materials was Ag<sup>0</sup>, this chemical specie could be generated by the photolysis reaction and thermic reduction during the modification [31,38].

The Zn amounts in the modified natural zeolites indicated that AgZnZ<sub>2</sub> had a major amount of Zn exchanged than AgZnZ<sub>1</sub> (Table 1), and consequently different distribution of the metal Zn species throughout the zeolite structure. The analysis of the symmetry Zn 2p<sup>3/2</sup> peak centered at 1022.1 eV, showed that the Zn was present in both zeolitic materials (AgZnZ<sub>1</sub> and AgZnZ<sub>2</sub>). Fig. 4c-d shows the existence of two chemical species for AgZnZ<sub>1</sub> and three chemical species

for AgZnZ<sub>2</sub>. Zn-O at 1021.3 eV and 1021.1 eV, [Zn(OH)]<sup>+</sup> at 1022.2 and 1022.6 eV and Zn<sup>2+</sup> cations at 1023.5 eV [39–41]. It is important to mention that the main specie in both materials was [Zn(OH)]<sup>+</sup> and only the Zn<sup>2+</sup> ions were founded in the AgZnZ<sub>2</sub> material. The Zn<sup>2+</sup> specie is considered to be the specie exchanged by the Na<sup>+</sup> from the NaZ [41], and its presence could have a positive impact on its antimicrobial efficiency.

Fig. 4e-f shows the XPS spectra of O 1s regions for AgZnZ<sub>1</sub> and AgZnZ<sub>2</sub>, respectively. The deconvolution of the peak centered at 532 eV, indicates that exist three chemical species for AgZnZ<sub>1</sub> and four chemical species for AgZnZ<sub>2</sub>. The binding energy observed at 530.7 is assigned to Ag-O<sub>lat</sub>, and Zn-O<sub>lat</sub> both correspond to bonds with the zeolitic lattice, and Zn-O bond from ZnO compound [39,42]. Other bonds of oxygen with the components of the zeolitic material were assigned to Al-O at 531.1 and 531.7 eV, Si-O at 532.15 and 532.59 eV and –OH of adsorbed H<sub>2</sub>O onto surface of material at 533.1 and 533.6 eV, respectively. The Al-O and Si-O bonds were observed in NaZ. Avval et al. [36] reported a main peak at a binding energy of 531.3 eV in the O 1s region from the XPS spectrum of clinoptilolite. Furthermore, Chandra et al. [43] observed in the O 1s region of XPS spectrum of nanoparticles of Ag (Ag NPs), some peaks in the range between 528 and 532 eV assigned to oxygen in Ag<sub>2</sub>O and Ag-O bond formation.

The selection of suitable zeolitic material for antimicrobial evaluation depends on several factors such as the quantity of Ag and Zn exchanged, the chemical speciation of the metallic components and the textural characteristics. All these factors contribute to the disinfection behavior of the zeolitic microbicide agent. Therefore, in this work the selected material for the antimicrobial evaluation considering *E. coli* and *C. albicans* as indicators of microbiological polluted well water was AgAnZ<sub>2</sub>.

### 3.2 Water quality

Table 4 summarizes the results of the parameters of the well water according to the drinking water quality standards from the Mexican normativity [22]. Well water sample is appropriate for drinking because only iron exceeded the permissible level (0.3 mg/L) establish on the normativity. Iron is present in anaerobic groundwater, and could remain without generating color until its concentration increases. No health-based guideline value is proposed for this metal [2].

### 3.3 Antimicrobial activity

*E. coli* and *C. albicans* are typical representatives of bacteria Gram-negative and yeasts, respectively. The antimicrobial activity of AgZnZ<sub>2</sub> was evaluated against the two microorganisms as individual species or in consortium suspended in well water, the results are shown in Fig. 5 and Table 5, respectively. NaZ was considered for comparison purposes. It was found that this zeolitic material in sodium form did not show antimicrobial activity, under the experimental conditions of this work. Ferreira et al. [44] investigated the antimicrobial activity of Zn/Ag-NaY zeolite against bacteria (*E. coli*, *B subtilis*) and yeast (*S. cerevisiae* and *C. albicans*). They found that there was a synergistic effect of Ag-Zn which increased the antimicrobial activity compared with that obtained by the silver or zinc monometallic forms of NaY zeolite.

Fig. 5a shows the antimicrobial activity of AgZnZ<sub>2</sub> and NaZ in well water samples for *E. coli*. The cellular decay of *E. coli* was higher as individual specie than that when these microorganisms were in the consortium. The total mortality of *E. coli* was reached at 60 min in the first case and 300 min in the second case. Fig. 5b shows that AgZnZ<sub>2</sub> inhibited the growth of *C. albicans* as individual specie more efficiently than *C. albicans* in consortium over a short time, the time required to 100 % inhibition for *C. albicans* as individual specie and *C. albicans* in the consortium were 180 and 300 min, respectively.

The Chick's model was applied to describe cellular mortality kinetics. According to Eq. 1, the  $\ln(N/N_0)$  was plotted vs.  $t$  for AgZnZ<sub>2</sub> and the results are shown in Fig. 5c-d. From the slope were obtained the cellular decay rate constants,  $k$  ( $\text{min}^{-1}$ ), and they are shown in Table 5. The value of  $k$  was  $0.10 \text{ min}^{-1}$  for *E. coli* as individual specie. However, the rate constant ( $k$ ) for the *E. coli* in consortium was not determined due to the experimental data not was fitted to the Chick's model as it can be seen in Fig. 5c. It is important to note that the *E. coli* gone down at 12.5 % of survival at 25 min and then increased the CUF until it reached a maximum of 37.5 % at 125 min and finally, the total mortality was observed at 300 min.

The cellular decay rate in the case of *C. albicans* as individual specie was 1.47 times higher than that for this yeast in the consortium. These results indicate that the cellular decay kinetic as individual species of microorganisms was faster than that for the microorganism in the consortium. The kinetic constant of the cellular decay of *E. coli* as individual specie in contact with AgZnZ<sub>2</sub> was 4 times high than that for *C. albicans* as individual specie also.

The results confirm that the AgZnZ<sub>2</sub> had antimicrobial activity on *E. coli* and *C. albicans*. Furthermore, the kinetic constant depended on the type of microorganism and if these microorganisms were presented as individual species or in consortium suspended in well water.

Berk [4] reported that the kinetic constant of the disinfection process depends on each microorganism, the selected disinfectant, the concentration of the disinfectant, the medium pH, the incubation temperature, among others. Therefore, this Ag-Zn modified zeolitic material could be considered as promising antimicrobial material for disinfection of the drinking water. Several studies have evaluated the antimicrobial activity of Ag and Zn for the disinfection process. Wong et al. [18] investigates the effect of Ag nanoparticles impregnated in TiO<sub>2</sub> (N) films on *E. coli*, *S. pyogenes*, *S. aureus*, and *A. baumannii*. Their results showed that the antibacterial properties of these thin films are maintained in both the dark and visible light, due to the action of photocatalyst added. Clegg et al. [45] demonstrated that the silver/sodium bentonites have strong antimicrobial activity against *E. coli*, *K. rhizophila* and *A. niger*, their results showed a significant antimicrobial activity on *E. coli* since a > 4.4 log reduction against an initial load of 1.2X10<sup>5</sup> CFU/mL and that Ag<sup>+</sup> occupies exchange sites on the bentonite. Ferreira et al. [44] investigated about the antimicrobial activity caused by bimetallic Zn/Ag-NaY zeolite against two bacteria and two yeast and found that Ag and Zn are stabled in the zeolite network maintaining antimicrobial activities during various cycles.

The main mechanisms to explain the antibacterial and antifungal activity of the Ag are the follows: Ag ions can be exchanged from zeolite by other ions of the aqueous media and in this way the Ag<sup>+</sup> attack the microorganisms through six steps [45], i) adsorption onto the negatively charged bacterial cell membrane (polysaccharides of lipopolysaccharides); ii) penetration of Ag<sup>+</sup> through cell wall; iii) union to the cytoplasmic membrane; iv) rupture of the cytoplasmic membrane; v) release of intracellular constituents such as cations, nucleic acids; and vi) death of bacteria cells [9]. Previous studies have shown that both metallic species, Ag<sup>+</sup> and Ag<sup>0</sup> pose antimicrobial activity [18]; however, Ag<sup>0</sup> can be oxidized to Ag<sup>+</sup>, which could be produced ROS and kills the bacteria [19,44].

The antifungal activity of Ag against *Fusarium solani* was investigated by Khatami et al. [46] and found that the antifungal activity of Ag nanoparticles is similar to amphotericin B (strong fungicide), their mechanism consists to damage the cell wall, or total destroy and to create a cavity in cellular membrane.

The mechanism of antibacterial activity of Zn is similar that for Ag as follows i) the release of Zn<sup>2+</sup> (zeta potential = 11.4 mV) which generate alterations on bacterial metabolic processes including glycolysis and transmembrane proton translocation, also generate to acid tolerance by the electrostatic attraction with the negatively loaded membrane; ii) The reaction between ZnO and water to produce H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, OH ions, and ROS, which go through the cell wall and damage

bacterial DNA; iii) ZnO surface could show defect and surface charges that contribute to the antimicrobial activity of Zn-zeolite against gram-negative bacteria [10].

Fungal colonies (*Botrytis* and *Penicillium*) treated with or without ZnO NPs were examined by Raman spectroscopy and revealed that ZnO is able to penetrate the fungal hyphae and destroy carbohydrates, proteins, lipids and nucleic acids [47]. Other possible mechanisms of the antifungal activity by ZnO action, is through interaction of  $Zn^{2+}$  on components of the cell wall (N-acetylglucosamine or on  $\beta$ -1-3-D-glucan synthase) and oxidative stress produced by the action of ROS [48].

With the base on the interactions between the microorganism and the metallic species of Ag and Zn described above, it is reasonable to propose that the mechanisms that could be involved to kill the cells of *E. coli* and *C. albicans* using AgZnZ<sub>2</sub> as an antimicrobial agent are similar.

### Conclusions

The morphology of the natural zeolite (from Oaxaca) modified with Ag and Zn is similar to that of the natural zeolite in this sodium form and clinoptilolite and mordenite are the principal crystalline phases. The AgZnZ<sub>1</sub> and AgZnZ<sub>2</sub> present aggregates of Ag on the surface of the mineral components. The amount and chemical species of the metallic components in the modified natural zeolites (AgZnZ<sub>1</sub> and AgZnZ<sub>2</sub>) depends on the started solutions (AgNO<sub>3</sub> or Zn(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, and AgNO<sub>3</sub>-Zn(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>) to be prepared. The AgZnZ<sub>2</sub> has 14.7 times more Zn than AgZnZ<sub>1</sub> and  $Zn^{2+}$  is present in the zeolite network of AgZnZ<sub>2</sub>. The textural characteristics of the natural zeolite change after the modification with Ag and Zn and the AgZnZ<sub>1</sub> has less surface area than AgZnZ<sub>2</sub>.

