

REPUBLICA BOLIVARIANA DE VENEZUELA

UNIVERSIDAD DE LOS ANDES

FACULTAD DE INGENIERÍA

ESCUELA DE QUÍMICA

**EFFECTOS DE FACTORES FÍSICO – QUÍMICOS SOBRE LA
FORMA Y EL TAMAÑO DE CRISTALES DE CLORURO DE
PLATA**

www.bdigital.ula.ve

Realizado por:

Br. Antonio R. Gómez Z

Tutor:

Dr. Juan C. López M

Mérida, 13 de Abril de 2009

I

RESUMEN

Con el desarrollo de nuevas tecnologías, en especial aquellas que han dado pie al estudio de nuevos y mejores instrumentos, se le ha dado nacimiento a una gran variedad de nuevas áreas de investigación. Así, surge, por ejemplo, la nanociencia y la nanotecnología que son áreas de conocimiento que, tienen que ver con el mundo de lo pequeño pero que tiene grandes efectos sobre el mundo macroscópico que observamos a diario, y que han experimentado un desarrollo muy importante en los últimos años. En este proyecto se quiso estudiar cómo el tamaño, la forma y el grado de floculación de cristales de cloruro de plata se ven afectados por factores como la concentración de AgNO_3 , NaCl , SDS, TTAB, pH. Para ello se diseñaron varios experimentos factoriales de modo en facilitar el análisis de cómo los factores afectan a las respuestas del sistema ya mencionadas. Los resultados muestran que la concentración de AgNO_3 , NaCl , y la interacción entre ellos tiene un efecto marcado sobre la forma y el grado de floculación. Para estudiar cómo los factores mencionados afectan a la respuesta: tamaño de cristal, se midieron la distribución de tamaño de partículas en el Coulter LS320 de cada uno de los sistemas correspondiente a los distintos tratamientos descritos de acuerdo a los diseños factoriales y haciendo uso del microscopio óptico. Los resultados muestran que el tamaño de partículas es una respuesta del sistema que es muy sensible a una gran variedad de factores incluyendo a las interacciones entre estos. Así resultó como los factores más influyente sobre el tamaño de partículas las concentraciones de AgNO_3 y de SDS, además se encontró que el pH también afecta a dicha respuesta. Por otra parte, un experimento factorial bajo condiciones diferentes revela que la presencia de una mezcla SDS-TTAB en el sistema reaccionante AgNO_3 - NaCl tiene un efecto tremendo sobre la forma, el tamaño y el grado de floculación de los cristales de AgCl resultantes. Adicionalmente, se encontró que la longitud de la cola del surfactante catiónico tiene un poder tremendo sobre la forma y el tamaño de los cristales de AgCl . Finalmente, se realizó una aplicación inhibitoria sobre la bacteria E.coli de un sistema disperso de partículas de cloruro de plata (AgCl)

Índice de contenido

RESUMEN	I
AGRADECIMIENTOS.....	VI
INTRODUCCIÓN	VII
CAPÍTULO I. EL ESTADO COLOIDAL.....	1
I.1 Fuerzas que actúan en los sistemas coloidales	2
I.1.1 Fuerzas de Van der Waals.....	2
I.1.2 Fuerzas de Tipo Dipolo-Dipolo.....	2
I.1.3 Fuerzas de Tipo Dipolo-Dipolo inducido	2
I.1.4 Fuerzas de Dispersión de London	3
I.1.5 Fuerzas de Tipo Ion-Ion	3
I.1.6 Fuerzas Entrópicas ó Estéricas.....	3
I.2 Doble Capa Eléctrica	4
I.3 Teoría de Estabilidad de Coloides Liofóbicos (DLVO)	5
I.4 Estabilización de sistemas coloidales	6
I.4.1 Estabilización electrostática de sistemas coloidales.....	7
I.4.2 Estabilización estérica de sistemas coloidales.....	7
I.4.3 Estabilización electro-estérica de sistemas coloidales	8
CAPÍTULO II. EMULSIONES	9
II.1 Clasificación de las Emulsiones.....	9
II.1.1 Según la naturaleza de la fase continua.....	10
II.1.2 Según el Contenido de Fase Interna.....	10

II.1.3 Según el Tamaño de Gotas.....	11
II.1.4 Microemulsiones.....	12
CAPÍTULO III. SURFACTANTES.....	14
III.1 Clasificación de los Surfactantes.....	15
III.1.1 Aniónicos	15
III.1.2 Catiónicos.....	15
III.1.3 No iónicos.....	15
III.1.4 Anfotéricos o de Pares Iónicos	16
III.2 Balance hidrofílico lipofílico (HLB)	16
III.3 Propiedades de las Soluciones de Surfactantes	16
III.3.1 La Adsorción.....	17
III.3.2 La asociación micelar	17
III.3.2.1 Concentración Micelar Crítica (CMC)	18
III.4 Tensión Superficial e Interfacial	19
CAPÍTULO IV. APLICACIONES PRÁCTICAS DE LA PLATA COLOIDAL	20
CAPÍTULO V. ANTECEDENTES Y PLAN DE TRABAJO.....	23
V.1 Antecedentes y justificación.....	23
V.2 Objetivos.....	25
V.3 Parte experimental	25
V.3.1 Materiales.....	25
V.3.2 Metodología experimental	27
V.3.2.1 Sistema SDS.....	27

