

Evaluación de la actividad bactericida sobre *Shigella sp.* de sistemas compuestos basados en Hidróxidos Dobles Laminares (HDL) y Yoduro de Potasio



Estudiante:

Juan Camilo Valencia Castañeda

TRABAJO DE GRADO PARA OBTENER EL TITULO DE INGENIERO AMBIENTAL

Universidad Católica de Manizales
Facultad de Ingeniería y Arquitectura
Ingeniería Ambiental
Manizales, Caldas
Noviembre, 2020

Evaluación de la actividad bactericida sobre *Shigella sp.* de sistemas compuestos basados en Hidróxidos Dobles Laminares (HDL) y Yoduro de Potasio

Estudiante:

Juan Camilo Valencia Castañeda

TRABAJO DE GRADO PARA OBTENER EL TITULO DE INGENIERO AMBIENTAL

Socialización del informe de trabajo de grado en modalidad de Asistencia de investigación

Docente:

Christhy Vanessa Ruiz

Doctora en Ingeniería Química

Universidad Nacional de Colombia

Universidad Católica de Manizales
Facultad de Ingeniería y Arquitectura
Ingeniería Ambiental
Manizales, Caldas
Noviembre, 2020

Agradecimientos

Me llena de satisfacción finalizar mi pregrado universitario con este trabajo de investigación. Proyecto que me deja con enseñanzas a aplicar en la cotidianidad, como la importancia de la planificación, el trabajo en equipo y la obtención de resultados.

Gracias infinitas a mis padres, Álvaro Lozano (QEPD) y, Lucila Castañeda, quienes me apoyaron y acompañaron incondicionalmente en cada momento, son mi motivación y ejemplo a seguir...

Debo agradecer también a la Universidad Católica de Manizales por aportar conocimiento de valor y por procurar formar personas, profesionales integrales. De manera especial al profesor Jhon Mauricio Aguirre Cortez por la sugerencia de la línea de investigación, al profesor Wilmar Osorio Viana por el acompañamiento en la parte experimental de proyecto y a la profesora Christhy Vanessa Ruiz por dirigirme en la estructuración y síntesis de la revisión bibliográfica del proyecto.

Finalmente, a todos los compañeros, docentes y amigos que fueron parte de esta etapa y aportaron un granito de arena a mi formación.

Resumen

En el presente trabajo fue explorada la actividad bactericida de sistemas compuestos basados en Hidróxidos dobles Laminares (HDL) intercambiados con aniones yoduro. Los sistemas laminares anfitriones, HDL, fueron sintetizados por el método de coprecipitación a partir de la mezcla de sal sulfatada resultante del aprovechamiento de polvo de acería e hidróxido de sodio. Los HDL resultantes fueron intercambiados con aniones yoduro a través del mecanismo de adsorción para obtener sistemas compuestos del tipo HDL-I. La evaluación del efecto bactericida se valoró a través de curvas de letalidad contra el microorganismo *Shigella sp.* en muestras de agua contaminada utilizando diferentes concentraciones en relaciones m/v del sistema compuesto sintetizado (HDL-I). Los resultados obtenidos evidenciaron que para concentraciones de 0.010 y 0.018 g/mL agua contaminada, la acción bactericida sobre el microorganismo *Shigella sp.* fue superior a la obtenida para cantidades inferiores del sistema compuesto.

Abstract

In the present work, the bactericidal activity of composite systems based on double laminar hydroxides (HDL) exchanged with iodide anions was explored. The host laminar systems, HDL, were synthesized by the coprecipitation method from the sulfated salt mixture resulting from the use of steel dust and sodium hydroxide. The resulting HDLs were exchanged with iodide anions through the adsorption mechanism to obtain HDL-I type composite systems. The evaluation of the bactericidal effect was evaluated through lethality curves against the microorganism *Shigella sp.* in contaminated water samples using different concentrations in m / v ratios of the synthesized composite system (HDL-I). The results obtained showed that for concentrations of 0.010 and 0.018 g / mL contaminated water, the bactericidal action on the microorganism *Shigella sp.* it was higher than that obtained for lower amounts of the composite system.

Tabla de contenido

1.	Fundamentos Teóricos.....	9
1.1.	Introducción.....	9
1.2.	Objetivos.....	11
1.2.1.	Objetivo General.....	11
1.2.2.	Objetivos Específicos.....	11
1.3.	Planteamiento del Problema.....	12
1.4.	Hipótesis.....	13
1.5.	Justificación.....	14
2.	Marco Teórico.....	17
2.1.	Hidróxidos Dobles Laminares (HDL).....	18
2.2.	Métodos de síntesis.....	19
2.2.1.	Co-precipitación.....	20
2.2.2.	Hidrotermal.....	21
2.2.3.	Hidrólisis de Urea.....	21
2.2.4.	Intercambio iónico.....	21
2.2.5.	Rehidratación.....	22
2.3.	Aplicaciones de los HDL.....	22
2.4.	Características del Yoduro de Potasio (KI).....	23
2.5.	Intercalación de aniones yoduro (I ⁻) en los Hidróxidos Dobles Laminares (HDL).....	25
2.6.	Sistemas compuestos basados en Hidróxidos Dobles Laminares.....	26
2.6.1.	Sistemas compuestos basados – Yodo.....	27
2.6.2.	Sistemas compuestos basados HDL– Flúor.....	27
2.6.3.	Sistemas compuestos basados HDL– Cloro.....	28
2.6.4.	Sistemas compuestos basados HDL– Bromo.....	29
2.7.	Contaminación de Agua con Patógenos.....	29
2.7.1.	El microorganismo Shigella sp.....	31
2.8.	Actividad Bactericida de los Hidróxidos Dobles Laminares – Yoduro (HDL-I ⁻).....	32
3.	Experimentación.....	33
3.1.	Materiales.....	33

3.2.	Métodos.....	35
3.2.1.	Síntesis hidróxidos dobles laminares (HDL).....	36
3.2.2.	Actividad bactericida	40
4.	Resultados.....	44
4.1.	Síntesis Hidróxidos Dobles Laminares (HDL).....	44
4.2.	Intercambio Aniónico de Yoduro en los Hidróxidos Dobles Laminares (HDL)	46
4.3.	Evaluación de la Actividad Bactericida.....	46
5.	Conclusiones	52
6.	Recomendaciones	53
7.	Referencias.....	54

Índice de Tablas

<i>Tabla 1. Posibles Composiciones de HDL a través de la variación de compuestos químicos. Fuente: Tomado y adaptado de (Crepaldi & Valim, 1997).</i>	19
<i>Tabla 2. Cantidad de reactivos de síntesis y HDL obtenida.</i>	44
<i>Tabla 3. Tabla de resultados No. UFC Shigella sp.</i>	47
<i>Tabla 4. Tabla de resultados $K=[(-\ln(N_t))/t]$ - Shigella sp.</i>	47

Índice de Gráficas

Gráfica 1. Representación esquemática de la estructura de los ZnAl-HDL intercambiado con yoduro (I ⁻) en espacio interlamilar. Imagen tomada de “On the Intercalation of the Iodine–Iodide Couple on Layered Double” Fuente: (Maria Bastianini, 2012)	18
Gráfica 2. Yoduro de Potasio granular. Fuente: (Anmol Chemicals , 2016).	24
Gráfica 3. Ilustración tridimensional del microorganismo Shigella sp. Fuente: (Hygiene, 2019).	31
Gráfica 4. Montaje para la síntesis por el método de coprecipitación de los HDL. sal sulfatada [izquierda], hidróxido de sodio [derecha]	36
Gráfica 5. a) Mezcla de sal sulfatada e hidróxido de sodio, controlando pH en continua agitación, b) Solución con HDL en proceso de precipitación.....	37
Gráfica 6. HDL sintetizados en el laboratorio de investigación de la UCM.	38
Gráfica 7. HDL sintetizados deshidratados en desecador durante 5 días.	38
Gráfica 8. HDLs en proceso de trituración.	39
Gráfica 9. Medición y disposición de 40 mL de agua contaminada con cepa de Shigella sp.	42
Gráfica 10. Adición de las cantidades: 0.00g, 0.20g, 0.30g, 0.41g y, 0.71g del sistema compuesto HDL, a los frascos ISO tapa azul con agua contaminada; y agitación vigorosa (de izquierda a derecha).	43
Gráfica 11. Agua residual contaminada con cepa de Shigella sp. en contacto durante 24 horas con HDL intercambiado con KI.....	43
Gráfica 12. Producto. HDL. Diferentes tiempos y métodos de secado.	45
Gráfica 13. HDL en proceso de intercambio aniónico de los HDL usando KI.....	46
Gráfica 14. Representación de las curvas de Letalidad contra el shigella sp del sistema compuesto HDL-I a diferentes concentraciones en función de los diferentes tiempos.....	48
Gráfica 15. Seguimiento fotográfico a la acción inhibitoria del sistema compuesto HDL-I contra Shigella sp. a diferentes concentraciones, 24 horas después de iniciado el proceso de incubación.	50

1. Fundamentos Teóricos

1.1. Introducción

Los Hidróxidos Dobles Laminares (HDL) son una familia de materiales con estructura laminar que ha tomado gran interés investigativo en las últimas décadas debido a sus características estructurales que les confieren interesantes propiedades físicas y químicas. Estos materiales tienen como fórmula general: $[M^{II}_{1-x}M^{III}_x(OH)_2]^{x+} [A^{n-x} / n \cdot yH_2O]^{x-}$, donde M^{II} y M^{III} son cationes metálicos divalentes y trivalentes, respectivamente, y A^{n-} es un anión valente (Zümreoglu & Nedim, 2011). Dentro los campos de aplicación de los HDL se encuentra el área ambiental donde han sido aplicados como adsorbentes de pesticidas aniónicos, contaminantes inorgánicos y radionucleidos aniónicos en fuentes acuosas, también en la liberación controlada de moléculas, biomoléculas, fármacos e incluso material genético en el campo de la medicina y la biología, y en la catálisis, como soportes catalíticos o precursores de óxidos catalizadores. Esto debido principalmente a sus características estructurales, que está constituida por láminas cargadas positivamente con cationes divalentes y trivalentes y, una zona interlaminar en donde coexisten aniones y moléculas de agua que pueden ser intercambiados por otros compatibles con la carga de las láminas (Bejar, 2016).

En la lista de aniones intercambiables en la región interlaminar de los HDL está el yoduro, no solo por su afinidad electrónica con la carga de las láminas de los HDL (Kenjono & Irawal, 2004) sino por su capacidad inactivadora de microorganismos presentes en agua de mala calidad (Tandon & Vasudevan, 2009) a través del deterioro de proteínas y ácidos nucleicos de los microorganismos (Xuan, y otros, 2018).

investigaciones previas desarrolladas por Kenjono et.al (Kenjono & Irawal, 2004), donde se evaluó la capacidad de HDL para adsorber yodo los resultados desde isothermas de adsorción evidenciaron una adsorción de aniones yodo (I^-) rápida y viable. En el trabajo de Kentjono et al., donde se utilizó (Mg – Al) - HDL para tratar aguas residuales que contienen altas concentraciones de yodo, los resultados revelaron una alta eficiencia en la remoción de yodo, especialmente en un pH de 9,0 a 9,2 (Kentjono et al., 2009).

Las curvas de letalidad son una herramienta útil para la evaluación de la capacidad bactericida de un compuesto frente a un microorganismo a través del conteo de las Unidades Formadoras de Colonias (UFC) después de poner en contando a diferentes a tiempos y concentraciones el material inhibidor con el microorganismo a evaluar.

Considerando la alta capacidad de intercambio de los HDL y la alta afinidad de estos sistemas con el anión yoduro (I^-) existe alto potencial de formar sistemas compuestos del tipo HDL-I a través del intercambio aniónico como una alternativa viable en el tratamiento biológico de aguas contaminadas aprovechando la capacidad bactericida del yoduro (I^-). Por lo cual, en este trabajo se evalúa la actividad bactericida de sistemas compuestos HDL-I sobre el microorganismo *Shigella sp* a través de curvas de letalidad.

1.2. Objetivos

1.2.1. *Objetivo General*

- Evaluar de la actividad bactericida sobre *Shigella sp.* de sistemas compuestos basados en Hidróxidos dobles laminares y Yoduro de Potasio (HDL-I).