The iron in the well water exceeds the permissible level of 0.3 mg/L according with the Normative. The *E. coli* and the *C. albicans* suspended in well water as individual species reach the total mortality in short time with respect to the consortium when is used AgZnZ<sub>2</sub> as microbicide agent. The behavior of the cell decay kinetic using AgZnZ<sub>2</sub> is best described by the Chick's model for *E. coli* and *C. albicans* as individual species and *C. albicans* in consortium suspended in well water. The *E. coli* in consortium present a different behavior. The kinetic constant for *E. coli* as individual species is 4 times higher than *C. albicans* as individual specie. The cell decay kinetic constant for *C. albicans* in the consortium is affected by the presence of *E. coli*.

### Declaration of competing interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

### Credit authorship contribution statement

K. Rosas-Echeverría: Investigation, Formal analysis & Writing. S. Pavón-Romero: Methodology, Supervision. E. Gutierrez - Segura: Conceptualization, Supervision, Writing - Review & Editing.

### Acknowledgments

The authors thank CONACYT (project 254665) for financial support and M.T. Olguin for the contributions of the characterization of the samples and discussion of the results. KRE thank the scholarship No. 935963.

### References

- [1] M.B. Dolić, V.N. Rajaković-Ognjanović, S.B. Štrbac, Z.L. Rakočević, D.N. Veljović, S.I. Dimitrijević, L. V. Rajaković, The antimicrobial efficiency of silver activated sorbents, *Appl. Surf. Sci.* 357 (2015) 819–831. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2015.09.032>.
- [2] WHO, Guidelines for drinking-water quality: fourth edition incorporating the first addendum, 2017. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>.
- [3] J. Zhang, A.E. Tejada-Martínez, Q. Zhang, Developments in computational fluid dynamics-based modeling for disinfection technologies over the last two decades: A review, *Environ. Model. Softw.* 58 (2014) 71–85. <https://doi.org/10.1016/j.envsoft.2014.04.003>.
- [4] Z. Berk, Chapter 28 - Cleaning, disinfection, and sanitation, in: *Food Process Eng. Technol.*, Elsevier, 2018: pp. 643–656.
- [5] K. Manoli, S. Sarathy, R. Maffettone, D. Santoro, Detailed modeling and advanced control for chemical disinfection of secondary effluent wastewater by peracetic acid, *Water Res.* 153 (2019) 251–262. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2019.01.022>.
- [6] S.J. Park, Y.S. Ko, H. Jung, C. Lee, K. Woo, G.P. Ko, Disinfection of waterborne viruses using silver nanoparticle-decorated silica hybrid composites in water environments, *Sci. Total Environ.* 625 (2018) 477–485. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.12.318>.
- [7] O.K. Dalrymple, E. Stefanakos, M.A. Trotz, D.Y. Goswami, A review of the



- mechanisms and modeling of photocatalytic disinfection, *Appl. Catal. B Environ.* 98 (2010) 27–38. <https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2010.05.001>.
- [8] Y. Yan, X. Zhou, J. Lan, Z. Li, T. Zheng, W. Cao, N. Zhu, W. Liu, Efficient photocatalytic disinfection of *Escherichia coli* by N-doped TiO<sub>2</sub> coated on coal fly ash cenospheres, *J. Photochem. Photobiol. A Chem.* 367 (2018) 355–364. <https://doi.org/10.1016/j.jphotochem.2018.08.045>.
- [9] J. Milenkovic, J. Hrenovic, D. Matijasevic, M. Niksic, N. Rajic, Bactericidal activity of Cu-, Zn-, and Ag-containing zeolites toward *Escherichia coli* isolates, *Environ. Sci. Pollut. Res.* 24 (2017) 20273–20281. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-9643-8>.
- [10] M. Shaban, F. Mohamed, S. Abdallah, Production and Characterization of Superhydrophobic and Antibacterial Coated Fabrics Utilizing ZnO Nanocatalyst, *Sci. Rep.* 8 (2018) 1–15. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-22324-7>.
- [11] L. Burlibaşa, M.C. Chifiriuc, M.V. Lungu, E.M. Lungulescu, S. Mitrea, G. Sbarcea, M. Popa, L. Măruţescu, N. Constantin, C. Bleotu, A. Hermenean, Synthesis, physico-chemical characterization, antimicrobial activity and toxicological features of Ag–ZnO nanoparticles, *Arab. J. Chem.* 13 (2020) 4180–4197. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2019.06.015>.
- [12] M. Liu, Y. Ren, J. Wu, Y. Wang, J. Chen, X. Lei, X. Zhu, Effect of cations on the structure, physico-chemical properties and photocatalytic behaviors of silver-doped zeolite Y, *Microporous Mesoporous Mater.* 293 (2020). <https://doi.org/10.1016/j.micromeso.2019.109800>.
- [13] A.A. Alswata, M. Bin Ahmad, N.M. Al-Hada, H.M. Kamari, M.Z. Bin Hussein, N.A. Ibrahim, Preparation of Zeolite/Zinc Oxide Nanocomposites for toxic metals removal from water, *Results Phys.* 7 (2017) 723–731. <https://doi.org/10.1016/j.rinp.2017.01.036>.
- [14] M. Moradi, R. Karimzadeh, E.S. Moosavi, Modified and ion exchanged clinoptilolite for the adsorptive removal of sulfur compounds in a model fuel: New adsorbents for desulfurization, *Fuel.* 217 (2018) 467–477. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2017.12.095>.
- [15] L. Tosheva, S. Belkhair, M. Gackowski, S. Malic, N. Al-Shanti, J. Verran, Rapid screening of the antimicrobial efficacy of Ag zeolites, *Colloids Surfaces B Biointerfaces.* 157 (2017) 254–260. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2017.06.001>.
- [16] A. Top, S. Ülkü, Silver, zinc, and copper exchange in a Na-clinoptilolite and resulting effect on antibacterial activity, *Appl. Clay Sci.* 27 (2004) 13–19. <https://doi.org/10.1016/j.clay.2003.12.002>.

- [17] A. Tiri, L. Belkhiri, L. Mouni, Evaluation of surface water quality for drinking purposes using fuzzy inference system, *Groundw. Sustain. Dev.* 6 (2018) 235–244. <https://doi.org/10.1016/j.gsd.2018.01.006>.
- [18] M.S. Wong, C.W. Chen, C.C. Hsieh, S.C. Hung, D.S. Sun, H.H. Chang, Antibacterial property of Ag nanoparticle-impregnated N-doped titania films under visible light, *Sci. Rep.* 5 (2015) 1–11. <https://doi.org/10.1038/srep11978>.
- [19] K. Zheng, M.I. Setyawati, D.T. Leong, J. Xie, Antimicrobial silver nanomaterials, *Coord. Chem. Rev.* 357 (2018) 1–17. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2017.11.019>.
- [20] G. Carvajal, D.J. Roser, S.A. Sisson, A. Keegan, S.J. Khan, Bayesian belief network modelling of chlorine disinfection for human pathogenic viruses in municipal wastewater, *Water Res.* 109 (2017) 144–154. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2016.11.008>.
- [21] S.K.S.W. Gregg S.J., The physical adsorption of gases by nonporous solids: type II isotherm. Adsorption, surface area and porosity., Academic Press, 1982.
- [22] NOM-127-SSA1, Salud Ambient. Agua Para Uso y Consum. Humano. Límites Permis. Calid. y Trat. a Que Debe Someterse El Agua Para Su Potabilización. (1994) 1–7.
- [23] NOM-041-SSA1, Bienes y Servicios. Agua Purificada Envasada. Especificaciones Sanitarias, DOF. (1993).
- [24] L.G. Rossainz-Castro, I. De-La-Rosa-Gómez, M.T. Olguín, D. Alcántara-Díaz, Comparison between silver- and copper-modified zeolite-rich tuffs as microbicide agents for *Escherichia coli* and *Candida albicans*, *J. Environ. Manage.* 183 (2016) 763–770. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2016.09.034>.
- [25] T. Popov, N., Yanev, Y., Iliev Tz., Popova, Clinoptilolitized pyroclastic rocks from Oaxaca (south Mexico): A mineralogical and technological study, in: *Proc. Zeolite'06–7th Int. Conf. Occur. Prop. Util. Nat. Zeolites.*, Socorro, New Mexico USA., 2006: pp. 208–209.
- [26] P. Barragán P., M.G. Macedo M., M.T. Olguín, Cadmium sorption by sodium and thiourea-modified zeolite-rich tuffs, *J. Environ. Sci. (China)*. 52 (2017) 39–48. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2016.03.015>.
- [27] T. Yamamoto, T. Kudo, T. Yamamoto, J. Kawai, Analysis of coordination environment of aluminum species in zeolites and amorphous silica-alumina by X-ray absorption and emission spectroscopy, *Microporous Mesoporous Mater.* 182 (2013) 239–243. <https://doi.org/10.1016/j.micromeso.2013.03.047>.

- [28] F. Benaliouche, N. Hidous, M. Guerza, Y. Zouad, Y. Boucheffa, Characterization and water adsorption properties of Ag- and Zn-exchanged A zeolites, Microporous Mesoporous Mater. 209 (2015) 184–188. <https://doi.org/10.1016/j.micromeso.2014.10.039>.
- [29] G. Leofanti, M. Padovan, G. Tozzola, B. Venturelli, Surface area and pore texture of catalysts, Catal. Today. 41 (1998) 207–219. [https://doi.org/10.1016/S0920-5861\(98\)00050-9](https://doi.org/10.1016/S0920-5861(98)00050-9).
- [30] M.A. Hernández, F. Rojas, V.H. Lara, Nitrogen-sorption characterization of the microporous structure of clinoptilolite-type zeolites, J. Porous Mater. 7 (2000) 443–454. <https://doi.org/10.1023/A:1009662408173>.
- [31] R. V. Sales, H.O.M.A. Moura, A.B.F. Câmara, E. Rodríguez-Castellón, J.A.B. Silva, S.B.C. Pergher, L.M.A. Campos, M.M. Urbina, T.C. Bicudo, L.S. de Carvalho, Assessment of ag nanoparticles interaction over low-cost mesoporous silica in deep desulfurization of diesel, Catalysts. 9 (2019). <https://doi.org/10.3390/catal9080651>.
- [32] M. Thommes, K. Kaneko, A. V. Neimark, J.P. Olivier, F. Rodriguez-Reinoso, J. Rouquerol, K.S.W. Sing, Physisorption of gases, with special reference to the evaluation of surface area and pore size distribution (IUPAC Technical Report), Pure Appl. Chem. 87 (2015) 1051–1069. <https://doi.org/10.1515/pac-2014-1117>.
- [33] S. Storck, H. Bretinger, W.F. Maier, Characterization of micro- and mesoporous solids by physisorption methods and pore-size analysis, Appl. Catal. A Gen. 174 (1998) 137–146. [https://doi.org/10.1016/S0926-860X\(98\)00164-1](https://doi.org/10.1016/S0926-860X(98)00164-1).
- [34] A. Ebadi Amooghini, M. Omidkhan, H. Sanaeepur, A. Kargari, Preparation and characterization of Ag + ion-exchanged separation, J. Energy Chem. 25 (2016) 450–462. <https://doi.org/10.1016/j.jechem.2016.02.004>.
- [35] T. M Salama, I. O Ali, Novel Synthesis of Nay Zeolite from Rice Husk Silica: Modification with Zno and Zns for Antibacterial Application, Chem. Sci. J. 07 (2016). <https://doi.org/10.4172/2150-3494.1000118>.
- [36] T.G. Avval, V. Carver, S.C. Chapman, S. Bahr, P. Dietrich, M. Meyer, A. Thißen, M.R. Linford, Clinoptilolite, a type of zeolite, by near ambient pressure-XPS, Surf. Sci. Spectra. 27 (2020) 014007. <https://doi.org/10.1116/1.5129275>.
- [37] A. Susarrey-Arce, V. Petranovskii, M.A. Hernández-Espinosa, R. Portillo, W. De La Cruz, Optical properties of ZnO nanoparticles on the porous structure of mordenites and ZSM-5, J. Nanosci. Nanotechnol. 11 (2011) 5574–5579.