1.2.2. *Objetivos Específicos*

- Emplear polvo de acería para la preparación de los Hidróxidos dobles Laminares utilizados como matriz laminar.
- Realizar el proceso de intercambio en la matriz laminar (HDL) de aniones yoduro (I^-) a partir de Yoduro de Potasio.
- Describir la actividad bactericida en función de la concentración de sistemas compuestos HDL-I contra *Shigella sp* a partir de curvas de letalidad.

1.3. Planteamiento del Problema

El agua se almacena naturalmente de forma superficial, subterránea o de manera artificial, a través de tanques o recipientes de almacenamiento. Durante este proceso, el agua se expone al contacto con microorganismos potencialmente perjudiciales que se encuentran presentes en el medio (Thomas, Loret, Jousset, & Greub, 2008). Los riesgos para la salud relacionados con el agua de consumo más comunes y extendidos son las enfermedades infecciosas ocasionadas por agentes patógenos como bacterias, virus y parásitos (OMS, 2017). Se ha reportado que microorganismos patógenos como *Escherichia coli*, *Shigella* spp., *Salmonella* spp., *Vibrio cholerae* y enterovirus han sido encontrados en agua recolectada de manantiales, grifos públicos, canales de drenaje y agua superficial (Sadik, y otros, 2017). Particularmente, el microorganismo *Shigella* sp. produce una infección invasiva del intestino (Hernández, y otros, 2008), que recibe el nombre de “Shigelosis”. Se ha estimado que dicho síndrome causa al menos 80 millones de casos de diarrea sanguinolenta en todo el mundo, incluidas unas 700.000 muertes al año (Tai, y otros, 2016). Lo anterior evidencia la necesidad de nuevas estrategias y tecnologías para el tratamiento de agua para consumo que permitan reducir la presencia de dichos microorganismos patógenos y sus efectos sobre la salud humana.

1.4. Hipótesis

Las hipótesis propuestas para el presente trabajo investigativo son:

- Las características estructurales de los hidróxidos dobles laminares favorecen el intercambio de especies compatibles con la carga de sus láminas a través de procesos de adsorción para la formación de sistemas compuestos.
- Los aniones yoduro (I^-) intercambiados juegan un rol importante en la actividad bactericida de los materiales compuestos.

1.5. Justificación

El agua es el recurso básico para garantizar la vida de todos los seres vivos en el planeta. El acceso a agua, saneamiento e higiene es un derecho fundamental y es uno de los principales retos para el siglo XXI. El alto nivel de contaminación de los recursos hídricos por la actividad humana ha ocasionado una disminución considerable de agua potable, lo que a su vez pone en peligro la salud humana debido al alto riesgo de contraer y transmitir enfermedades. El consumo de agua contaminada con heces y malas prácticas higiénicas favorecen la propagación de microorganismos patógenos, incluidos virus, bacterias y parásitos (Pichel, Vivar, & Fuentes, 2019).

Estos microorganismos son responsables de diversas enfermedades transmitidas por el agua. Se consideran la principal causa de desnutrición debido a la mala digestión de los alimentos ingeridos por personas afectadas por bacterias fecales y virus entéricos, además ocasionan la reducción de la resistencia a las infecciones y el deterioro del crecimiento físico y el desarrollo cognitivo. Esto pone en evidencia, que la misma agua que es esencial para vivir, puede ser al mismo tiempo la causa de enfermedades que pueden conducir al sufrimiento, la discapacidad crónica y la muerte (Pichel et al., 2019).

En este contexto, lograr el acceso al agua requiere garantizar un suministro adecuado de agua, saneamiento e higiene no solo por las implicaciones para la salud pública sino también por la seguridad alimentaria, la reducción de la pobreza y la igualdad. Así, el estudio y desarrollo de nuevas tecnologías para el tratamiento de agua que garanticen el acceso a agua segura para consumo son obligatorios e imperiosos.

Dentro de las nuevas tecnologías, la investigación y desarrollo de nuevos materiales surge como una alternativa interesante para su aplicación en el tratamiento de agua y en la remediación de

problemáticas medioambientales (Zümreoglu-Karan & Ay, 2012). En este sentido, los materiales laminares como los Hidróxidos Dobles Laminares (HDL) son de interés particular debido a su versatilidad y funcionalidad. Estas estructuras tienen como propiedades principales su capacidad de intercambio aniónico interlaminar, y la posibilidad de variar las composiciones de los cationes que conforman sus laminas, lo que resulta en una gran variedad de materiales compuestos que pueden ser aplicados en áreas como la catálisis, sorbentes y agentes de liberación-almacenamiento de medicamentos (Zümreoglu-Karan & Ay, 2012).

Entre los aniones que se han intercambiado en los Hidróxidos Dobles Laminares (HDL) para la formación de sistemas compuestos en diferentes aplicaciones se encuentran los haluros (F^- , Cl^- , Br^- , I^-), oxoaniones (CO_3^{2-} , NO_3^- , SO_4^{2-} , CrO_4^{2-}) y aniones complejos como $[Fe(CN)_6]^{4-}$, $[NiCl_4]^{2-}$ (Crepaldi & Valim, 1998) y moléculas activas (vitamina C (Gao et al., 2013), ácido salicílico (Silion, Hritcu, & Popa, 2009), ácido gálico (Yeganeh Ghotbi & Bin Hussein, 2010)).

En particular, las investigaciones previas sobre sistemas de HDL y aniones yoduro (I^-) han aprovechado las propiedades de adsorción de la estructura laminar para la remoción de I^- desde soluciones acuosas (Theiss, Couperthwaite, Ayoko, & Frost, 2014) (Kentjono, Liu, Chang, & Irawan, 2010), así como para la síntesis y caracterización de diferentes sistemas basados en HDL-I (Iglesias et al., 2016). También, para la formación de sistemas compuestos HDL-I y su caracterización para su potencial aplicación como electrolito en celdas de combustible a través del intercambio de I^- (Bastianini et al., 2014) (Bastianini et al., 2012). La alta afinidad electrónica de los aniones I^- a la estructura laminar de los Hidróxidos Dobles Laminares es el mecanismo responsable de la formación de los sistemas compuestos HDL-I (Iglesias et al., 2016).

Es importante mencionar que el yodo es un elemento esencial para la salud humana, principalmente debido a su influencia en el funcionamiento adecuado de la tiroides. Este elemento

además presenta propiedades antimicrobianas por lo que ha sido utilizado en la desinfección y tratamiento de agua (Theiss et al., 2014)(Vasudevan & Tandon, 2010)(Jie, Ying, & Yuyu, 2010).

Para nuestro conocimiento, las propiedades antimicrobianas de sistemas compuestos basados en HDL y aniones I⁻, han sido poco o nada exploradas, por lo que resulta una oportunidad relevante de investigación desde el uso y aplicación de los materiales, la evaluación de su actividad antimicrobiana en búsqueda de nuevas alternativas para el tratamiento biológico de aguas contaminadas con microorganismos como el *Shigella sp.*

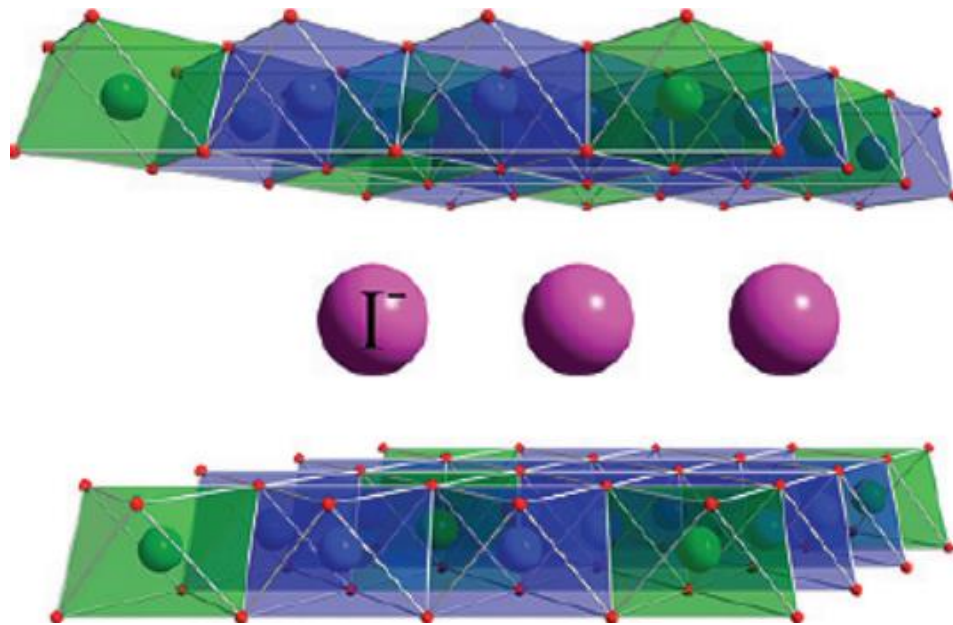
2. Marco Teórico

En el desarrollo del presente trabajo de investigación se tuvo como referencia artículos científicos de las revistas "Nature", "Industrial & Engineering Chemistry Research" y "Revista Iberoamericana de Microbiología", además de múltiples tesis de maestría y doctorado de estudiantes en múltiples universidades. Habiendo avanzado en la revisión bibliográfica, se tuvieron presentes los siguientes artículos fundamentalmente para tener un marco de referencia en la metodología de la experimentación.

- (Rodriguez, Ruitter, & Elshof, 2017) sintetizaron hidróxidos dobles laminares mediante el método de intercalación y descomposición de peróxido de hidrogeno, con el propósito de que las nanoburbujas de gas oxígeno producto de la reacción perforaran los orificios de la estructura en capas del material mediante la acumulación de presión local.
- (Prasanna & Kamath, 2009) intercambiaron los aniones NO_3^- y Cl^- en hidróxidos dobles laminares de Mg y Al a través de la suspensión de cantidades específicas del hidróxido doble lamiar en soluciones con los aniones mencionados. En condiciones equilibradas dicha interacción produjo una isoterma tipo V, lo que indica que se libera con mayor facilidad el anión Cl^- que el anión NO_3^- .
- (Pemán & Javier, 1999) explican cómo realizar una curva de letalidad en antifúngicos, metodología aplicable también a antimicrobianos, variando las concentraciones del compuesto inactivador y haciendo el conteo de UFC en diferentes intervalos de tiempo.

2.1. Hidróxidos Dobles Laminares (HDL)

Los Hidróxidos Dobles Laminares (HDL) son estructuras sintéticas formadas por láminas de hidróxidos metálicos cargadas positivamente, las cuales son estabilizadas con aniones interlaminares. La fórmula general de estos materiales es $[M^{2+}_{1-x} M^{3+}_x (OH)_2]^{x+} (A^{n-})_{x/n} \cdot mH_2O$, donde M^{2+} es un catión divalente (Ca^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} , Mn^{2+}), M^{3+} es un catión trivalente (Al^{3+} , Cr^{3+} , Fe^{3+} , Co^{3+} , Ni^{3+} , Mn^{3+}), A^{n-} es un anión (I^- , Cl^- , NO_3^- , ClO_4^- , CO_3^{2-} , SO_4^{2-}) (Martínez & Carbajal, 2012). Estos materiales también se conocen como material tipo “hidrotalcita” $[Mg_{x-1}Al_x(OH)_x]^{x+}$ por sus semejanzas en estructura, propiedades y de composición.



Gráfica 1. Representación esquemática de la estructura de los ZnAl-HDL intercambiado con yoduro (I⁻) en espacio interlaminar. Imagen tomada de “On the Intercalation of the Iodine–Iodide Couple on Layered Double” Fuente: (Maria Bastianini, 2012)

Estos compuestos tienen una estructura cristalina en capas con amplias variaciones en la naturaleza de los cationes y las relaciones molares M^{2+} / M^{3+} , así como en el tipo de aniones interlaminares responsables del balance de carga en la estructura (Zümreoglu & Nedim, 2011).

Tabla 1. Posibles Composiciones de HDL a través de la variación de compuestos químicos. Fuente:

Tomado y adaptado de (Crepaldi & Valim, 1997).