- <https://doi.org/10.1166/jnn.2011.3426>.
- [38] M.I. Panayotova, N.N. Mintcheva, O.T. Gemishev, G.T. Tyuliev, G.D. Gicheva, L.P. Djerahov, Preparation and antimicrobial properties of silver nanoparticles supported by natural zeolite clinoptilolite, *Bulg. Chem. Commun.* 50 (2018) 211–218.
- [39] V. Kumar, H.C. Swart, O.M. Ntwaeaborwa, R.E. Kroon, J.J. Terblans, S.K.K. Shaat, A. Yousif, M.M. Duvenhage, Origin of the red emission in zinc oxide nanophosphors, *Mater. Lett.* 101 (2013) 57–60. <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2013.03.073>.
- [40] X.B. Li, S.Y. Ma, F.M. Li, Y. Chen, Q.Q. Zhang, X.H. Yang, C.Y. Wang, J. Zhu, Porous spheres-like ZnO nanostructure as sensitive gas sensors for acetone detection, *Mater. Lett.* 100 (2013) 119–123. <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2013.02.117>.
- [41] A.A. Gabrienko, S.S. Arzumanov, A. V. Toktarev, I.G. Danilova, I.P. Prosvirin, V. V. Kriventsov, V.I. Zaikovskii, D. Freude, A.G. Stepanov, Different Efficiency of Zn<sup>2+</sup> and ZnO Species for Methane Activation on Zn-Modified Zeolite, *ACS Catal.* 7 (2017) 1818–1830. <https://doi.org/10.1021/acscatal.6b03036>.
- [42] X. Zhang, J. Qin, Y. Xue, P. Yu, B. Zhang, L. Wang, R. Liu, Effect of aspect ratio and surface defects on the photocatalytic activity of ZnO nanorods, *Sci. Rep.* 4 (2014) 4–11. <https://doi.org/10.1038/srep04596>.
- [43] A. Chandra, M. Singh, Biosynthesis of amino acid functionalized silver nanoparticles for potential catalytic and oxygen sensing applications, *Inorg. Chem. Front.* 5 (2018) 233–257. <https://doi.org/10.1039/c7qi00569e>.
- [44] L. Ferreira, J.F. Guedes, C. Almeida-Aguiar, A.M. Fonseca, I.C. Neves, Microbial growth inhibition caused by Zn/Ag-Y zeolite materials with different amounts of silver, *Colloids Surfaces B Biointerfaces.* 142 (2016) 141–147. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2016.02.042>.
- [45] F. Clegg, C. Breen, P. Muranyi, C. Schönweitz, Antimicrobial, starch based barrier coatings prepared using mixed silver/sodium exchanged bentonite, *Appl. Clay Sci.* 179 (2019) 105144. <https://doi.org/10.1016/j.clay.2019.105144>.
- [46] M. Khatami, I. Sharifi, M.A.L. Nobre, N. Zafarnia, M.R. Aflatoonian, Waste-grass-mediated green synthesis of silver nanoparticles and evaluation of their anticancer, antifungal and antibacterial activity, *Green Chem. Lett. Rev.* 11 (2018) 125–134. <https://doi.org/10.1080/17518253.2018.1444797>.
- [47] L. He, Y. Liu, A. Mustapha, M. Lin, Antifungal activity of zinc oxide nanoparticles against *Botrytis cinerea* and *Penicillium expansum*, *Microbiol. Res.* 166 (2011) 207–

215. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2010.03.003>.
- [48] P.A. Arciniegas-Grijalba, M.C. Patiño-Portela, L.P. Mosquera-Sánchez, J.A. Guerrero-Vargas, J.E. Rodríguez-Páez, ZnO nanoparticles (ZnO-NPs) and their antifungal activity against coffee fungus *Erythricium salmonicolor*, *Appl. Nanosci.* 7 (2017) 225–241. <https://doi.org/10.1007/s13204-017-0561-3>.

**Tables**

Table 1

Elemental composition of NaZ, AgZnZ<sub>1</sub> and AgZnZ<sub>2</sub> materials.

Element	Materials		
	NaZ	AgZnZ <sub>1</sub> (% weight)	AgZnZ <sub>2</sub>
O	45.58±1.10	39.85±4.75	41.05±2.64
Na	0.60±0.15	0.40±0.03	0.35±0.03
Mg	1.21±0.16	1.29±0.31	0.50±0.30
Al	6.89±0.23	6.17±0.60	4.61±1.12
Si	36.41±0.55	31.86±0.82	34.62±7.15
Cl	0	1.43±0.29	1.38±0.70
K	5.84±1.22	4.74±0.51	2.04±0.93
Ca	1.17±0.13	1.34±0.36	0.58±0.62
Fe	2.56±0.97	2.38±1.24	1.48±0.16
Zn	0	0.18±0.04	2.66±1.16
Ag	0	10.36±2.21	10.74±4.59

Table 2

Textural properties of NaZ, ZAgZ<sub>1</sub> and ZAgZ<sub>2</sub>.

Parameter	Material		
	NaZ	AgZnZ <sub>1</sub>	AgZnZ <sub>2</sub>
BET Surface area m <sup>2</sup> /g	16.49	12.67	15.45
V <sub>m</sub> (cm <sup>3</sup> STP/g)	3.79	2.91	3.55
Mean pore diameter (nm)	20.25	25.56	22.46
Total pore volume (cm <sup>3</sup> /g)	0.083	0.081	0.086

Table 3

Chemical speciation present in the NaZ, AgZnZ<sub>1</sub> and AgZnZ<sub>2</sub> zeolitic materials.

<b>Materials</b>							
<b>Peak name</b>	<b>NaZ</b>			<b>AgZnZ<sub>2</sub></b>			<b>Chemical specie</b>
	<b>BE (eV)</b>	<b>FWHM</b>	<b>Area</b>	<b>BE (eV)</b>	<b>FWHM</b>	<b>Area</b>	
Na 1s	1072.1	3.31	100				Na <sup>+</sup>
O 1s	531.3	2.0470	39.5				O-Al
O 1s	532.3	2.0163	60.5				O-Si
<b>Peak name</b>	<b>AgZnZ<sub>1</sub></b>			<b>AgZnZ<sub>2</sub></b>			<b>Chemical specie</b>
	<b>BE (eV)</b>	<b>FWHM</b>	<b>Area</b>	<b>BE (eV)</b>	<b>FWHM</b>	<b>Area</b>	
Ag 3d	367.6	1.4145	27.8	367.9	1.5428	36.8	Ag <sup>+</sup>
Ag 3d	368.4	1.5024	59.0	368.7	1.4749	45.7	Ag <sup>0</sup>
Ag 3d	369.5	1.4593	13.2	369.5	1.5202	17.5	Ag <sup>δ+</sup>
Zn 2p	1021.3	1.7022	44.5	1021.1	1.9096	12.9	Zn-O
Zn 2p	1022.6	1.6510	55.5	1022.2	2.0519	64.9	[Zn(OH)] <sup>+</sup>
Zn 2p	-	-	-	1023.5	2.1299	22.2	Zn <sup>2+</sup>
O 1s	-	-	-	530.7	1.5955	9.8	Ag-O <sub>lat</sub> and Zn-O <sub>lat</sub>
O 1s	531.1	1.7225	29.2	531.7	1.6271	38.6	O-Al
O 1s	532.1	1.5695	52.7	532.5	1.5869	40.9	O-Si
O 1s	533.1	1.5900	18.1	533.6	1.6228	10.7	O-H



Table 4

Characterization of well water from municipality of Zinacantepec, State of Mexico (Mexico).

Parameter	Well water (mg/L)	Permissible level (mg/L)
Chlorides	13.0	250
Total hardness (as CaCO <sub>3</sub> )	440.8	500
Fluoride	0.04	1.5
Iron	>0.5	0.3
Nitrates	1.99	10
Nitrites	ND	0.05
Sodium	19.2	200
Total dissolved solids (TDS)	296	1000
Sulphates	25.7	400

ND= Not detected

Table 5

Cell decay rates and inhibition time of *E. coli* and *C. albicans* in contact with AgZnZ<sub>2</sub> as microbicide agent.

Microorganism (CFU/mL)	Inhibition time (min)	k (min <sup>-1</sup> )	R <sup>2</sup>
<i>E. coli</i> (as individual specie)	60	0.10	0.9637
<i>E. coli</i> (consortium)	300	NA*	NA*
<i>C. albicans</i> (as individual specie)	180	0.025	0.9635
<i>C. albicans</i> (consortium)	300	0.014	0.9195

\*NA: No applied

## Figures captions

**Fig. 1.** SEM images of a) NaZ, b) AgZnZ<sub>1</sub> and c) AgZnZ<sub>2</sub> and EDS patterns of (d) NaZ, b) AgZnZ<sub>1</sub> and c) AgZnZ<sub>2</sub>.

**Fig. 2.** N<sub>2</sub> adsorption-desorption isotherm of (a) NaZ, (b) AgZnZ<sub>1</sub> and (c) AgZnZ<sub>2</sub> and (d) Low-pressure regions of the N<sub>2</sub> adsorption isotherm of the zeolitic materials.

**Fig. 3.** a) XPS spectrum of the energy range 0-1400 eV, high resolution spectra of the b) Na 1s region, c) Si 2p, d) Al 2p, and e) O 1s, for NaZ sample.

**Fig. 4.** XPS high resolution spectra of the regions a) and b) Ag 3d, c) and d) Zn 2p<sup>3/2</sup> and e) and f) O 1s, for AgZnZ<sub>1</sub> and AgZnZ<sub>2</sub>, respectively.

**Fig. 5.** Cellular decay of *E. coli* (a) *C. albicans* (b) in contact with AgZnZ<sub>2</sub>, and Chick's model applied to each process(c-d).