Composición			Nombre del Mineral	
M ²⁺	M ³⁺	A ^{m-}	Romboédrico (3R), R3m	Hexagonal (2H), P6 ₃ mmc
Mg	Al	CO ₃ ²⁻	Hidrotalcita	Manaseita
Mg	Cr	CO ₃ ²⁻	Estictita	Barbetonita
Mg	Fe	CO ₃ ²⁻	Piruarita	Esjogrenita
Ca	Al	OH ⁻	-	Hidrocalumita
Ni	Al	CO ₃ ²⁻	-	Tacovita
Ni	Fe	CO ₃ ²⁻	Reevesita	-
Ni	Fe	SO ₄ ²⁻	Honessita	-

Desde la información descrita en la tabla 1 es posible evidenciar que cambiando la naturaleza de los cationes divalentes y trivalentes, su relación molar y los aniones localizados en la capa intermedia, es posible obtener diferentes compuestos que exhiben una amplia variedad de propiedades, lo que hace a los HDL versátiles y funcionales.

2.2. Métodos de síntesis

Existen diferentes métodos para la síntesis de HDL. La aplicación de uno u otro depende del material de laboratorio con el que se cuente y la aplicación que se le vaya a dar al HDL. A continuación, se exponen los métodos más comunes.

2.2.1. *Co-precipitación*

Es una de las técnicas más utilizadas para la síntesis de HDL por su simplicidad y porque permite la preparación directa de HDL usando una gran variedad de aniones y cationes (divalente y trivalentes). Esta técnica se desarrolla a través de la adición de soluciones acuosas con los cationes M^{2+} y M^{3+} y el anión que se desee en el espacio interlamilar (Jaiswal, Kumar, & Chandra, 2014). Estos compuestos generalmente se obtienen a través de la combinación de sales metálicas y un agente hidróxido a pH constante, en un rango alcalino, lo cual hace al método de co-precipitación una de las vías más simples y viables económicamente (Jaiswal, Kumar, & Chandra, 2014). Dentro del método de coprecipitación existen tres variaciones.

Co-precipitación por Titulación. Se desarrolla a través de la mezcla de una solución de sal metálica con una solución básica con agitación constante, con pH controlado, generalmente básico (Wang, Li, Zhao, & Cao, 2012).

Co-precipitación a Baja Saturación. Co-precipitación a pH constante y temperatura entre 60 y 80°C mediante la adición lenta de una solución mixta de sales M^{2+} y M^{3+} en la proporción elegida y la solución base. La velocidad de adición debe controlarse para obtener una fase más homogénea (He, 2006).

Coprecipitación a alta saturación. Se agrega solución que contiene una mezcla del ion metálico a la solución básica y se mezcla rápidamente. Esto da como resultado la formación de HDL que generalmente no son muy cristalinos, pero a veces se obtiene un producto amorfo debido al alto número de formación de núcleos (König, 1997).

2.2.2. Hidrotermal

El método de síntesis hidrotermal es empleado generalmente para controlar el tamaño y la distribución de las partículas. Trabajos de investigación previos realizados por Sharma et al., demostraron que el tamaño del cristal de los HDL aumenta cuando la temperatura llega hasta 180 °C, mientras que por encima de 200 °C el material comienza a reducir su tamaño. Hay dos rutas para desarrollar este método. En la primera, los HDL se pueden sinterizar a partir de precursores como MgO y Al₂O₃ o de mezclas obtenidas de la descomposición de las formas nitrato de estos precursores utilizando una autoclave a presión. En la segunda ruta, los HDL se sintetizan a bajas temperaturas y se someten a un proceso de envejecimiento. El envejecimiento implica someter a reflujo el precipitado a una temperatura establecida durante 18 horas (Jaiswal et al, 2014).

2.2.3. Hidrólisis de Urea

En la hidrólisis de urea se utiliza usualmente un pH aproximado de 9 dependiendo de la temperatura de la mezcla, lo que permite que la urea sea utilizada como agente precipitante en la síntesis de HDL (Costantino et al, 1998). Trabajos previos han evidenciado que el grado de cristalinidad de los HDL depende de la temperatura de síntesis y del tiempo de envejecimiento. Las partículas más grandes se forman a bajas temperaturas (Kaiho, 2001). Este método permite la preparación de compuestos con alta densidad de carga que son difíciles de obtener con otros procedimientos (Costantino et al, 1998).

2.2.4. Intercambio iónico

En este método, hay un intercambio de los aniones de la capa intermedia con moléculas huésped aniónicas, es decir, moléculas que se desean introducir en la estructura de los HDL para producir el

compuesto deseado (Rodriguez, Ruitter, & Elshof, 2017). El intercambio iónico en los HDL de acuerdo a William et. al., depende de varios factores, entre ellos, afinidad por el anión huésped entrante, el medio en el que se produce el intercambio, el pH y la composición química de las capas del HDL (Williams, 2017).

2.2.5. Rehidratación

El método de rehidratación consiste en la calcinación del HDL a 500-800°C. De este proceso se obtiene un óxido metálico mixto que puede ser rehidratado para volver a formar el HDL en presencia de aniones. Este “efecto memoria” único de los HDL proporciona una ruta de síntesis eficaz para obtener los HDL con los aniones orgánicos e inorgánicos deseados, y evita la incorporación de contra aniones inorgánicos competidores (Williams, 2017).

2.3. Aplicaciones de los HDL

Los HDL representan compuestos funcionales en varias áreas de la ciencia. En el contexto ambiental, tienen como principal aplicación ser agentes absorbentes de aniones en fuentes acuosas (Goh & Dong, 2008). Algunos de esos aniones adsorbidos presentan capacidad bactericida o permiten la formación de sistemas compuestos para la remoción y/o inactivación de microorganismos patógenos presentes. Este proceso se lleva a cabo a través de reacciones de intercambio en los HDL que permiten la adsorción de contaminantes orgánicos o inorgánicos que pueden ser carboxilato, sulfonato o fosfonato, o contaminantes orgánicos como (fenoles, ácidos carboxílicos aromáticos, tensioactivos, colorantes, herbicidas y pesticidas), los cuales son grupos aniónicos que pueden ser fácilmente y eficazmente adsorbidos (Ulibarri, 2001).

Los HDL exhiben biocompatibilidad, por lo cual son consideradas también matrices interesantes para nuevas formulaciones de liberación controlada. En el ámbito de la medicina y biología, pueden intercambiar una amplia variedad de moléculas activas complejas como aminoácidos, nucleósidos, oligonucleótidos, ADN monocatenario o bicatenario, proteínas, enzimas, incluso, células completas y, liberarlas de forma controlada (Choy & Oh, 2006). Además de múltiples usos en nanocompuestos de polímeros, en las áreas de la foto física y fotoquímica y, en la tecnología farmacéutica y cosmética (Martínez & Carbajal, 2012).

En aplicaciones agrícolas, los HDL pueden ser utilizados debido a su potencial para absorber y liberar agro aditivos aniónicos, como también por su actividad como captadores de ácido y sistemas tamponadores para la retención de agua y su segregación para actuar como nutrientes de las plantas (Allou, Saikia, & Goswamee, 2007).

En el área de catálisis, las estructuras de los HDL pueden ser utilizadas como catalizadores, soportes catalíticos o precursores de óxidos catalizadores. La mayoría de las aplicaciones catalíticas conciernen a los óxidos mixtos por sus importantes características: alta superficie específica (100-300 m² / g), dispersión homogénea de los elementos constituyentes y, efecto memoria con reconstrucción parcial de la estructura laminar (U. Costantino, 2013).

2.4. Características del Yoduro de Potasio (KI)

El Yoduro de Potasio (KI) es un compuesto iónico formado por el catión potasio K⁺ y el anión yoduro I⁻, por lo tanto, entre ambos el enlace es iónico. El estado de oxidación del potasio es +1 y la valencia del yodo es -1 (Stea, 2017). Se crea combinando hidróxido de potasio con yodo. Adopta la forma

de un polvo cristalino blanco e inodoro (Norkem, 2019). Se vuelve amarillo en el aire cuando reacciona con el oxígeno y se libera yodo libre (Melscience, 2019).



Gráfica 2. Yoduro de Potasio granular. Fuente: (Anmol Chemicals , 2016).

El KI presenta aplicabilidad en múltiples campos. En medicina se emplea a través de tabletas o de forma líquida para compensar deficiencias de yodo en el cuerpo. Es elemental su presencia en centrales nucleares para suministrar a personal expuesto a radiación nuclear para impedir que la glándula tiroides absorba el yodo radiactivo que podría ser liberado durante una emergencia de radiación nuclear. Además, es empleado en los equipos de análisis con rayos infrarrojos (IR). Funciona como reactivo para el tratamiento de muestras en química analítica (Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano, 2017), es usado como precipitador de plata para fotografía (Franco Mariscal, 2009), y empleado como aditivo de alimentos (Universidad Nacional de Costa Rica, 2016).

El KI es usado en espectroscopia para análisis; la determinación de cloro residual por el método yodométrico es uno de ellos, (Tamayo, 2013), es un elemento con nivel medio respecto a su capacidad desinfectante. Se caracteriza por ser inactivador irreversible de proteínas y ácidos nucleicos en microorganismos (Vignoli, 2018).

Estudio realizado por Arnitz et al., 2015 en donde comparó la actividad microbicida de la monocloramina y el yodo contra los microorganismos *Escherichia coli.*, *Staphylococcus aureus* o

Pseudomonas aeruginosa; evidenció que el yodo presentó actividad microbicida al menos 10 veces más fuerte que la monocloramina, esto a través del conteo de UFC/mL (Arnitz & Gottardi, 2015).

La investigación desarrollada por Jandrey et al., 2004, donde se investigó la acción bactericida del yodo adsorbido en redes de copolímeros de 2 - vinilpiridina (2VP) y divinilbenceno (DVB) contra *E. coli*, incubada a 37 ° C durante 24 pudo establecer mediante el conteo de unidades formadoras de colonias (UFC), que las redes que contenían yodo anclado eran completamente bactericidas a los pocos minutos (Jandrey, Maria, Aguiar, Aguiar, & Felzenszwalb, 2004).

También, un estudio hecho por Gris et al., para observar la efectividad del cloro y yodóforo en la destrucción de *Vibrio Parahaemolyticus* a través de la exposición del microorganismo a las soluciones con los compuestos mencionados a 20 ° C y pH 7, estableció que el yodóforo demostró ser un agente bactericida más eficaz que el cloro a través del conteo de células sobrevivientes del microorganismo (Gris & Hsu, 1979).

Los anteriores trabajos de investigación mencionados evidencian el potencial de la actividad bactericida del Yodo contra una amplia variedad de microorganismos, lo cual puede ser aprovechado para la formación de materiales compuestos.

2.5. Intercalación de aniones yoduro (I^-) en los Hidróxidos Dobles Laminares (HDL)

Principalmente, los tres métodos a través de los cuales se pueden intercalar los aniones yoduro (I^-) en el espacio interlaminar de los HDL son: coprecipitación, intercambio aniónico y reconstrucción. El método de coprecipitación en la adición paulatina y por goteo de una solución alcalina (NaOH, NH_4OH o

KOH) a una solución que contiene la mezcla de dos sales metálicas (M^{2+} y M^{3+}) con anión común, controlando la alcalinidad del Ph (Martínez & Carbajal, 2012). El material obtenido se agita por tiempo prolongado, posteriormente se separa por el método de filtración o decantación y finalmente se lava y se seca en un desecador u horno (Aguirre & Naranjo, 2018).

En el intercambio aniónico el proceso es más sencillo. Teniendo la matriz laminar anfitriona sintetizada, es decir el HDL, se pone en contacto por tiempo prolongado con una la solución que contiene los aniones a incorporar de la matriz laminar. Trascurrido el tiempo, se emplean los procesos de deshidratación del material (S. V. Prasanna, 2009).

En la reconstrucción el proceso consiste en lograr la reversibilidad del proceso de descarbonatación, lo cual se obtiene al calcinar la hidrotalcita entre 400 y 600°C, y rehidratar el óxido mixto formado, en una disolución acuosa con aniones afines a la interlámina, para dar un nuevo compuesto tipo HDL (Hashim, y otros, 1986).