Figures

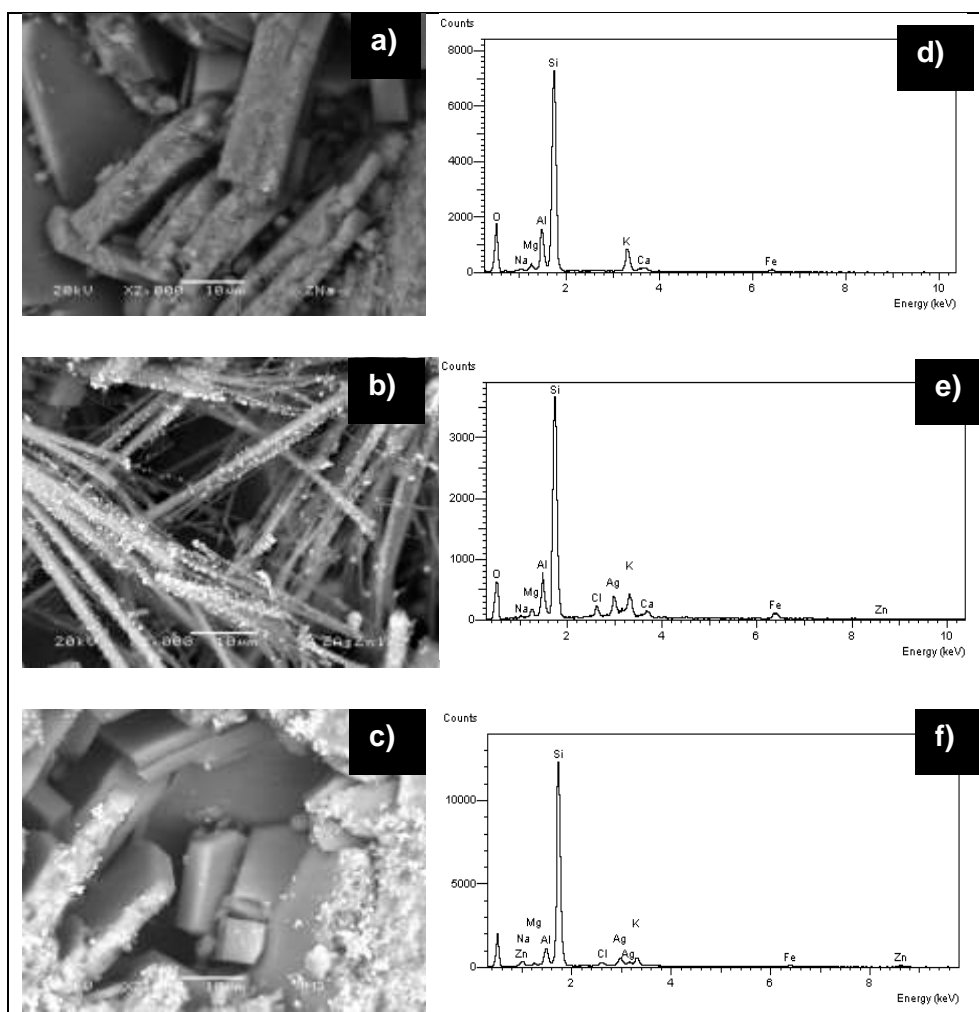


Fig. 1.

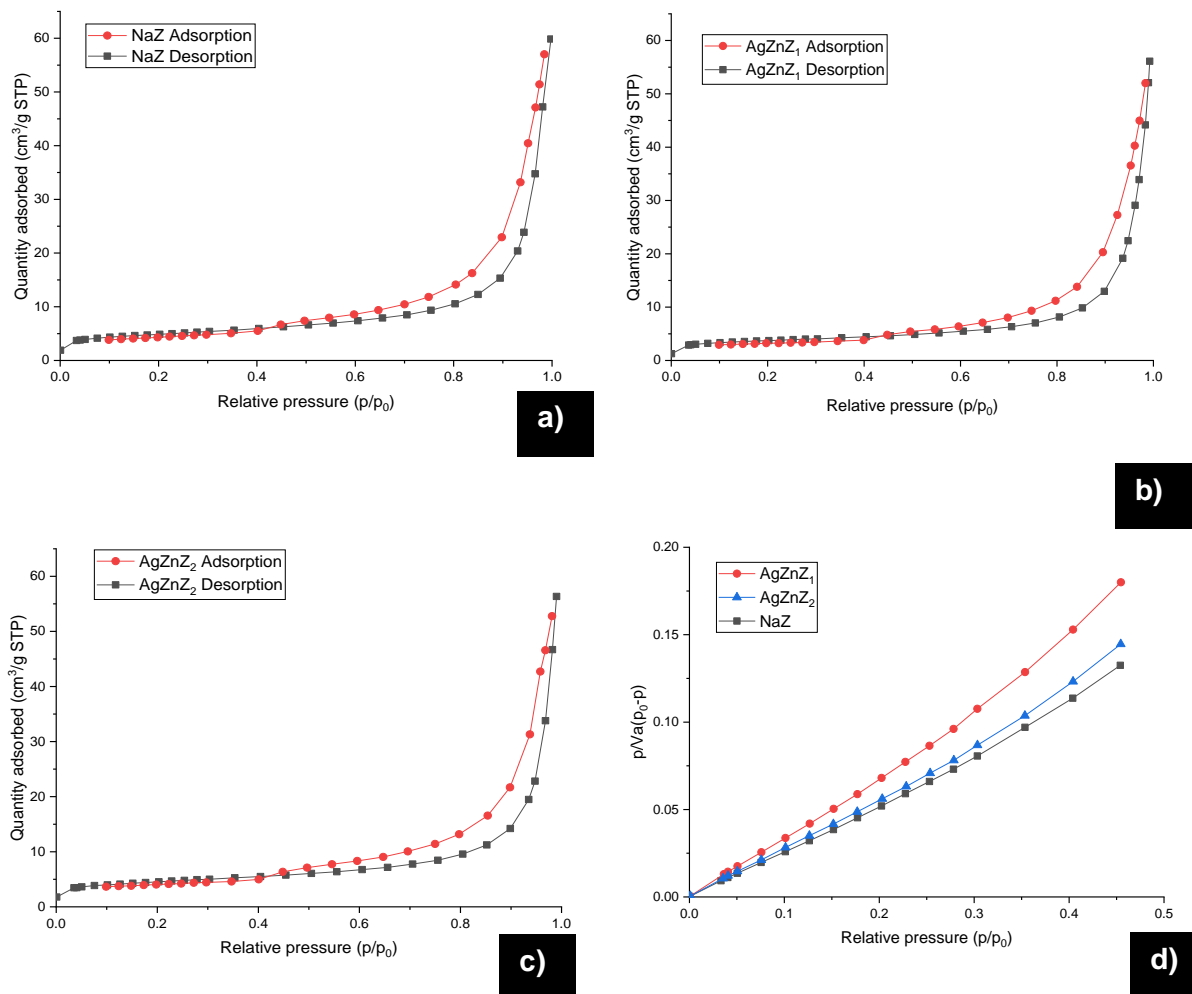


Fig. 2.

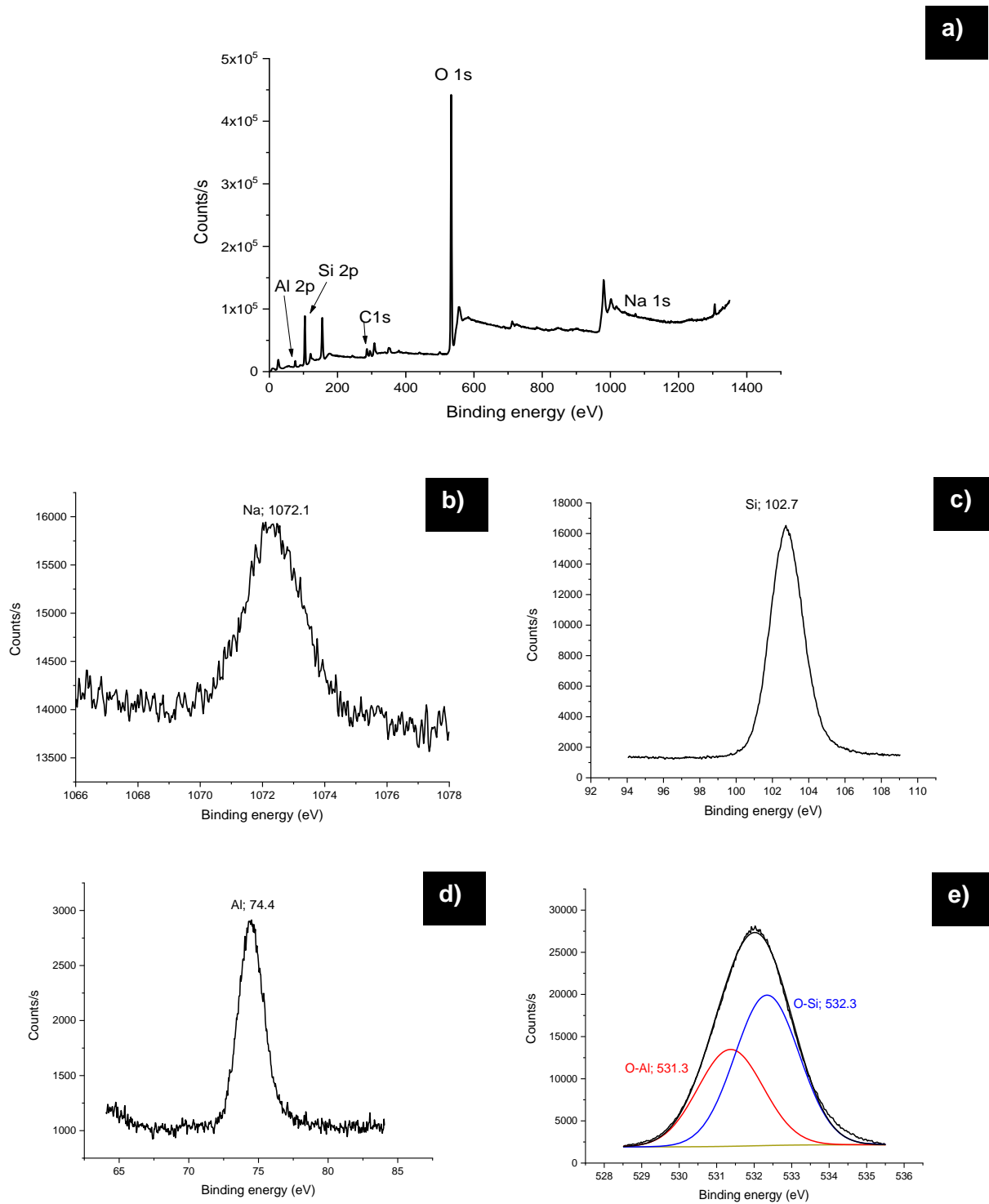
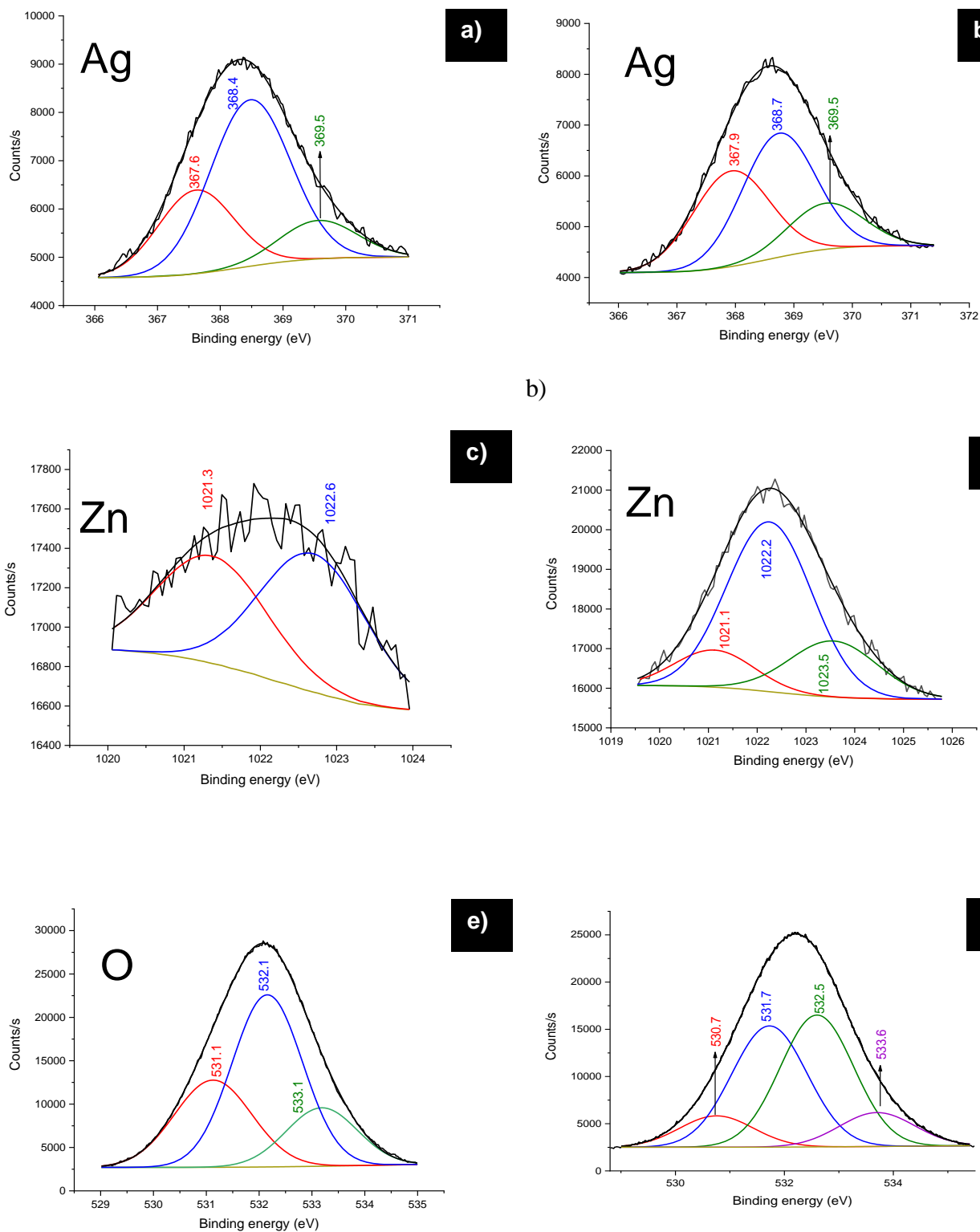