2.6. Sistemas compuestos basados en Hidróxidos Dobles

Laminares

La alta capacidad de intercambio de los HDL les permite incorporar en su estructura una amplia variedad de aniones, entre ellos los haluros como I^- , Br^- , F^- y Cl^- debido principalmente a la afinidad electrónica de estos elementos con la carga de las láminas de la estructura laminar. Entre los sistemas compuestos sintetizados se encuentran:

2.6.1. Sistemas compuestos basados – Yodo

El estudio previo desarrollado por Kanga et al., evaluó sistemáticamente materiales nanoestructurados de HDL basados en MgFe y CoCr con proporciones molares variables de M^{2+} : M^{3+} para determinar su afinidad los aniones de yodo ambientalmente relevantes, incluidos el yoduro (I^-) y el yodato (IO_3^-). Los resultados revelaron que la afinidad por I^- aumentó significativamente con el aumento de la relación molar de Mg: Fe, y tras la calcinación debido a la eliminación de los aniones originales (CO_3^{2-}).

La investigación de la adsorción del Mg-Al HDL calcinado sobre el yoduro (I^-) realizada por Kang et al. (Kang, et al., 1998) concluyó que la concentración de I^- de la solución de reacción disminuyó rápidamente hasta que alcanzó un valor mínimo después de aproximadamente 30 horas, posteriormente aumentando con el tiempo hasta lograr una concentración de equilibrio después de 130 h. Dado que todos los experimentos se continuaron durante al menos 140 h, la concentración final puede considerarse como el valor de equilibrio. Los investigadores, Kang et al., explican que el lento aumento de la concentración de I^- después del valor mínimo se debe a dos efectos. Primero, el proceso de sorción involucra los cambios de la fase sólida en una solución acuosa. La hidratación y la disolución de HDL calcinada pueden ocurrir. En segundo lugar, la concentración de OH^- en las soluciones de reacción estaba en el rango de 4×10^{-4} y 3×10^{-3} mol / L, que es más alta que la concentración de I^- . Por lo tanto, los iones OH^- pueden reemplazar a los iones I^- absorbidos en la capa intermedia de LDH (Kang, Chun, & Do, 1998).

2.6.2. Sistemas compuestos basados HDL– Flúor

Otro elemento utilizado para la formación de sistemas compuestos utilizando haluros con los HDL, es el flúor. Este haluro es de gran importancia en la salud dental. Puede encontrarse en alimentos, agua potable y sal. Las fuentes de agua naturales o antropogénicas en algunas partes del mundo superan

el valor de referencia para el flúor de acuerdo a Organización Mundial de la Salud, el cual es de 1,5 mg/L (OMS, 2003).

Los métodos de tratamiento y/o eliminación del fluoruro del agua potable demandan altas y complejas inversiones económicas. Debido a la posibilidad de intercambio aniónico que ofrecen los HDL, estas estructuras laminares pueden proporcionar un método más simple y económico para la eliminación de fluoruro del agua potable y de otras soluciones acuosas. Un estudio de comparación realizada por (L.Theiss., 2013) para conocer la capacidad de adsorción de fluoruro entre Mg-Al HDL y Zn-Al HDL dio como resultado que la capacidad de adsorción de fluoruro de los Zn-Al HDL, era menor que la ofrecida por Mg-Al HDL. Atribuyendo este efecto al mayor peso atómico del Zinc (Zn) que reduce la capacidad total de intercambio aniónico por gramo de HDL

2.6.3. Sistemas compuestos basados HDL– Cloro

Los cloruros son compuestos que llevan un átomo de cloro en estado de oxidación -1. Generalmente el cloruro en el agua no se considera un problema significativo. Sin embargo, sobrepasando la ingesta adecuada de cloruro, 9mg/kg de masa corporal (OMS, 2004), se han observado casos de toxicidad por cloruro, particularmente en individuos con alteración del metabolismo del cloruro de sodio (L.Theiss, J.Couperthwaite, & L.Frost, 2013). En un estudio previo realizado en sistemas compuestos basados en HDL-Cl se observó que la eliminación de cloruro desde una solución acuosa a través del intercambio aniónico utilizando Zn-Al HDL en una relación 2: 1 exhibió la mayor capacidad de intercambio aniónico de 64,14 mg /g seguida por la Zn-Al HDL 3: 1 (41,00 mg/g) y la Zn-Al HDL 4: 1 (21,08 mg/g) (Sarathy et al, 2010). Esto se podría atribuir a que el compuesto Zn-Al HDL en relación 2:1 preseta mayor afinidad electronica con el anión cloruro.

2.6.4. Sistemas compuestos basados HDL– Bromo

El bromo es un elemento que se encuentra naturalmente en fuentes de agua, a temperatura ambiente es un líquido rojo, volátil y denso. Es de gran beneficio para la salud humana, sin embargo, es tóxico en concentraciones altas. Un estudio desarrollado por Liang et al. donde se investigó la eliminación de bromuro (Br^-) del agua utilizando Mg-Al HDL y Mg-Al HDL activados térmicamente, evidenció que las temperaturas de activación térmica superiores a 500°C provocan la descomposición parcial de los HDL, lo que reduce la capacidad de eliminar o adsorber el bromuro de la fuente acuosa. La mayor adsorción de bromuro fue de $94,0\text{ mg/g}$, la cual se logró utilizando el HDL activado térmicamente con una relación Mg: Al de 4: 1 .

2.7. Contaminación de Agua con Patógenos

El agua es uno de los recursos naturales vitales para la vida al ser indispensable para el funcionamiento fisiológico y cotidiano del ser humano, animales, plantas, es decir, en general, los elementos bióticos y abióticos que se relacionan y comparten el medio.

La mayor reserva de agua está en los océanos, que contienen el 97% del agua que existe en el planeta Tierra. Esta reserva es de agua salada, que sólo permite la vida de la flora y fauna marina. La proporción restante de agua dulce se distribuye a lo largo y ancho de la tierra a través de cuencas, ríos, lagos, agua subterránea, casquetes polares, glaciares y demás fuentes con denominaciones diferentes (Food and Agriculture Organization, 2017).

Se considera contaminada el agua cuando en esta hay presencia de sustancias orgánicas o inorgánicas que alteran sus características fisicoquímicas normales y, por ende, la hacen inútil para el consumo (Gil et al., 2012).

La contaminación puede ser física, química o biológica. La contaminación física y química se da cuando el agua tiene contacto con materiales o residuos (sólidos – líquidos) urbanos, industriales, agrarios, médicos, radioactivos o de otra procedencia, que aportan materiales ajenos a los naturales, obstruyen el paso de la luz y, alteran las temperaturas y el pH normales del efluente. Mientras que la contaminación biológica se produce cuando el medio acuoso desarrolla características aptas para la proliferación de microorganismos, parásitos, hongos, protozoos y virus que afectan a la población a través de la difusión de enfermedades.

La proliferación de los microorganismos en un medio depende tanto de las características fisicoquímicas del ecosistema como también de las necesidades de hábitat del organismo. Algunos de los principales patógenos microbianos transmitidos por el agua son: *Campylobacter* sp., *E. coli.*, *Y. enterocolitica*, *H. pylori*, *P. aeruginosa*, *Aeromonas*, *Cryptosporidium* spp., *G. intestinalis*, *E. histolytica*, *Acanthamoeba* spp., *Salmonella* y *Shigella* sp. (Ríos-Tobón, Agudelo-Cadavid, & Gutiérrez-Builes, 2017).

En particular, los géneros *Shigella* y *Salmonella* son causantes de disentería bacilar o shigelosis; y familias derivadas como *Salmonella typhimurium* y *Salmonella typhi* son productoras de gastroenteritis y fiebre tifoidea, respectivamente (O'Connor, Inquiry, & General, 2001). Esto permite identificar algunas de las problemáticas sanitarias y de salud pública a raíz de cepas patógenas que afectan al ser humano, actualmente hay descritas varias cepas como causantes de enfermedades graves, como infecciones de vías urinarias, bacteriemia y meningitis (Pulido, Navia, Torres, & Prieto, 2005), (Ríos & Builes, 2017).

Para efectos investigativos del presente trabajo, el interés se concentra en las características y comportamiento *del* microorganismo *Shigella* sp.

2.7.1. El microorganismo *Shigella sp.*

El género *Shigella* se incluye en la familia Enterobacteriaceae; está constituido por bacilos cortos gramnegativos sin agrupación, que miden de 0.7 μm x 3 μm ; son inmóviles, no esporulan ni presentan cápsula (Berrueta, 2015). *Shigella* crece en 24 h, a 35°C, en condiciones aerobias, formando colonias blanquecinas o grisáceas de 1 – 2 mm de diámetro, convexas, de bordes regulares, consistencia butirácea y aspecto húmedo (Berrueta, 2015).



Gráfica 3. Ilustración tridimensional del microorganismo *Shigella sp.* Fuente: (Higiene, 2019).

El microorganismo *Shigella sp.* produce una infección invasiva del intestino, con transmisión fecal-oral. Es una de las causas más frecuentes de diarrea del viajero. La incidencia es mayor en países en desarrollo y afecta a niños con mayor frecuencia que a los adultos. A diferencia de otros enteropatógenos, su único reservorio es el ser humano (Hernández, y otros, 2008). La infección por el microorganismo *Shigella* recibe el nombre de “Shigelosis”. Las prácticas higiénicas deficientes dispersan la infección a otras personas por contacto físico directo o indirecto; por alimentos, agua o leche contaminados; a través de cucarachas o moscas; como resultado de contaminación fecal directa; por

transmisión sexual entre hombres homosexuales (UNAM, 2011). La sintomatología de la shigelosis trae consigo calambres abdominales, fiebre, pérdida del apetito, náuseas y movimientos de vientre con dolor. El microorganismo *Shigella sp.* todavía se considera una grave amenaza para la salud pública en los países del sur y sureste de Asia y África donde se han informado varios brotes de shigelosis relacionados con el consumo de agua contaminada durante la última década (Shahin & Bouzaricorres, 2018). Un estudio realizado por Hsu et al., a muestras de agua ambiental mediante PCR (Polymerase Chain Reaction por sus siglas en inglés) identificó cepas del microorganismo *Shigella sonnei* en el fluido, recolectando múltiples muestras de agua ambiental con un número total de bacterias de 384 - 2.84×10^7 UFC (Hsu et al., 2007).

2.8. Actividad Bactericida de los Hidróxidos Dobles

Laminares – Yoduro (HDL-I⁻)

Múltiples estudios demuestran que el yoduro de potasio, a través de los aniones yoduro, en combinación con otros agentes químicos, presenta la capacidad inhibitoria de microorganismos tanto Gram-positivos, como el *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (MRSA por sus siglas en inglés) como Gram-negativos, como *E. coli*. (Zhen, y otros, 2020).

En odontología, se han realizado estudios con múltiples concentraciones de azul de metileno y luz LED para la inactivación del microorganismo *E. faecalis* en estado de biopelícula, pero se evidenció mejoras en el efecto fotobactericida cuando se combinó el azul de metileno con yoduro de potasio (KI). Los resultados fueron significativos en las pruebas en las que se utilizó el yoduro de potasio (KI). De los resultados se pudo inferir que puede usarse para futuros tratamientos de conducto radicular (Yuana, y otros, 2020).

Además, en un estudio de la actividad antimicrobiana de nanopartículas de yoduro de cobre sobre microorganismos como *E. coli*, *S. aureus*, *S. dysentery* y *B. subtilis*; ocurrió a través del daño del ADN y de sus membranas celulares, demostrando que todos los microorganismos mencionados fueron inhibidos, cada uno con una concentración mínima inhibitoria diferente (Pramanika, Lahaa, & Pramanik, 2012).

En otro estudio, nanopartículas de yoduro de plata fueron sintetizadas por el método de ablación y aplicadas a soluciones acuosas con cepas de los microorganismos Gram positivos y Gram negativos como *E. coli*, *P. aeruginosa* y *S. aureus*. Los resultados de las pruebas de actividad bactericida empleando el método de difusión de agar sugieren el aumento de la concentración de AgI^- incrementa la capacidad de inhibición de las bacterias patógenas, además, las bacterias Gram negativas presentan mayor sensibilidad a las nanopartículas - compuesto que las bacterias Gram positivas

3. Experimentación

En esta sección se describe la metodología utilizada para el desarrollo del estudio, a través del detalle de tres secciones: Síntesis de HDL a través de sal sulfata obtenida desde el aprovechamiento de polvo de acería, descripción de intercambio aniónico del yoduro para la formación de los sistemas compuestos basados en HDL-I y, evaluación de su actividad bactericida.

3.1. Materiales

En el proceso de síntesis de los HDL fueron empleados los siguientes materiales:

- Sal sulfatada, preparada en el laboratorio a partir del polvo de acería
- Hidróxido de sodio, comercial, 90% de pureza
- Agua destilada y desionizada
- Beakers de 1 L
- Buretas de 25 mL
- Agitador magnético
- pH metro
- Centrífuga
- Horno
- Desecador de laboratorio

Para el desarrollo del intercambio aniónico se usó:

- Yoduro de potasio tipo comercial
- Hidróxidos dobles laminares sintetizados previamente
- Agua destilada y desionizada
- Agitador magnético
- Beakers de 1 L
- Desecador de laboratorio

Y, para la evaluación de la actividad bactericida fue necesario:

- Cepa de microorganismo *Shigella sp.*
- Beakers de 1L
- Incubadora de laboratorio
- Frascos ISO tapa azul
- Balanza analítica

- Cajas de Petri con agar Cromocult

3.2. Métodos

Tomando como referencia trabajos previos dirigidos a la valorización de residuos industriales realizados por estudiantes de la Universidad Católica de Manizales bajo la modalidad de asistentes de investigación, se decidió sintetizar HDL, intercalarlos con aniones yoduro y, evaluar su actividad bactericida sobre el microorganismo *Shigella sp.* con el fin de continuar la línea de investigación desarrollada y avanzada hasta el momento.

Para la síntesis de los Hidróxidos Dobles Laminares (HDL), inicialmente fue necesario realizar la obtención de los materiales precursores como la sal sulfatada. Este proceso implicó gestionar una cantidad significativa de polvo de acería (residuo peligroso) derivado de la industria siderúrgica con una compañía que desarrolla sus actividades industriales en Manizales para ser usada como materia prima en la síntesis de la sal sulfatada dado la amplia variedad de elementos metálicos que lo componen y le confieren propiedades interesantes para ser aprovechadas (Señas, Maiza, & Valea, 2003). La sal sulfatada fue sintetizada en el laboratorio a través de las metodologías de alcalinización y sulfatación descritas por (García et al., 2018), y siguiendo el procedimiento sugerido por (Aguirre et al., 2018).

Después de obtener la sal sulfatada, se prepararon los HDL a través del método de coprecipitación, siguiendo paso a paso las instrucciones enunciadas por Romero et al.; quien en su informe denominado “Valorización de Residuos Peligrosos Industriales en la Obtención de Materiales Nanoestructurados Tipo Hidrotalcita” caracterizó el material por técnicas como la de Difracción Rayos X (DRX) y Espectroscopía Electrónica de Barrido (SEM) y concluyó que el material resultante de la síntesis fue Hidróxido Doble Laminar (Romero, 2019).

Teniendo presentes los trabajos previos realizados y aprovechando los resultados obtenidos en el grupo de investigación; en el presente trabajo se sintetiza, intercala y evalúa la actividad bactericida de los sistemas compuestos basados en HDL-I sobre el microorganismo *Shigella sp.* para su potencial uso en la desinfección biológica de agua.

3.2.1. Síntesis hidróxidos dobles laminares (HDL)

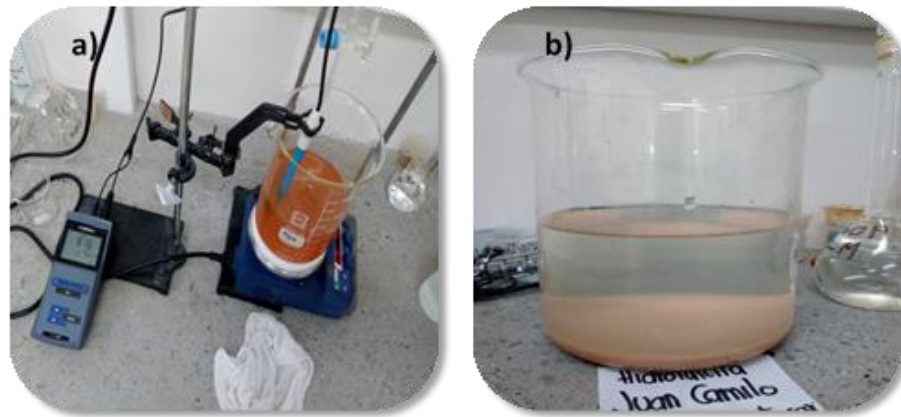
La síntesis de los hidróxidos dobles laminares se realizó a través del método de coprecipitación a pH constante. Se toma como referencia la metodología desarrollada por (Romero, 2019) y (Rodriguez et al., 2017), haciendo algunas modificaciones en las relaciones másicas de los precursores empleados y materiales de laboratorio usados. A continuación, se describe el paso a paso.

- A. Se dispersaron 60g de sal sulfatada en 1L de agua destilada, la sal sulfatada fue producto de la aplicación de la metodología empleada en trabajos de investigación previos, donde se aprovechó polvo de acería como precursor para su síntesis. Se preparó una solución con 89,9 de hidróxido de sodio en 0,250L de agua destilada. Se mezclaron la solución y la suspensión preparadas, gota a gota, al mismo tiempo y, manteniendo el pH en el intervalo de 8 a 9, como se observa en el montaje de la imagen a continuación.



Gráfica 4. Montaje para la síntesis por el método de coprecipitación de los HDL. sal sulfatada [izquierda], hidróxido de sodio [derecha]

- B. Con agitación constante usando un agitador magnético a 500rpm, se esperó acabar la solución de sal sulfatada, y dar lugar a la formación de los sólidos (HDL) en suspensión. Durante 30 min se dejó precipitar los sólidos sobre la superficie del beaker.



Gráfica 5. a) Mezcla de sal sulfatada e hidróxido de sodio, controlando pH en continua agitación, b) Solución con HDL en proceso de precipitación.

- C. Se trasvasó el agua a otro beaker a través del proceso de decantación para posteriormente desecharla y, los HDL precipitados se lavaron tres veces con agua destilada a través de centrifugación.



Gráfica 6. HDL sintetizados en el laboratorio de investigación de la UCM.

D. Se deshidrató el material en un desecador durante 5 días.



Gráfica 7. HDL sintetizados deshidratados en desecador durante 5 días.



Gráfica 8. HDLs en proceso de trituración.

En la gráfica 8 se observan los HDL en proceso de macerado, con el fin de transformarlos en polvo, puesto que después de deshidratados toman una consistencia dura que evita su manipulación

Para el proceso de intercalación de aniones yoduro, se tuvo como referente el procedimiento reportado en el trabajo realizado por (Prasanna et al., 2009) en el cual se intercambiaron los aniones NO_3^- por Cl^- en Mg-Al HDL a través de la suspensión de cantidades específicas de la matriz laminar (Mg-Al HDL) en soluciones que contenían el anión de interés para el estudio. Para el presente estudio se realizaron, algunas modificaciones a las relaciones másicas de los precursores y reactivos de laboratorio. Siguiendo la metodología reportada, el intercambio de los aniones I^- a partir del Yoduro de Potasio (KI) en los HDL se desarrolló de la siguiente manera.

- A. Se preparó una solución con 2,09g de yoduro de potasio en 0,400L de agua destilada. La solución se mantuvo bajo agitación constante 24 horas a 500rpm. Transcurrido el tiempo, se tomaron 2,10g de HDL preparado previamente, y se adicionaron y mezclaron con la solución de yoduro de potasio.

- B. Dicha mezcla se agitó constantemente durante 7 días usando un agitador magnético a 500rpm. Luego de la agitación, se esperó durante 6 horas a que los sólidos suspendidos del compuesto intercalado del tipo HDL-I precipitara sobre la superficie del beaker.
- C. Se separó la fase líquida de la sólida. El sólido resultante decantado se deshidrató en un desecador durante 4 días.

3.2.2. Actividad bactericida

La evaluación de la actividad bactericida del sistema compuesto HDL-I se realizó a través de curvas de letalidad. Las curvas de letalidad son una metodología ampliamente conocida por lo útil y funcional de la actividad bactericida de un compuesto sobre microorganismos u hongos específicos. Esta metodología valora la capacidad de los sistemas de matar a los microorganismos en relación con el tiempo y con distintas concentraciones (Rodríguez, y otros, 2000). Dichas curvas se realizan poniendo en contacto el inoculo o microorganismo con el compuesto bactericida y, midiendo la cantidad de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) en los agaros en los que se sembró la solución acuosa contaminada con la concentración del microbicida, esto, en periodos de tiempo específicos (Ramirez & Castaño, 2009).

Una vez determinadas las UFC en cada tiempo y concentración, se debe buscar la función matemática que mejor se ajusta a los datos obtenidos. Normalmente, los antibióticos siguen una cinética monoexponencial de primer orden (Pemán & Javier, 1999), cuya formula es:

$$N_t = N_0 * e^{-K*t}$$

$$\ln(N_t) = \ln(N_0 * -K * t)$$

$$N_0 = 1$$

$$\ln(N_t) = -K * t$$

$$\frac{-\ln(N_t)}{t} = K$$

En donde N_t representa el número de UFC en un determinado tiempo y, a su vez depende del inóculo (N_0) y de una serie de factores que vienen determinados por una constante, K , representa la tasa de letalidad o crecimiento, y el valor de esta variable depende de las condiciones de incubación, del medio de cultivo, de la concentración del antimicrobiano, del microorganismo, etc.

En caso de que el agente microbicida sea un compuesto en estado de investigación avanzado y/o comercial, previo a toda la experimentación se hace necesaria la determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI), que es la concentración más baja (en $\mu\text{g/ml}$) de un antibiótico que inhibe el crecimiento de una determinada cepa bacteriana, por lo cual con base a estos valores se puede determinar la concentración de compuesto necesaria para inhibir el crecimiento de los microorganismos. Hay casos en los que no se precisa determinar dicha variable, uno de ellos es cuando se trata de antibióticos que no están comercialmente disponibles (Idexx, 2018).

En el presente estudio se tomaron diferentes concentraciones (relación m/v) para la evaluación de la actividad bactericida del sistema compuesto HDL-I contra *Shigella sp.* Además de la concentración del sistema compuesto HDL-I, la evaluación de actividad bactericida de este sistema fue tomado en función del tiempo, y la respuesta en términos del UFC. Desde estas variables se recopilaron datos útiles para la representación gráfica de las curvas de letalidad, que permitirían describir la acción bactericida de los HDL-KI sobre el microorganismo *Shigella sp.* Para el tratamiento de las variables antes mencionadas se consideraron los estudios previos realizados por Kaur et al. y Pemán et al., quienes explican cómo realizar

una curva de letalidad en antifúngicos, metodología aplicable también a antimicrobianos (Kaur, Takhar, Smith, & Brashears, 2008) (Pemán & Javier, 1999).

En el presente trabajo, para conocer el efecto bactericida de los HDL-I se consideraron como factores la concentración y el tiempo, empleando cinco concentraciones distintas para el estudio y cuatro tiempos diferentes para la verificación del crecimiento o inhibición a través del conteo de las Unidades Formadoras de Colonia (UFC), que representan la respuesta del estudio. Con la recopilación y procesamiento de estos datos se realizó la curva de letalidad, desde la cual es posible hacer la descripción del comportamiento de los microorganismos frente al agente microbicida, en este caso el sistema compuesto HDL-I.