Fig. 3.



**Fig. 4.**

Sobrevivencia de *Escherichia coli* y *Candida albicans* presentes en agua potable frente a zeolita natural modificada con Ag-Zn

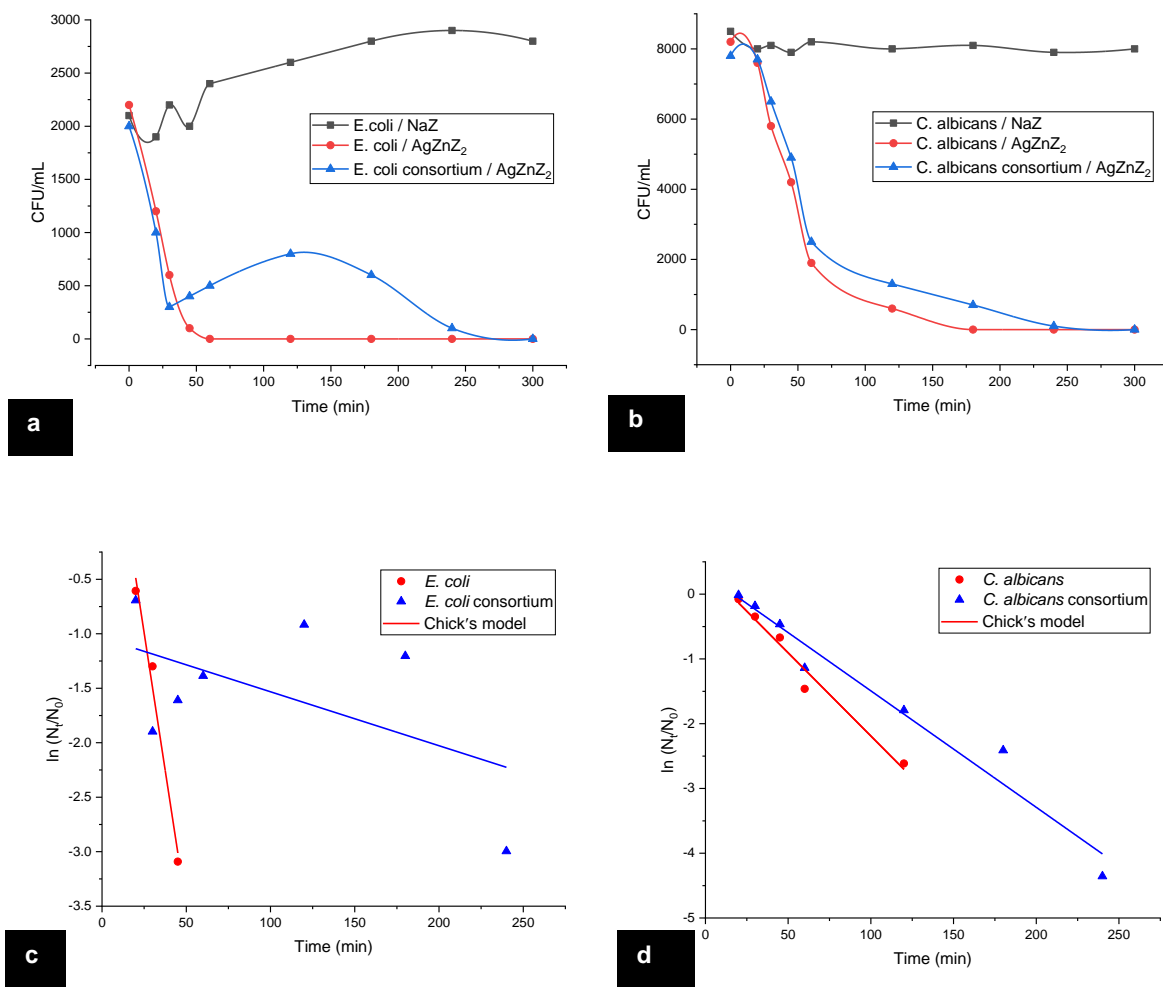


Fig. 5.



## Capítulo 5

### 5.1. Discusión general

El interés de modificar la zeolita natural, con especies metálicas de Ag y Zn, a fin de obtener una zeolita bimetálica con propiedades bactericidas y microbicidas a la vez, eligiendo a *E. coli* y *C. albicans* como microorganismos indicadores de contaminación del agua, y utilizando agua de pozo pretende hacer una comparativa del comportamiento de las zeolitas para la desinfección del agua en un consorcio microbiano, ya que diversos estudios (Dolić *et al.*, 2015), (Hrenovic *et al.*, 2012), (Ferreira *et al.*, 2012), (Top and Ülkü, 2004) reportan análisis de zeolitas acondicionadas con un solo metal y evalúan su actividad antimicrobiana de manera individual para cada microorganismo de interés. Es importante conocer el comportamiento de los microorganismos en un consorcio, esto ayudará a determinar el metal ideal para ser acondicionado en una zeolita y con ello brindar soluciones concretas que contribuyan en la desinfección del agua.

Parte fundamental del proyecto es la caracterización de los materiales zeolíticos, ya que través de las técnicas MEB, EDS, XPS y BET se conoce la morfología y composición elemental, el contenido elemental y estado químico, así como las características texturales de los materiales zeolíticos.

La morfología y composición elemental de la roca zeolítica del estado de Oaxaca acondicionada con sodio (ZNa), no sufrió cambios significativos, mostró diversos tipos de morfologías, una característica de la clinoptilolita que fue en forma de losetas hexagonales y la otra en forma de fibras (acículas) características de la mordenita. La composición elemental de la ZNa fue a base de O, Al, Si y K. Sin embargo, el Na, Mg, Ca y Fe, se encontraron en menor proporción.

Después de llevar a cabo la modificación de la roca zeolítica con Ag y Zn, cuando ésta se realizó en dos etapas, se pudo observar pequeños cúmulos metálicos depositados sobre la superficie de la mordenita. La presencia del Zn, no se logró apreciar claramente, lo que reveló la baja selectividad de la zeolita por este ion metálico ( $Zn^{2+}$ ), durante el proceso de modificación. La morfología de los componentes de la roca zeolítica permaneció inalterada, después de su modificación

con una solución bicomponente de Ag-Zn, debido a que se apreciaron las estructuras de la clinoptilolita y la mordenita. Los componentes de la roca zeolítica ZAgZn2 variaron después de la modificación, apreciándose la Ag y Zn, como componentes del material. Es importante mencionar que el contenido de Zn se apreció con mayor claridad, en comparación con el de la ZAgZn1.

De acuerdo a los porcentajes en peso, de los diferentes componentes de los materiales zeolíticos en las muestras ZAgZn1 y ZAgZn2, la concentración de Na disminuyó ligeramente ( $0.40 \pm 0.03$  %,  $0.35 \pm 0.03$  %, respectivamente), con respecto al de la ZNa, esto es debido probablemente al intercambio iónico de  $\text{Na}^+$  por  $\text{Ag}^+$  y  $\text{Zn}^{2+}$ , durante el acondicionamiento con  $\text{AgNO}_3$  y  $\text{ZnNO}_3$ . Es importante mencionar, que el porcentaje en peso del Mg, K y Ca, disminuyó con respecto al de la ZNa, al modificar el material zeolítico con la solución bicomponente de Ag-Zn, lo que no se aprecia cuando se parte de las soluciones monocomponentes. Esto se ve reflejado, en una mayor cantidad de Zn en la ZAgZn2 con respecto a la ZAgZn1.