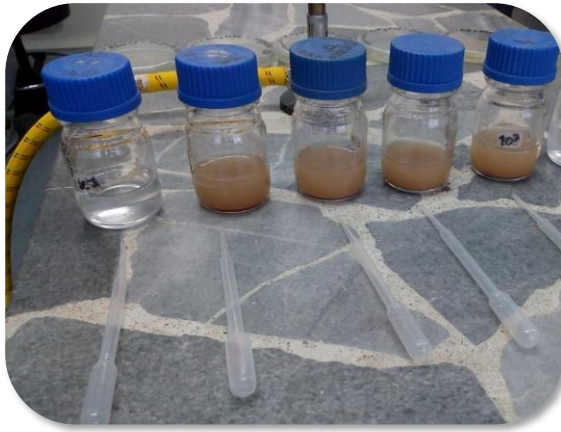
De manera general, se describe a continuación el procedimiento realizado para la evaluación de la actividad bactericida del material.

- A. Inicialmente se tomó 1L de agua de la llave y se inoculó el microorganismo *Shigella sp.* Dicho volumen de agua, se agitó vigorosamente durante 15 minutos. Posteriormente, se dejó el agua contaminada durante 24 horas en la incubadora a 37°C.
- B. Se dispusieron cinco frascos ISO tapón azul, cada uno con 40 mL de agua contaminada.



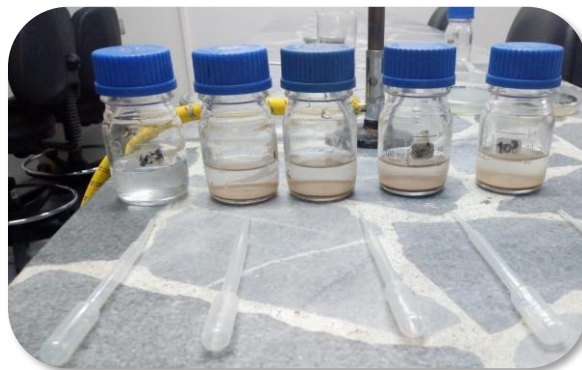
Gráfica 9. Medición y disposición de 40 mL de agua contaminada con cepa de *Shigella sp.*

- C. Se agregaron 0.00g, 0.20g, 0.30g, 0.41g y, 0.71g del sistema compuesto HDL-I respectivamente a cada uno de los frascos. Estos fueron agitados vigorosamente durante 15 minutos. Las concentraciones resultantes fueron: 0.00, 0.005, 0.007, 0.010 y, 0.018 g/mL.



Gráfica 10. Adición de las cantidades: 0.00g, 0.20g, 0.30g, 0.41g y, 0.71g del sistema compuesto HDL, a los frascos ISO tapa azul con agua contaminada; y agitación vigorosa (de izquierda a derecha).

- D. Posteriormente se dejaron los frascos con el agua contaminada y el sistema compuesto HDL durante 24 horas en la incubadora a 37°C.



Gráfica 11. Agua residual contaminada con cepa de Shigella sp. en contacto durante 24 horas con HDL-I.

E. Se realizó la siembra del microorganismo a través del método de siembra en superficie. Se tomó 1 gota de agua contaminada con HDL-KI de cada frasco y se espació en diferentes cajas de Petri con agar Cromocult, las cuales se incubaron durante 24 horas a 37°C. Tiempo transcurrido se realizó el recuento de UFC.

4. Resultados

En el presente apartado del trabajo se describen y analizan los resultados obtenidos de la síntesis de HDL, el proceso de intercambio aniónico con yoduro (I^-) y los resultados de la prueba de actividad bactericida del sistema compuesto HDL-I sobre el microorganismo *Shigella sp.*

4.1. Síntesis Hidróxidos Dobles Laminares (HDL)

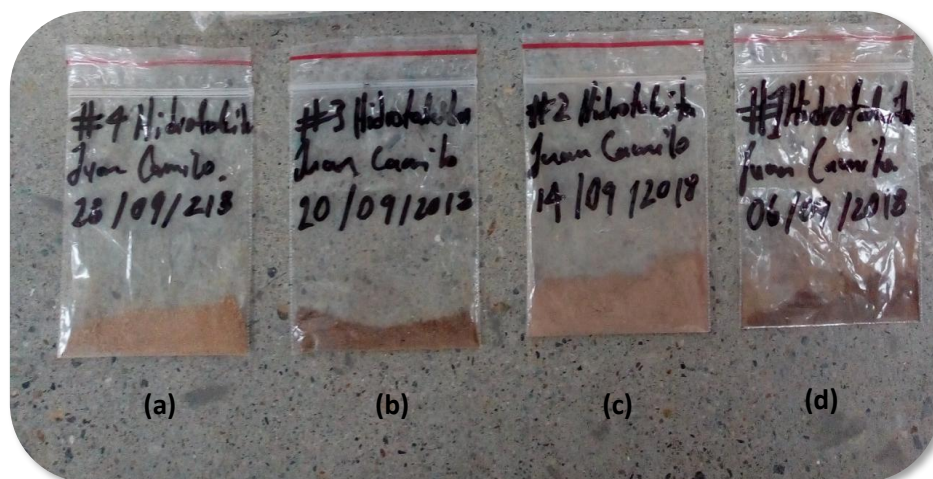
La masa de los reactivos empleada y la cantidad de HDL obtenidos a partir de la metodología descrita anteriormente se resume en la siguiente tabla.

Tabla 2. Cantidad de reactivos de síntesis y HDL obtenida.

No.	Sal sulfatada [g]	Agua desionizada [L]	NaOH [g]	Agua desionizada [L]	NaOH [moles]	Concentración [M]	HDL producidos[g]
1	60,107	1	19,783	0,250	0,495	1,98	1,23
2	61,403	1	89,977	0,250	2,250	9,00	1,18
3	60,182	1	89,977	0,250	2,250	9,00	1,23
4	61,551	1	89,977	0,250	2,250	9,00	1,24
5	63,763	1	89,977	0,250	2,250	9,00	1,24
TOTAL							6,12

Durante la síntesis de HDL por el método de coprecipitación a partir de sal sulfatada e hidróxido de sodio, se logró determinar que el gasto de sal sulfatada fue mayor que el del hidróxido de sodio.

La cantidad de HDL obtenidos a partir de reactivos es similar en todas las síntesis. Se evidencia que en las últimas síntesis hay miligramos de más de HDL en comparación con las síntesis anteriores, esto como resultado de un mayor consumo de sal sulfatada durante estas síntesis que en comparación con las primeras síntesis que se realizaron en este estudio.



Gráfica 12. Producto. HDL. Diferentes tiempos y métodos de secado.

Los polvos secos del material sintetizado de HDL exhibieron un cambio de color, esto posiblemente como resultado de diferentes tratamientos, principalmente termicos durante el proceso de secado de las muestras debido a la disponibilidad de recursos para el proceso.

Las muestras de material (a) y (c) se obtuvieron a partir del secado a una temperatura ambiente (19°C) durante 4 días, mientras que los materiales (b) y (d) se secaron en el horno a 30°C durante 40 minutos.

4.2. Intercambio Aniónico de Yoduro en los Hidróxidos Dobles Lamiares (HDL)



Gráfica 13. HDL en proceso de intercambio aniónico de los HDL usando KI

En el proceso de intercambio aniónico de los aniones interlaminares de partida en el HDL sintetizado por los aniones de Yoduro (I^-) a partir de KI no se observaron variaciones significativas en el material. Durante el proceso no hubo reacción brusca cuando se mezclaron los reactivos.

4.3. Evaluación de la Actividad Bactericida

Los resultados cuantitativos de la actividad antibacteriana de los HDL-I se recopila a través de la siguiente tabla. En la tabla 3, hace la diferenciación de los factores considerados para la experimentación (concentración y tiempo), los niveles, diferentes concentraciones en relaciones m/v y tiempos en los cuales se hizo la lectura de las UFC, y la respuesta, es decir las UFC.

Tabla 3. Tabla de resultados No. UFC *Shigella sp.*

UFC				
Concentración [g HDL-l/mL agua]	Tiempo [h]			
	0	12	18	24
0,005	0	21	28	34
0,007	0	56	75	83
0,010	0	1	1	1
0,018	0	1	2	3

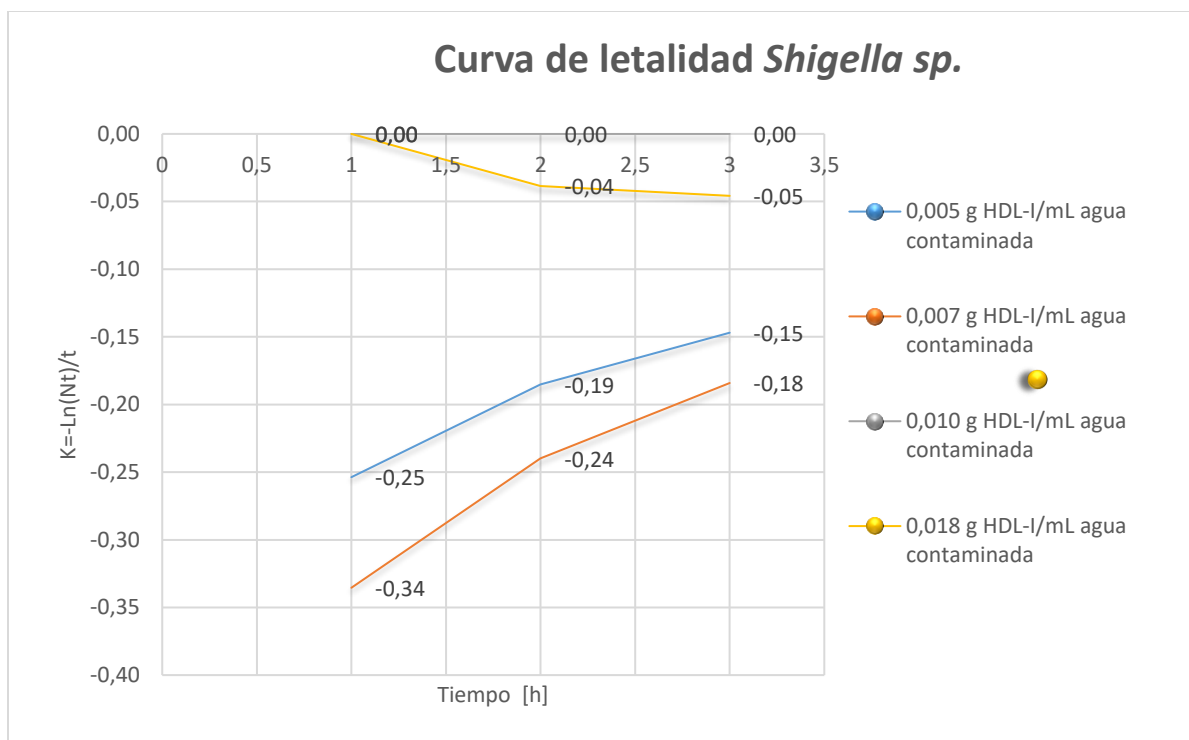
Factores	Niveles	Variables de respuesta [UFC]
----------	---------	------------------------------

En la tabla 4, se resumen los datos calculados de la tasa de letalidad, K, determinados a partir del modelo matemático tomado como referencia de (Pemán & Javier, 1999) para la descripción del comportamiento del sistema compuesto.

Tabla 4. Tabla de resultados $K=[(-\ln(N_t))/t]$ - *Shigella sp.*

$K=[(-\ln(N_t))/t]$				
Concentración m/v [g HDL-l/mL agua]	Tiempo [h]			
	0	12	18	24
0,005	-	-0,25	-0,19	-0,15
0,007	-	-0,34	-0,24	-0,18
0,010	-	0,00	0,00	0,00
0,018	-	0,00	-0,04	-0,05

Factores	Niveles	Variables de respuesta [$K=[(-\ln(N_t))/t]$]
----------	---------	--



Gráfica 14. Representación de las curvas de Letalidad contra el *Shigella sp* del sistema compuesto HDL-I a diferentes concentraciones en función de los diferentes tiempos

En la Gráfica 14 se muestra la respuesta de la variación de la tasa de letalidad $K = -\ln(N_t)/t$, en el eje de las ordenadas, con respecto al tiempo (12, 18 y 24 horas transcurridas desde el inicio de la incubación); en el eje de las abscisas.