El porcentaje en peso del Zn, en las muestras zeolíticas modificadas fue de  $0.18 \pm 0.04$  para la ZAgZn1 y  $2.66 \pm 1.16$  para la ZAgZn2. El de Ag fue similar en ambos materiales, siendo alrededor del 10.5 %. Con base en estos resultados, se eligió la muestra ZAgZn2 para la desinfección del agua, empleando a *E. coli* y *C. Albicans* como microorganismos de prueba.

La relación en peso Si/Al es  $\geq 5$ , para todas las muestras zeolíticas (ZNa, ZAgZn1 y ZAgZn2). Este resultado concuerda con lo reportado en la literatura (Barragán et al., 2016) y es característico de las zeolitas ricas en clinoptilolita (Popov et al., 2006).

Los diámetros promedio de poros, obtenidos de las diferentes isotermas de sorción de  $\text{N}_2$ , para las muestras zeolíticas ZNa, ZAgZn1 y ZAgZn2, se encontraron dentro del intervalo de 2-50 nm, que, de acuerdo con la clasificación de la IUPAC, estos valores corresponden a materiales mesoporosos. Con relación a las áreas superficiales específicas, la zeolita modificada ZAgZn2, fue 1.22 veces mayor que la del material ZAgZn1 y ligeramente menor a la de la ZNa. Es importante mencionar, que el volumen total de poro es el más alto para la ZAgZn2.

Y el análisis XPS permitió elegir a la ZAgZn2 como el material óptimo para desarrollar los ensayos microbiológicos.

El poner a prueba la zeolita natural modificada con plata y zinc frente a *Escherichia coli* y *Candida albicans* en agua de pozo permitió conocer el funcionamiento de la zeolita en un consorcio microbiano y en condiciones de agua potable. Razón por la que se analizó la calidad del agua de pozo de acuerdo con los estándares de calidad del agua potable de la NOM-127-SSA1-1994, México. La muestra de agua de pozo excedió solo un parámetro estándar: hierro ( $> 0.5 \text{ mg / L}$ ). No se realizó el conteo microbiano ya que para los ensayos experimentales las muestras de agua fueron previamente esterilizadas.

A través del proceso de desinfección se encontró que la actividad antimicrobiana de *E. coli* y *C. albicans* por ZAgZn<sub>2</sub> siguió el Modelo Cinético de Primer Orden de Chick. Los valores más rápidos para la actividad antimicrobiana de la zeolita modificada se lograron para *E. coli* y *C. albicans* de forma individual.

## 5.2. Conclusiones y Sugerencias

### 5.2.1 Conclusiones

El material zeolítico natural, es una zeolita tipo clinoptilolita y el intercambio iónico  $\text{Na}^+/\text{Ag}^+$  y  $\text{Zn}^+$  fue eficiente, especialmente con el método establecido en el segundo equipo de reflujo. La caracterización de los materiales zeolíticos modificados y no modificados permitió elegir a la ZAgZn<sub>2</sub> como el material óptimo para desarrollar los ensayos microbiológicos.

El material zeolítico sódico (ZNa) fue empleado como control experimental debido a que no tiene efecto negativo en el crecimiento de los microorganismos. Los sistemas de desinfección con ZAgZn<sub>2</sub> en agua de pozo, se ajustaron al modelo matemático de Chick, con curvas de inhibición de primer orden. El proceso de inhibición celular para los sistemas microbianos individuales es más eficiente que en consorcio en presencia del material zeolítico modificado con Ag y Zn. *E. coli* suspendida en agua de pozo, se inhibe totalmente a los 60 minutos después de haber entrado en contacto con el material zeolítico ZAgZn<sub>2</sub> y para *C. albicans* la inhibición total se logra a los 180 minutos.

*C. albicans* presenta mayor tolerancia a la reacción de la Ag y Zn de la zeolita modificada en el agua, tanto de manera individual como en consorcio, en comparación con *E. coli*. En el consorcio, la constante cinética de desinfección para *E. coli* en agua de pozo frente a la ZAgZn<sub>2</sub> es de  $0.0049 \text{ min}^{-1}$  y para *C. albicans* es de  $0.018 \text{ min}^{-1}$ . El tiempo necesario para la inactivación total del consorcio microbiano es de 300 minutos.

Es importante el estudio de las zeolitas acondicionadas con metales frente a un consorcio microbiano, esto permitirá encontrar una solución para el acondicionamiento óptimo e ideal de las zeolitas, con el objetivo de ser eficiente en la desinfección del agua ante cualquier tipo de microorganismos.

### 5.2.2 Sugerencias

Con el propósito de mejorar el proceso de desinfección, reduciendo los tiempos de contacto, a partir de estos resultados es necesario una investigación complementaria que ayude a encontrar la selectividad de la zeolita por un ion metálico con propiedades fungicidas que pueda competir con la plata ya que el zinc no se logró apreciar claramente, lo que reveló la baja selectividad de la zeolita por este ion metálico ( $Zn^{2+}$ ). Asimismo, es recomendable estudiar con mayor profundidad el proceso de acondicionamiento de la zeolita natural con las sales metálicas de Ag y Zn, con la finalidad de favorecer especies químicas que favorezcan el proceso de desinfección más rápidamente.

### 5.3. Referencias

1. Top, S. Ulku. Silver, zinc, and copper exchange in a Na-clinoptilolite and resulting effect on antibacterial activity. *Applied Clay Science* 27 (2004) 13– 19.
2. Allaker R., K. Memarzadeh. 2014. Nanoparticles and the control of oral infections. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 43, 95– 104.
3. Amooghini E., Omidkhah M., Sanaeepour H., Kargari A. Preparation and characterization of Ag<sup>+</sup> ion-exchanged zeolite-Matrimid ®5218 mixed matrix membrane for CO<sub>2</sub>/CH<sub>4</sub> separation. *Journal of Energy Chemistry* 25 (2016) 450–462
4. Arciniegas-Grijalba P.A., Patiño-Portela M.C., Mosquera-Sánchez L.P., Guerrero-Vargas J.A., Rodríguez-Páez J.E. ZnO nanoparticles (ZnO-NPs) and their antifungal activity against coffee fungus *Erythricium salmonicolor*. *Appl Nanosci* (2017) 7:225–241.
5. Avval T.G., Carver V., Chapman S.C. Clinoptilolite, a type of zeolite, by near ambient pressure-XPS. *Surface Science Spectra* 27, 014007 (2020); <https://doi.org/10.1116/1.5129275>
6. Barragán, P., Macedo, M. G., Olgún, M. T. 2016. Cadmium sorption by sodium and thiourea- modified zeolite-rich tuffs. *J. Environ. Sci.* Volume 52, (2017), 39-48.
7. Benaliouche F., Hidous N., Guerza M., Zouad Y., Boucheffa Y. 2015. Characterization and water adsorption properties of Ag and Zn-exchanged A zeolite. Volume 209, 184-188.
8. Berk Z. Chapter 28: Cleaning, disinfection, and sanitation. *Food Process Engineering and Technology*. Third Edition (2018) 643-656. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812018-7.00028-2>.
9. Bernaldez A., A.M (1998) Identificación de la *Candida albicans* a través de su sensibilidad al fluconazol. Facultad de Química. UAEM. México.
10. Bosch, Pedro; Schifter, Isaac. “La Zeolita una Piedra que Hierve”. México: Fondo de Cultura Económica; 1988.
11. Breck, D.W. “Zeolite Molecular Sieves”. New York: John-Sons; 1974.
12. Burlibaşa L., Chifiriuc M. C., Lungu M. V., Lungulescu E.M., Mitrea S., Sbarcea G., Popa M., Măruţescu L., Constantin N., Bleotu C., Hermenean A. Synthesis, physico-chemical characterization, antimicrobial activity and toxicological

- features of AgZnO nanoparticles. *Arabian Journal of Chemistry* (2020) 13, 4180–4197.
13. Cabral D.J., Penumutthu S., Norris C., Morones-Ramirez J.R., Belenky P. Microbial competition between *Escherichia coli* and *Candida albicans* reveals a soluble fungicidal factor. *Microbial Cell* (2018). Vol. 5 No. 5. 249-255.
  14. Chandra A., Singh M. Biosynthesis of Amino Acid Functionalized Silver Nanoparticles for Potential Catalytic and Oxygen Sensing Applications. *Inorg. Chem. Front.*, 2018, 5, 233–257.
  15. Chick, H., 1908. An investigation of the laws of disinfection. *Epidemiol. Infect.* 8,92e158.<http://dx.doi.org/10.1017/S0022172400006987>.
  16. Clegg F., Breen C., Muranyi P., Schönweitz C. Antimicrobial, starch based barrier coatings prepared using mixed silver/sodium exchanged bentonite. *Applied Clay Science* 179 (2019) 105144.
  17. Creative, C. 2005. Contaminación y purificación del agua. <http://contaminacion-purificacionagua.blogspot.com/20050901archive.html>.
  18. Curi, A., Granda, W. J., Lima, H. M., & Sousa, W. T. (2006). Las Zeolitas y su Aplicación en la descontaminación de efluentes Mineros. *Información tecnológica*, 17(6), 111-118.
  19. CYTED. 2001. Agua potable para comunidades rurales, rehuso y tratamientos avanzados de aguas residuales domésticas. En Riesgo de enfermedades transmitidas por el agua en zonas rurales. CYTED: 155-67.
  20. D. W. Breck, (1974) "Zeolite molecular sieves ", Wiley, New York.
  21. Dalrymple O. K., Stefanakos E., Trotz M. A., Goswami D. Y. Review of the mechanisms and modeling of photocatalytic disinfection. *Applied Catalysis B: Environmental* 98 (2010) 27–38
  22. De Vargas, L., & Barrenechea Martel, A. (2004). Tratamiento de agua para consumo humano. Plantas de filtración rápida. Desinfección. Lima: CEPIS/OPS.
  23. Directive 2006/7/EC of the European Parliament and of the Council of 15 February 2006 concerning the management of bathing water quality and repealing Directive 76/160/EEC, off. J. Eur. Union, L64/37

24. Đolić M.B., Rajaković-Ognjanović V.N., Štrbac S. B., Rakočević Z.L., Veljović Đ.N., Dimitrijević S.I., Rajaković L.V. The antimicrobial efficiency of silver activated sorbents. *Applied Surface Science* 357 (2015) 819–831.
25. Eckhardt S., Brunetto P. S., Gagnon J., Priebe M., Giese B. K. M. Fromm. 2013. Nanobio Silver: It's Interactions with Peptides and Bacteria, and Its Uses in Medicine. *Chemical Reviews*. 113, 4708–4754.
26. Ettenauer, J., Zuser, H., Kellner, K., Posniecek, T., Brandl, M. 2015. Development of an automated biosensor for rapid detection and quantification of *E. coli* in water. *Procedia Engineering*. 120, 376 – 379.
27. Ferreira L., Guedes J.F., Almeida-Aguiar C., Fonseca A.M., Neves I.C. Microbial growth inhibition caused by Zn/Ag-Y zeolite materials with different amounts of silver. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 142 (2016) 141–147.
28. G. Carvajal, D. J. Roser, S. A. Sisson, A. Keegan, S. J. Khan. Bayesian belief network modelling of chlorine disinfection for human pathogenic viruses in municipal wastewater. *Water Research* 109 (2017) 144-154.
29. Gabrienko A. A., Arzumanov S.S., Toktarev A.V., Danilova I. G., Prosvirin I.P., Kriventsov V. V., Zaikovskii V. I., Freude D., Stepanov A. G. Different Efficiency of Zn<sup>2+</sup> and ZnO Species for Methane Activation on Zn-Modified Zeolite. *ACS Catal.* 2017, 7, 1818–1830.
30. García Sosa, Díaz Nava, Carmen; Rivera Garza, Magaly; Moreno Gutiérrez, Blanca Yenny; Olguín G., Ma. Teresa. "Caracterización y Preparación de Clinoptilolita intercambiada con plata". ININ INFORME CB-025-1998.
31. Giannetto P.G., Montes R.A., Rodríguez I.G. "Zeolitas: Características, Propiedades y Aplicaciones Industriales". 2ª ed. Caracas, Venezuela: Editorial Innovación Tecnológica; 1990: 22-25.
32. Gregg S.J., Sing K.S.W. The physical adsorption of gases by nonporous solids: type II isotherm. Adsorption, surface area and porosity. Academic Press, 1982, pp. 41-110.
33. He L., Liu Y., Mustapha A., Lin M. Antifungal activity of zinc oxide nanoparticles against *Botrytis cinerea* and *Penicillium expansum*. *Microbiological Research* 166 (2011) 207—215.



34. Hernández M.A., Rojas F., Lara V.H. Nitrogen-Sorption Characterization of the Microporous Structure of Clinoptilolite-Type Zeolites. *Journal of Porous Materials* 7, 443–454 (2000).
35. Herrera, T. y M. Ulloa, 1998. El reino de los hongos. Fondo de Cultura Económica, México, 552 p.
36. Hossain F., Perales-Perez O. J., Hwang S., F. Román. 2014. Antimicrobial nanomaterials as water disinfectant: Applications, limitations and future perspectives. *Science of the Total Environment*. 466–467, 1047–1059.
37. Jiraroj D., Tungasmita S., D. N. Tungasmita. 2014. Silver ions and silver nanoparticles in zeolite A composites for antibacterial activity. *Powder Technology*. 264, 418–422.
38. K. Manoli, S. Sarathy, R. Maffettone, D. Santoro. Detailed modeling and advanced control for chemical disinfection of secondary effluent wastewater by peracetic acid. *Water Research* 153 (2019) 251-262.
39. Khatami M., Sharifi I., Nobre M. A. L., Zafarnia N., Aflatoonian M R. (2018) Waste-grass-mediated green synthesis of silver nanoparticles and evaluation of their anticancer, antifungal and antibacterial activity, *Green Chemistry Letters and Reviews*, 11:2, 125-134, DOI: 10.1080/17518253.2018.1444797.
40. Kumar V., Swart H.C., Ntwaeaborwa O.M., Kroon R.E., Terblans J.J., Shaat S.K.K., Yousif A., Duvenhage M.M. Origin of the red emission in zinc oxide nanophosphors. *Materials Letters* 101 (2013)57–60.
41. L.G. Rossainz-Castro, I. De-La-Rosa-Gómez, M.T. Olguín, D. Alcántara-Díaz. Comparison between silver- and copper-modified zeolite-rich tuffs as microbicide agents for *Escherichia coli* and *Candida albicans*. *J Environ Manage* 2016 Dec 1; 183(Pt 3):763-770.
42. Leofanti G., Padovan M., Tozzola G., Venturelli B. Surface area and pore texture of catalysts. *Catalysis Today* 41 (1998) 207-219.
43. Li X.B., Ma S.Y., Li F.M., Chen Y., Zhang Q.Q., Yang X.H., Wang C.Y., Zhu J. Porous spheres-like ZnO nanostructure as sensitive gas sensors for acetone detection. *Materials Letters* 100 (2013)119–123.
44. Liao S.Y., Read D.C., Pugh W.J., Furr J.R., Russell A.D. 1997. Interaction of silver nitrate with readily identifiable groups: Relationship to the antibacterial action of silver ions. *Letters in Applied Microbiology*. 25 (4), 279-283.

45. M. Liu, Y. Ren, J. Wu, Y. Wang, J. Chen, X. Lei, Xi. Zhu. 2020. Effect of cations on the structure, physico-chemical properties and photocatalytic behaviors of silver-doped zeolite Y. *Microporous and Mesoporous Materials* 293, Article 109800.
46. M. Moradi, R. Karimzadeh, E. S. Moosavi. Modified and ion exchanged clinoptilolite for the adsorptive removal of sulfur compounds in a model fuel: New adsorbents for desulfurization. *Fuel* 217 (2018) 467-477.
47. Maddigpu P. R., Sawant B., Wanjari S., Goel M.D., Vione D., Dhodapka R. S., Rayalu S. Carbon nanoparticles for solar disinfection of water. *Journal of Hazardous Materials* 343 (2018) 157–165.
48. Madigan, M., Martinko, J., Parker, J. 2004. *Biología de los Microorganismos*. Pearson Prentice Hall. 10a Ed. España. 10140pp.
49. Maeda, T., & Y. Nosé. 1999. A New Antibacterial Agent: Antibacterial Zeolite.
50. Manoli K., Sarathy S., Maffettone R., Santoro D. Detailed modeling and advanced control for chemical disinfection of secondary effluent wastewater by peracetic acid. *Water Research* 153 (2019) 251-262.
51. Martínez Romero, A; Fonseca Gómez, K; Ortega Sánchez, JL; García-Luján, C (2009). Monitoreo de la calidad microbiológica del agua en la cuenca hidrológica del Río Nazas, México.
52. Maubert, M. 3<sup>er</sup>. Congreso de Zeolitas Mexicanas, 2003
53. Méndez Jiménez, O. L. 1997. “Aplicación y Evaluación de Clinoptilolita natural mexicana en suavizadores de agua para caldera”. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ingeniería Química. UV, Veracruz, México.
54. Milenkovic J., Hrenovic J., Matijasevic D., Niksic M., Rajic N. Bactericidal activity of Cu-, Zn-, and Ag-containing zeolites toward *Escherichia coli* isolates. *Environ Sci Pollut Res* (2017) 24:20273–20281.
55. Ming, D.W. y Dixon, J.B. 1987. Quantitative determination of clinoptilolite in soils by a cation-exchange capacity method. *Clays and Clay Minerals*, 35 (6): 463-468.
56. Moradi M., Karimzadeh R., Moosavi E. S. Modified and ion exchanged clinoptilolite for the adsorptive removal of sulfur compounds in a model fuel: New adsorbents for desulfurization. *Fuel* 217 (2018) 467-477.

57. Nagy, A., Harrison, A., Sabbani, S., Munson R., Dutta P., W. Waldman. 2011. Silver nanoparticles embedded in zeolite membranes: release of silver ions and mechanism of antibacterial action. *International Journal of Nanomedicine*. 6, 1833–1852
58. Norma Oficial Mexicana NOM-041-SSA1-1993. Bienes y servicios. Agua purificada envasada. Especificaciones sanitarias. Publicada en el Diario Oficial de la Federación, 29 de noviembre de 1994.
59. Norma Oficial Mexicana NOM-127-SSA1-1994, Salud Ambiental. Agua para uso y consumo humano-límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización. Publicada en el Diario Oficial de la Federación, 22 de noviembre de 2000.
60. O. K. Dalrymple, E. Stefanakos, M. A. Trotz, D. Y. Goswami. Review of the mechanisms and modeling of photocatalytic disinfection. *Applied Catalysis B: Environmental* 98 (2010) 27–38
61. Obregón Pérez, A. "Métodos de Análisis Químico de Rocas y Materiales Similares". 1ª ed. México: UNAM, Instituto de Geología. Dirección General de Publicaciones; 1973: 15-17.
62. OMS. 2011. E. coli enterohemorrágica (EHEC). Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs125/es/> (consultado en octubre 10, 2019).
63. Ortiz, L.E. Criterios y especificaciones concernientes a la exploración y valoración de minerales en la República Mexicana. 2001. Dirección de Recursos Minerales. Gerencia de Recursos Mineros. .
64. Ostroumov, F.M.; Ortiz, L.E.; Corona, C.P. Zeolitas de México diversidad mineralógica y aplicaciones. 2003. Sociedad Mexicana de Mineralogía.
65. Oszczudlowski, J.; Krason, J. 2003. Physico-chemical properties and applications of clinoptilolite-rich zeolites of Central Mexico. En: 3<sup>er</sup> Congreso Mexicano de Zeolitas Naturales, (Zacatecas, México) 2003 (Memorias) pp. 60-63
66. P. R. Maddigpu, B. Sawant, S. Wanjari, M.D. Goel, D. Vione, R. S. Dhodapka, S. Rayalu. Carbon nanoparticles for solar disinfection of water. *Journal of Hazardous Materials* 343 (2018) 157–165.

67. Panayotova M. I., Mintcheva N. N., Gemishev O. T., Tyuliev G. T., Gicheva G. D., Djerahov L. P. Preparation and antimicrobial properties of silver nanoparticles supported by natural zeolite clinoptilolite. *Bulgarian Chemical Communications*, Volume 50, Special Issue F (pp. 211–218) 2018.
68. Páramo-Rivas, F., Tovar-Serrano, A., & Rendón-Macías, M. E. (2015). Resistencia antimicrobiana en pacientes con infección de vías urinarias hospitalizados en el servicio de Medicina Interna del Nuevo Sanatorio Durango, de enero a diciembre de 2013. *Medicina Interna de Mexico*, 31(1).
69. Park S., Ko Y.-S., Jung H., Lee C., Woo K., Ko G. Disinfection of waterborne viruses using silver nanoparticle-decorated silica hybrid composites in water environments. *Science of the Total Environment* 625 (2018) 477–485.
70. Perdomo L., D. (1998) Desarrollo de medicamentos antimicrobianos a partir de la obtención de un nuevo producto activo zeolítico, Universidad de la Habana. Cuba
71. Pérez A., R. y Calaña R., A. (1995) Onicomycosis. Resultados preliminares del tratamiento clínico quirúrgico en un grupo de pacientes. *Experiencia Médica. Revista Cubana de Medicina General Integral*. Cuba
72. Popov, N., Yanev, Y., Iliev, T. Z., Popova, T. 2006. Clinoptilolitized pyroclastic rocks from Oaxaca (south Mexico): A mineralogical and technological study. *Proceedings of Zeolite'06–7th Int. Conf. on the occurrence, properties, and utilization of natural zeolites*. Socorro, New Mexico USA, pp. 208–209.
73. *Proceedings of the Conference of the Inorganic Chemicals Group, "Properties and applications of zeolites"* ed. R. P. Townsend, London (1979).
74. R. Szostak. "Molecular sieves. Principles of synthesis and identification" Van Nostrand Reinhol Catalysis Series. New York (1989).
75. Rai, A., Yadav, A., Gade, A. 2009. Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials. *Biotechnology Advances*. 27, 76 – 83.
76. Repositorio Digital. (s. f.). Métodos y Técnicas de caracterización. Recuperado 10 de julio de 2020, de <http://repositoriodigital.uns.edu.ar/bitstream/123456789/2144/5/CAP%202.pdf>
77. Reyes-Gómez, U., Reyes-Hernández, L., Santos-Calderón, L. A., Luévanos-Velásquez, A., Guerrero-Becerra, M., & Martínez-Arce, P. A. (2018).