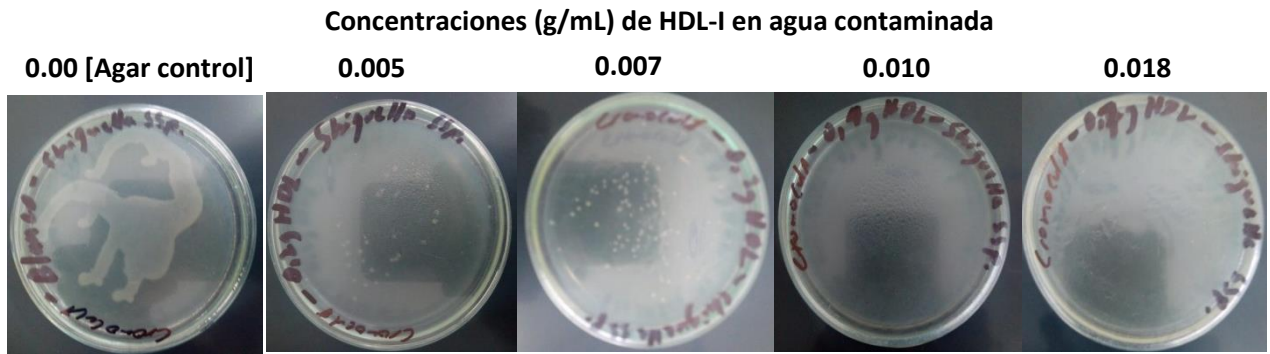
Desde la gráfica se puede observar que en los tiempos estudiados la acción bactericida de la concentración más baja, esto es 0,005g/mL fue deficiente. Los valores de K evidencian un incremento en la velocidad de crecimiento de las UFC desde -0,25 a -0,19 y finalmente a -0,15.

La concentración de 0,007g/mL, pese a tener mayor cantidad del sistema compuesto de HDL-I, no presenta mejor acción bactericida que para concentración más baja antes mencionada. Además, las velocidades de crecimiento de UFC fueron menores que la primera, variando desde -0,34, -0,24 y posteriormente a -0,18 para 12, 18 y 24 horas respectivamente.

Con la concentración de 0,010 g/mL, se observa un cambio del comportamiento de la curva, que sugiere actividad inhibidora contra el crecimiento del microorganismo *Shigella sp.* en cada uno de los tiempos considerados; 12, 18 y 24 horas, puesto que la velocidad de crecimiento en cada momento fue de 0. Este resultado estaría asociado a que no hay división o reproducción celular durante el proceso de incubación.

Para la concentración más alta, es decir 0,018 g/mL se observó actividad inhibidora contra el microorganismo hasta las primeras 12 horas. Sin embargo, a las 18 y 24 horas; el cambio en las velocidades de crecimiento del microorganismo de -0,04 y -0,05 estaría asociado a una pérdida de la capacidad bactericida del material.

Los mecanismos de acción de agentes bactericidas pueden analizarse a través de parámetros como: la concentración del agente microbicida; tiempo de exposición; temperatura y; pH microbicida. Particularmente, para el caso presente de HDL-I sobre *Shigella sp.* analizando el comportamiento del microorganismo para las diferentes concentraciones, se identifica que hay mejor actividad bactericida y/o inhibitoria en las dos concentraciones más altas 0,010 y 0,018g/mL. Estos resultados son similares a los obtenidos por Tandon et al., quienes exponen que a medida que aumentan la concentración de sal comercial yodada, aumenta la inhibición del crecimiento de cepa del microorganismo *Escherichia coli* (Tandon & Vasudevan, 2009).



Gráfica 15. Seguimiento fotográfico a la acción inhibitoria del sistema compuesto HDL-I contra *Shigella sp.* a diferentes concentraciones, 24 horas después de iniciado el proceso de incubación.

En la Gráfica 15 se evidencia el seguimiento fotográfico de la acción inhibitoria del sistema compuesto HDL-I contra *Shigella sp.* Se puede evidenciar que en el agar en donde no se agrega en material bactericida hay crecimiento normal del microorganismo en la región inoculada. Caso contrario en los agares en donde se agregan concentraciones paulatinamente superiores, en donde se evidencia que a medida que aumentan las concentraciones de HDL-I, hay ausencia significativa de las UFC.

La mejor respuesta de inhibición contra el *Shigella sp.* obtenidas para el sistema compuesto HDL-I a mayores relaciones de m/V estudiadas en este trabajo, puede estar relacionado a la mayor cantidad de aniones yodo intercambiados en el sistema para estas concentraciones, por lo cual existe mayor disponibilidad de aniones para ser liberados al medio, que inhiban el crecimiento del microorganismo, que puede ocurrir lesionando la membrana celular o afectando el ADN y biomoléculas críticas (lípidos, proteínas, ácidos nucleicos) de los microorganismos hasta causarles la muerte (Xuan, y otros, 2018). Este comportamiento también fue evidenciado en estudio desarrollado por Pramanika eta al., en donde los microorganismos *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis* y *Acinetobacter baumannii*; fueron inhibidos, cada uno con una concentración mínima inhibitoria diferente

5. Conclusiones

El desarrollo de este trabajo de investigación, permitió evidenciar actividad bactericida de los sistemas compuestos HDL-I contra el microorganismo *Shigella sp.* La actividad inhibidora en el crecimiento del microorganismo desde la variación de la tasa de crecimiento – letalidad (K) evidenció una mejor respuesta empleando una concentración de 0,010 g HDL-I/mL agua contaminada 12, 18 y 24 horas, la respuesta indicó que no hubo reproducción celular del microorganismo, posiblemente como resultado del alto contenido de aniones yoduro (I^-) intercambiado en los HDL con capacidad para ser liberado y atacar la estructura celular del microorganismo.

6. Recomendaciones

La síntesis de hidróxidos dobles laminares a partir de sal sulfatada, a su vez sintetizada con polvo de acería; material de complejo tratamiento, deja resultados positivos frente al aprovechamiento del residuo en tratamientos de desinfección de fuentes acuosas. Por razones de fuerza mayor no fue posible realizar la caracterización de los compuestos sintetizados, pero la metodología seguida y sus resultados obtenidos al ser contrastados con la literatura, permiten concluir que el estudio fue exitoso. A continuación, se sugieren estudios y líneas de investigación que se recomiendan para completar y mejorar la información con relación al tema.

- Sintetizar hidróxidos dobles laminares con compuestos cuyos aniones correspondan a los intercalables en el espacio interlaminar.
- Realizar estudios de caracterización tales como: Difracción de Rayos X (DRX), Microscopía electrónica de barrido (SEM), Absorción atómica (AA), Análisis termogravimétrico (TGA).
- Realizar pruebas de desinfección o actividad bactericida en otros microorganismos patógenos, indicadores de aguas contaminadas.

7. Referencias

- Aguirre, J. M., & Naranjo, J. M. (2018). Evaluación preliminar de la posibilidad de valorización de polvos de acería mediante un proceso fisicoquímico a escala de laboratorio. Fase II. *Universidad Católica de Manizales*.
- Aimoz, L., Taviot-Guého, C., Churakov, S. V., Chukalina, M., Curti, R. D., & Vespa, P. B. (2012). Anion and Cation Order in Iodide-Bearing Mg/Zn–Al Layered Double Hydroxides. *ACS Publications*, 116, 9, 5460–5475.
- Allou, N. B., Saikia, P., & Goswamee, A. B. (2007). Hybrid nanocomposites of layered double hydroxides: an update of their biological applications and future prospects. *SpringerLink*, 295, pages 725–747.
- Anmol Chemicals. (2016). *Yoduro de Potasio*. Obtenido de <https://potassiumiodideki.com/losfabricantesdeyodurodepotasio.htm>
- Araujo, M. A. (2017). *Microbiología de agua. Conceptos básicos*. San Martín, Buenos Aires, Argentina: Centro de Referencia para Lactobacilos y Universidad Nacional de Tucumán.
- Arnitz, R., & Gottardi, M. N. (2015). Comparación de la actividad microbiciada de la monocloramina y el yodo. *Letters in Applied Microbiology*, 61, 6, 518-522.
- Aune, E. L. (1977). Susceptibility of *Escherichia coli* to Bactericidal Action of Lactoperoxidase, Peroxide, and Iodide or Thiocyanate. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 13(2): 261–265.
- Bejar, M. F. (2016). *Síntesis de hidróxidos dobles laminares (HDL) y su aplicación a la eliminación de colorantes aniónicos en disolución acuosa*. Madrid: Universidad Politécnica de Madrid.
- Berrueta, J. M. (2015, Agosto 7). *Infecciones por Shigella spp.* Obtenido de http://microypara.facmed.unam.mx/?page_id=2906
- Costantino, U., Marmottini, F., Nocchetti, M., & Vivian, a. R. (1998). New Synthetic Routes to Hydrotalcite-Like Compounds – Characterisation and Properties of the Obtained Materials. *European Chemical Societies Publishing*, 10: 1439-1446.
- Crepaldi, E. L., & Valim, J. B. (1997). Hidróxidos duplos lamelares: síntese, estrutura, propriedades e aplicações. *Universidad de São Paulo*, 21(3); 300-311.
- Curtius, H., & Kattilparampil, Z. (2004). Sorption of iodine on Mg-Al-layered double hydroxide. *Institute for Safety Research and Reactor Technology*, 40(4):455-461.
- Food and Agriculture Organization. (2017). *El Agua*. Obtenido de www.fao.org: <http://www.fao.org/3/w1309s/w1309s06.htm>
- Franco Mariscal, A. J. (2009). *De día todos los toros son negros: un trabajo de investigación con nitrato de plata para secundaria*. Obtenido de www.raco.cat: <https://www.raco.cat/index.php/Ensenanza/article/view/132212>

- Frederick L. Theiss, G. A. (2016). Removal of boron species by layered double hydroxides: A review. *Journal of Colloid and Interface Science*, 402, 114–121.
- García, A. J. (2018). *Valorización de un Residuo Industrial Usado Como Materia Prima Para la Preparación y Evaluación de un Poble Coagulante - Floculante Sobre Aguas Turbias*. Manizales: Universidad Católica de Manizales.
- Gil, M. J., Soto, A. M., Usma, J. I., & Gutiérrez, O. D. (2012). Contaminantes emergentes en aguas, efectos y posibles tratamientos. *Cielo*, 7(2): 52-73.
- Goh, K.-H., & Dong, T. T.-T. (2008). Application of Layered Double Hydroxides for Removal of Oxyanions. *National Center for Biotechnology Information*, 42(6-7):1343-68.
- González, F. B. (2010). *Aplicación de hidrotalcitas como adsorbentes para la reducción de la contaminación por plaguicidas de aguas y suelos*. Córdoba: Universidad de Córdoba, Servicio de Publicaciones.
- Gris, R., & Hsu, D. H. (1979). Efectividad del yodofor en la destrucción de *Vibrio Parahaemolyticus*. *Wiley Online Library*, 44(4): 1097-1100.
- Grupo Etsa. (2013). ¿Cómo se hace el Acero? *Grupo Etsa*.
- Hashim, N., Hussein, M. Z., Isa, I. M., Kamari, A., Mohamed, A., Jaafar, A. M., & Taha, H. (1986). Synthesis of anionic clay minerals (mixed metal hydroxides, hydrotalcite). *Open Journal of Inorganic Chemistry*, 2(1): 135-141.
- He, J. (. (2006). Preparation of Layered Double Hydroxides. En *Layered Double Hydroxides*. Duan, Xue, Evans, David G. (Eds.).
- Hernández, C., Calvo, V., Lobato, S., Jiménez, F., Concheiro, S., & Amadora, R. (2008, Junio). *Infección por Shigella spp. en el Hospital de Getafe entre 2001 y 2006*. Obtenido de www.analesdepediatria.org: <https://www.analesdepediatria.org/es-infeccion-por-shigella-spp-el-articulo-S1695403308702121>
- Idexx. (2018). Guía microbiológica para interpretar la concentración mínima inhibitoria (CMI). *Idexx*, 09-81834-01; 2.
- Jandrey, A. C., Maria, L. C., Aguiar, A. P., Aguiar, M. R., & Felzenszwalb, J. L. (2004). Acción bactericida del yodo adsorbido en redes de copolímeros de 2 - vinilpiridina. *Wiley Online Library*.
- Kaiho, M. O. (2001). Homogeneous Precipitation of Uniform Hydrotalcite Particles. *American Chemical Society*, 18(11): 4240–4242.
- Kang, M. J., Chun, S. K., & Do, S. W. (1998). Comparison of Sorption Behavior of I⁻ and TCO₄⁻ on Mg/Al Layered Double Hydroxide. *Radiochim*, 85, 57-63 .
- Kanga, J., Levitskaiab, T. G., Parka, S., Kima, J., & Uma, T. V. (2020). Nanostructured MgFe and CoCr layered double hydroxides for removal and sequestration of iodine anions. *Chemical Engineering Journal*, Volume 380, 122408.