- Enfermedad diarreica aguda en niños. Revista Salud Quintana Roo, 11(40), 34-41.
78. Rodríguez Fuentes, G. 1987. "Propiedades Físico-Químicas y Aplicaciones Industriales de la Clinoptilolita Natural". Tesis de doctorado en Ciencias Físicas. CENIC, Cuba.
79. Rodríguez-Fuentes, Urbina de Navarro, C.; Machado, F.; Rivera M., A.; Gener, R. Simón (Cuba, 2002). Evaluación por M.E.B de la Síntesis y Modificación de Clinoptilolita.
80. Romero, M. (2008). Tratamientos utilizados en potabilización de agua. *Boletín Electrónico [Internet]. [citado 2012 jun 16], 8, 1-12.*
81. Rossainz-Castro L.G., De-La-Rosa-Gómez I., Olgúin M.T., Alcántara-Díaz D. Comparison between silver- and copper-modified zeolite-rich tuffs as microbicide agents for *Escherichia coli* and *Candida albicans*. *J Environ Manage* 2016 Dec 1; 183(Pt 3):763-770.
82. Ruiz-Serrano D., Flores-Acosta M., Conde-Barajas E., Ramirez-Rosales D., Yanez-Limon J.M., Ramirez-Bon R. Study by XPS of different conditioning processes to improve the cation exchange in clinoptilolite. *Journal of Molecular Structure* 980 (2010) 149–155.
83. Salama T. M., Ali I.O, Gumaa, H. A., Lateef M. A, Bakr M. F. Novel Synthesis of Nay Zeolite from Rice Husk Silica: Modification with ZnO and ZnS for Antibacterial Application. *Chem Sci J* 2016, 7:1.
84. Sales R. V., Moura H.O.M.A., Câmara A.B.F., Rodríguez-Castellón E., Silva J.A.B., Pergher S.B.C., Campos L.M.A., Urbina M.M., Bicudo T.C., de Carvalho L.S. Assessment of Ag Nanoparticles Interaction over Low-Cost Mesoporous Silica in Deep Desulfurization of Diesel. *Catalysts* 2019, 9, 651.
85. Salinas Pedroza, G.; Becerril Morales, F.; Solache Ríos, M.J.; Olgúin Gutiérrez, M.T.; Fall, C. 2001. Determinación de la capacidad de intercambio catiónico (CIC) de zeolita natural del Estado de Oaxaca, México. En 2do. Congreso Mexicano de Zeolitas Naturales, (Puebla, México) 2001 (Memorias) pp. 1-4.
86. Shaban M., Mohamed F., Abdallah S. Production and characterization of superhydrophobic and antibacterial coated fabrics utilizing ZnO nanocatalyst. *Scientific reports* (2018) 8:3925. DOI:10.1038/s41598-018-22324-7
87. Skoog, Duoglas. "Análisis Instrumentales". Macgraw-Hill; 1998.

88. Smart L. and Moore E. "Química del estado sólido". México: Addison-Wesley Iberoamericana, S.A; 1995.
89. Storck S., Bretinger H., Maier W. F. Characterization of micro - and mesoporous solids by physisorption methods and pore-size analysis. *Applied Catalysis A: General* 174 (1998) 137-146.
90. Susarrey-Arce A., Petranovskii V., Hernández-Espinosa M. A., Portillo R., de la Cruz W. Optical Properties of ZnO Particles on the Porous Structure of Mordenites and ZSM-5. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology* Vol. 11, 1–6, 2011.
91. Tchobanoglous G., Burton F. L., H.D. Stensel 2003. *Wastewater Engineering Treatment and Reuse*. Fourth Edition. Metcalf & Eddy Inc. pp. 1878.
92. Thommes M., Kaneko K., Neimark A.V., Olivier J.P., Rodriguez-Reinoso F., Rouquerol J., Sing K. S.W. Physisorption of gases, with special reference to the evaluation of surface area and pore size distribution (IUPAC Technical Report. *Pure Appl. Chem.* 2015; aop. DOI 10.1515/pac-2014-1117.
93. Tiri, A., Belkhir, L. and Mouni, L. (2018) "Evaluation of surface water quality for drinking purposes using fuzzy inference system," *Groundwater for Sustainable Development*, (6). 235–244. doi: 10.1016/j.gsd.2018.01.006.
94. Top A., Ulku S. Silver, zinc, and copper exchange in a Na-clinoptilolite and resulting effect on antibacterial activity. *Applied Clay Science* 27 (2004) 13– 19.
95. Tosheva L., Belkhair S., Gackowski M., Malic S., Al-Shanti N., Verran J. Rapid screening of the antimicrobial efficacy of Ag zeolites. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 157 (2017) 254–260.
96. Traverso, H. 1996. *Agua y salud en América Latina y el Caribe: Enfermedades infecciosas transmitidas por el agua*. ILSI Press. USA. pp. 51- 58.
97. Tsitsishvili, G.V. et al. "Natural Zeolites". Inglaterra: Hellis Horwood; 1992.
98. UNICEF, 2016. *Una ya es demasiado: Poner fin a las muertes a causa de la neumonía y la diarrea*, UNICEF, Fondo de las Naciones Unidas para la Infancia. Nueva York.
99. United States Environmental Protection Agency, EPA, Edition of the Drinking Water Standards and Health Advisors, EPA 820-R-11-002, Office of Water U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC, 2011.

100. Universidad Andres Bello. (s. f.). Departamento de Ciencias Químicas. Recuperado 10 de julio de 2020, de <http://quimica.unab.cl/laboratorio-de-analisis-de-solidos-las/informacion/fundamentos-teoricos/microscopia-electronica-de-barrido-con-detector-eds-sem-eds/>.
101. Volesky B. 2007. Biosorption and me. Water Research. 41, 4017- 4029.
102. WHO Library Cataloguing-in-Publication Data Guidelines for drinking-water quality: fourth edition. 2017.
103. WHO, Progress on drinking water, sanitation and hygiene, 2017.
104. Wiley, Chichester (1988) A. Dyer "An introduction to zeolite molecular sieves ".
105. Wong M.-S., Chen C.-W., Hsieh C.-C., Hung S.-C., Sun D.-S., Chang H.-H. Antibacterial property of Ag nanoparticle-impregnated N-doped titania films under visible light. Scientific Reports | 5:11978 | DOI: 10.1038/srep11978.
106. World Health Organization (WHO), Guidelines for Drinking Water Quality, vol. 2, WHO, Geneva, 1996.
107. Yamamoto, T., Kudo, T., Yamamoto, T., Kawai, J. 2013. Analysis of coordination environment of aluminum species in zeolites and amorphous silica–alumina by X-ray absorption and emission spectroscopy. Microporous Mesoporous Mater. 182, 239 – 243.
108. Yan Y., Zhou X., Lan J., Li Z., Zheng T., Cao W., Zhu N., Liu W. Efficient photocatalytic disinfection of *Escherichia coli* by N-doped TiO<sub>2</sub> coated on coal fly ash cenospheres. Journal of Photochemistry & Photobiology A: Chemistry 367 (2018) 355–364
109. Zhang J., Tejada-Martínez A. E., Zhang Q. Developments in computational fluid dynamics-based modeling for disinfection technologies over the last two decades: A review. Environmental Modelling & Software 58 (2014) 71-85.
110. Zhang X., Qin J., Xue Y., Yu P., Zhang B., Wang L., Liu R. (2014). Effect of aspect ratio and surface defects on the photocatalytic activity of ZnO nanorods. Scientific reports 4: 4596 | DOI: 10.1038/srep04596.
111. Zheng K., Setyawati M. I., Leong D. T., Xie J. Antimicrobial silver nanomaterials. Coordination Chemistry Reviews 357 (2018) 1–17.
112. Z. Schaechter, M. (2009). Enciclopedia de microbiología. Prensa académica.

113. zPruss-Ustun, A. y Organización Mundial de la Salud. (2008). Agua más segura, mejor salud: costos, beneficios y sostenibilidad de las intervenciones para proteger y promover la salud. Organización Mundial de la Salud.



ANEXO

Certificado de calidad del agua



Universidad Autónoma del Estado de México  
Instituto Interamericano de Tecnología y Ciencias del Agua

N° de registro IITCALAB 003-01/20

PROYECTO \*Sobrevivencia de *Escherichia coli* y *Candida albicans* presentes en agua modificada con Ag-Zn\* PROCEDENCIA Zinacantepec, Edo. de México  
 NOMBRE Karen Rosas Echeverría FECHA DE RECEPCIÓN 10/03/2020 HORA: 09:30hrs  
 MUESTREADOR Solicitante

	Agua de Pozo de Municipio de Zinacantepec IITCAAP100320013	
Cloruros (NMX-AA-073-SCFI-2001)	13.0	mg/L Cl <sup>-</sup>
Dureza Total (NMX-AA-072-SCFI-2001)	440.8	mg/L CaCO <sub>3</sub>
Flúor (Electrodo de Ion selectivo)	0.04	mg/L F <sup>-</sup>
Hierro (NMX-AA-051-SCFI-2001)	<0.5	mg/L Fe
Nitratos (MÉTODO HACH)	1.99	mg/L N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>
Nitritos (NMX-AA-079-SCFI-2001)	N.D	mg/L N-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>
Sodio (NMX-AA-051-SCFI-2001)	19.22	mg/L Na
Sólidos Disueltos Totales (NMX-AA-34-SCFI-2001)	296	mg/L SDT
Sulfatos (NMX-AA-074-SCFI-1981)	25.77	mg/L SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>

OBSERVACIONES: (N.D.) No Detectado

Toluca, Méx., a 10 de Abril de 2020

*Ana Elisa A.V.*

M. en C. Ana Elisa Alcántara Valladolid  
Jefa del Laboratorio de Calidad del Agua del IITCA



Carretera Toluca – Ixtlahuaca km. 14.5  
San Cayetano Morelos, Toluca, Estado de México, CP. 50120  
Teléfonos +52 (722) 296-5550/51 +52 (722) 180-6191/92