- Kaur, A., Takhar, P., Smith, D., & Brashears, J. M. (2008). Fractional Differential Equations Based Modeling of Microbial Survival and Growth Curves: Model Development and Experimental Validation. *Journal of Food Science*, 73(8): E403-14.
- Kenjono, L., & Irawal, C. (2004). Removal of boron and iodine from optoelectronic wastewater using Mg–Al (NO₃) layered double hydroxide. *Institute for Safety Research and Reactor Technology*, 262(1–3): 280-283.
- König, B. (1997). Sobre moléculas y cristales. *Journal of Colloid and Interface Science*.
- L. Eriksson, U. P. (2004). Stereographic projection of brucite. *Studsvik Neutron Research Laboratory*, 119, 1-87.
- L.Theiss, F., J.Couperthwaite, S., & L.Frost, G. A. (2013). A review of the removal of anions and oxyanions of the halogen elements from aqueous solution by layered double hydroxides. *Journal of Colloid and Interface Science*, 417, 356-368.
- Lambert, P. A. (2013). Chapter 5. *Mechanisms of Action of Microbicides*.
- Ledezma, Romero, Hernández, Moggio, Arias, & Padrón. (2014). Síntesis biomimética de nanopartículas de plata utilizando extracto acuoso de nopal (*Opuntia* sp.) y su electrohilado polimérico. *Sociedad Mexicana de Ciencia y Tecnología de Superficies y Materiales*, 27(4): 1665-3521.
- Liang Lva, Y. W. (2008). Bromide ion removal from contaminated water by calcined and uncalcined MgAl-CO₃ layered double hydroxides. *Journal of Hazardous Materials*, 152(3): 1130-1137.
- Martínez, D. R., & Carbajal, G. G. (2012). Hidróxidos dobles laminares: arcillas sintéticas con aplicaciones en nanotecnología. *Avances en Química*, 7(1): 87-99.
- Melscience. (2019). *Yoduro de potasio, solución 2 M*. Obtenido de <https://melscience.com/CO-es/reagents/176/>
- Ministerio de la Protección Social. (2011). *Perfil de riesgo Salmonella spp. (no tifoideas) en pollo entero y en piezas*. Obtenido de www.minsalud.gov.co:https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/IA/INS/perfil-salmonella-spp.pdf
- Nedim, B. K. (2012). Layered double hydroxides — multifunctional nanomaterials. *Chemical Papers*, 66: 1–10.
- Norkem. (2019). *Yoduro de Potasio*. Obtenido de www.norkem.es:https://www.norkem.es/products/yoduro-potasico
- O'Connor, D. R., Inquiry, O. C., & General, O. M. (2001). Report of the Walkerton Inquiry. Part 1. A summary : the events of May 2000 and related issues. Toronto: Ministry of the Attorney General.
- OMS. (2003). *Guías para la calidad del agua potable*. Obtenido de https://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/gdwq3_es_fulll_lowsres.pdf?ua=1
- OMS. (2004). *Guidelines for drinking-water quality*. Obtenido de https://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/GDWQ2004web.pdf?ua=1

- OMS. (2005). Guías de calidad del aire de la OMS relativas al material particulado, el ozono, el dióxido de nitrógeno y el dióxido de azufre. Ginebra, Suiza.
- OMS. (2007). Lucha contra las enfermedades transmitidas por el agua en los hogares. *Organización Mundial de la Salud*, 7.
- OMS. (2017). Aspectos Microbiológicos. En *Salud, Saneamiento del Agua* (pág. 105). World Health Organization.
- Pemán, & Javier, E. C. (1999). Curvas de letalidad en antifungicos. *Revista Iberoamericana de Microbiología*, 16: 82-85.
- Pramanika, A., Lahaa, D., & Pramanik, D. B. (2012). A novel study of antibacterial activity of copper iodide nanoparticle mediated by DNA and membrane damage. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 96(1): 50-55.
- Prasanna, S., & Kamath, P. V. (2009). Anion-Exchange Reactions of Layered Double Hydroxides: Interplay between Coulombic and H-Bonding Interactions. *Ind. Eng. Chem. Res.*, 48(13): 6315–6320.
- Pulido, M. d., Navia, S. L., Torres, S. M., & Prieto, A. C. (2005). Indicadores microbiológicos de contaminación de las fuentes de agua. *Rev. Fac. Nac. Salud Pública*, 35(2): 236-247.
- Rajamathi, N. T. (2008). Intracrystalline Oxidation of Thiosulfate-Intercalated Layered Double Hydroxides. *Lagmiur*, 25(4): 2212–2216.
- Ramirez, L. S., & Castaño, D. M. (2009). Metodologías para evaluar in vitro la actividad antibacteriana de compuestos de origen vegetal. *Scientia et Technica Año XV*, 15(42): 263-268.
- Ríos, S., & Builes, R. C. (2017). Patógenos e Indicadores Microbiológicos de calidad del agua para beber. *Rev. Fac. Nac. Salud Pública*, 35(2): 236-247.
- Ríos-Tobón, S., Agudelo-Cadavid, R. M., & Gutiérrez-Builes, L. A. (2017). Patógenos e indicadores microbiológicos de calidad del agua para consumo humano. *Cielo*.
- Rodríguez, J. A., Sánchez, R. C., Gomez, M. L., Martínez, L. L., Rodríguez, C., & Vila, A. J. (2000). Métodos especiales para el estudio de la sensibilidad a antimicrobianos. *Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. Madrid, España.
- Rodriguez, P. G., Ruitter, M. d., & Elshof, T. W. (2017). Porous Layered Double Hydroxides Synthesized using Oxygen Generated by Decomposition of Hydrogen Peroxide. *www.nature.com*, 7: 481.
- Romero, T. (2019). *Valorización de Residuos Peligrosos Industriales en la Obtención de Materiales Nanoestructurados Tipo Hidrotalcita*. Manizales: Universidad Católica de Manizales.
- S. V. Prasanna, P. V. (2009). Anion-Exchange Reactions of Layered Double Hydroxides: Interplay between Coulombic and H-Bonding Interactions. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 48(13): 6315–6320.
- Sadik, N., Uprety, S., Nalweyiso, A., Kiggundu, N., Banadda, N., Shisler, J., & Nguyen, T. (2017). Quantification of multiple waterborne pathogens in drinking water, drainage channels, and surface water in Kampala, Uganda, during seasonal variation. *Agupublications*, 1(6): 258-269.

- Sarathy, V., Salter, A. J., Nurmi, J. T., Johnson, G. O., & Tratnyek, R. L. (2010). Degradation of 1,2,3-Trichloropropane (TCP): Hydrolysis, Elimination, and Reduction by Iron and Zinc. *Environ. Sci. Technol.*, 44(2): 787–793.
- Señas, L., Maiza, P., & Valea, S. M. (2003). Impacto ambiental producido por morteros cementicios con polvos de acería. *Cicdigital*, 24(3): 2.
- Shahin, K., & Bouzaricorres, M. (2018). Bacteriophage application for biocontrolling *Shigella flexneri* in contaminated foods. *US National Library of Medicine National Institutes of Health*, 55(2): 550–559.
- Sharma, S. K., Kushwaha, P. K., Srivastava, V. K., Bhatt, S. D., & Jasra, R. V. (2007). Effect of Hydrothermal Conditions on Structural and Textural Properties of Synthetic Hydrotalcites of Varying Mg/Al Ratio. *Ind. Eng. Chem. Res.*, 46(14): 4856–4865.
- Stea, M. (2017). *Yoduro de Potasio*. Obtenido de <https://www.lifeder.com/yoduro-de-potasio/>
- Tamayo, A. O. (2013). Técnicas de medición de ozono: Métodos tradicionales frente al método de cámara de absorción con led ultravioleta como fuente de luz. *Universidad Nacional de Colombia*, 16(2): 95-104. Obtenido de [revistas.unal.edu.co: https://revistas.unal.edu.co/index.php/gestion/article/view/39570/42036](https://revistas.unal.edu.co/index.php/gestion/article/view/39570/42036)
- Tandon, M., & Vasudevan, P. (2009). Antimicrobial properties of iodine based products. *Journal of Scientific and Industrial Research*, 69(5):376-383.
- Thomas, V., Loret, J.-F., Jousset, M., & Greub, G. (2008). Biodiversity of amoebae and amoebae-resisting bacteria in a drinking water treatment plant. *Environmental Microbiology*, 10(10): 2728-45.
- U. Costantinoa, F. L. (2013). LDH in Physical, Chemical, Biochemical, and Life Sciences. *Developments in Clay Science*, 5: 765-791.
- UNAM. (2011). *Shigella spp.* Obtenido de http://depa.fquim.unam.mx/bioseguiridad/agentes/bacterias/bac_shige.html
- United Nations. (2017). *The United Nations World Water Development Report 2017*. Obtenido de <https://unesdoc.unesco.org/ark:/48223/pf0000247553>
- Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano. (2017). *Titulaciones por oxido reducción (oxigeno disuelto, vitamina C) y titulación por formación de complejos (calcio y magnesio)*. Obtenido de http://avalon.utadeo.edu.co/comunidades/estudiantes/ciencias_basicas/analitica_instrumental/guia_5_1.pdf
- Universidad Nacional de Costa Rica. (2016). *Hoja de seguridad Yoduro de potasio MSDS*. Obtenido de [file:///C:/Users/Juan%20Camilo/Downloads/Yoduro%20de%20potasio%20\(8\).pdf](file:///C:/Users/Juan%20Camilo/Downloads/Yoduro%20de%20potasio%20(8).pdf)
- Vignoli, R. (2018). *www.higiene.edu.uy*. Obtenido de Esterilización, desinfección y antisepsia: <http://www.higiene.edu.uy/cefa/2008/esterilizacionydesinfeccion.pdf>
- Wang, L., Li, B., Zhao, X., & Cao, C. C. (2012). Efecto de los iones de tierras raras sobre las propiedades de compuestos compuestos de copolímero de etileno acetato de vinilo e hidróxidos dobles en capas. *Plos One*, 7(6): e37781.

- Williams, G. R. (2017). Mechanistic and Kinetic Studies of Guest Ion Intercalation into Layered Double Hydroxides Using Time-resolved, In-situ X-ray Powder Diffraction. En *Layered Double Hydroxides*. Duan, Xue, Evans, David G. (Eds.).
- Xiang Wen, X. Z.-H.-Y. (2017). Potassium Iodide Potentiates Antimicrobial Photodynamic Inactivation Mediated by Rose Bengal in In Vitro and In Vivo Studies. *Antimicrob Agents Chemother*, 61(7): e00467-17.
- Xuan, W., He, Y., Huang, L., Huang, Y.-Y., Bhayana, B., Xi, L., . . . Hamblin, M. (2018). Inactivación fotodinámica antimicrobiana mediada por tetraciclinas in vitro e in vivo: mecanismos fotoquímicos y potenciación por yoduro de potasio. *Nature*.
- Yuana, L., Lyua, P., Huangc, Y.-Y., Dub, N., Qib, W., & Wanga, M. R. (2020). Potassium iodide enhances the photobactericidal effect of methylene blue on *Enterococcus faecalis* as planktonic cells and as biofilm infection in teeth. *National center for biotechnology information*.
- Zhena, X., Chudalb, L., Pandey, N. K., Phan, J., Ran, X., Amadorb, E., . . . Huanga, M. R. (2020). A powerful combination of copper-cysteamine nanoparticles with potassium iodide for bacterial destruction. *ScienceDirect*, 110: 110659.
- Zümreoglu, B., & Nedim, A. (2011). Layered double hydroxides – multifunctional nanomaterials. *Chemical Papers- Slovak Academy of Sciences*, 66(1) .