V.3.2.2 Sistema aniónico/catiónico	29
V.3.2.3 Sistemas microemulsionados	30
V.3.2.4. Aplicación práctica sobre el método microbiológico de KIRBY BAUER....	31
V.3.2.5 Utilización del turbidímetro	32
V.3.2.6 Preparación de las muestras para análisis microscópico	32
V.3.2.7 Fundamento del microscopio electrónico de barrido	33
V.3.2.8 Fundamento del microscopio de fuerza atómica	33
CAPÍTULO VI. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	35
CAPÍTULO VII. CONCLUSIONES.....	51
BIBLIOGRAFÍA	52
ANEXOS.....	56
1. Método de determinación de sensibilidad antimicrobiana por difusión en disco (Kirby Bauer)	56
2. Discos de petri de los sistemas: Agar-Bacteria-Sustancias antimicrobianas....	58

AGRADECIMIENTOS

- A Dios todo poderoso y a mi familia por acompañarme siempre y en todo momento.
- Al Dr. Juan Carlos López Montilla, por permitirme realizar este trabajo de investigación en el laboratorio QUEXA y por todo el asesoramiento y confianza brindada.
- Al laboratorio FIRP y a todo su personal técnico.
- Al laboratorio POLYCOL, especialmente a los técnicos Víctor y Carlos.
- Al laboratorio de membranas y a todo su personal técnico.
- Al laboratorio de Ciencia y Biotecnología de los Alimentos, Facultad de Ingeniería de la Universidad de los Andes, especialmente al técnico Manuel Unda por su entera disposición para este proyecto.
- Al laboratorio de Fisiología de la Conducta, Facultad de Medicina de la Universidad de los Andes, especialmente al Dr. Luis Betancourt por su colaboración.
- Al centro de microscopía electrónica “Dr. Ernesto Palacios Prü” de la Universidad de los Andes, especialmente a los técnicos Alirio Balza y Leisalba Zavala por el apoyo brindado.
- A las Bioanalistas Eliana Quintero y Ana Aparicio por su colaboración prestada.
- A todas aquellas personas que de una u otra forma, participaron en la realización de este proyecto.

INTRODUCCIÓN

Hoy en día muchos productos y tecnologías usan partículas para conferirle ciertas propiedades físicas y químicas, o para mejorar la efectividad de un proceso. Entre las características más importantes de las partículas están las de tipo químico superficial, como su forma, tamaño y distribución. Estas dependen en gran medida de la composición química de la partícula; así como también de la composición química y el orden de las sustancias que se adsorben sobre ella. La forma y el tamaño aunque se ven afectados por la composición química, dependen principalmente de los múltiples aspectos relacionados con el proceso de su formación.

Hoy más que nunca el foco de las investigaciones realizadas en sistemas coloidales se encuentran orientados hacia la determinación y comprensión de los mecanismos responsables del crecimiento de las partículas, una vez alcanzado esto, la manipulación de los factores que pueden perturbar los mecanismos de crecimiento inducen propiedades deseadas en las partículas como la forma y el tamaño. Esto último ha cobrado gran interés en la química de superficies por su aplicabilidad en múltiples desarrollos como en la catálisis, alimentos, pinturas, textiles, conformación de materiales, entre otros.

Las propiedades de las partículas pueden variar de acuerdo a su tamaño. Las nanopartículas, es decir las partículas que poseen tamaño nanométrico (10^{-9} m) son sistemas sumamente interesantes que poseen cualidades tan útiles como su gran área interfacial. Existen diversas formas de producir nanopartículas, entre las más usadas se tienen; vía reacción química, condensación desde el vapor y deformación mecánica. Dentro del método por vía reacción química se encuentra la técnica de las microemulsiones. Un ejemplo de aplicación de estos sistemas son las partículas de plata aplicadas en la lucha contra los organismos microbianos, la capacidad natural bactericida que posee la plata en sinergia con la ventaja desde el punto de vista de la dosificación que pueden poseer los sistemas de tamaño nanométrico hacen de las nanopartículas de plata una herramienta muy importante en el campo de la bacteriología.

Los compuestos que poseen en su estructura molecular átomos de plata también son capaces de reproducir la propiedad bactericida del ión fundamental (Ag^+). Ejemplo de este tipo de compuesto

es el cloruro de plata (AgCl). Esta investigación pretende estudiar los efectos que tiene sobre la forma y el tamaño de partículas de cloruro de plata diferentes factores como lo son: i) Concentración de sales precursoras, ii) pH del medio de reacción, iii) Presencia, naturaleza y concentración de surfactantes en el sistema de reacción. Las diferentes respuestas emitidas son monitoreadas a través del microscopio y el Coulter sizer para posteriormente ser procesadas y analizadas con el método de diseño de experimentos que permite determinar en qué magnitud, dirección e importancia actúan los factores antes mencionados sobre el tamaño, forma y grado de floculación de las partículas.

www.bdigital.ula.ve

CAPÍTULO I. EL ESTADO COLOIDAL

Una mezcla es un sistema químico conformado por dos ó más sustancias que también es denominado también como sistema disperso; En función del tamaño de las partículas que conforman el sistema se obtiene la siguiente clasificación:

- Dispersiones macroscópicas o groseras: son sistemas heterogéneos, donde el tamaño de las partículas es mayor a los 50 mm.
- Dispersiones finas: son sistemas heterogéneos con tamaño de partícula comprendido en una escala menor a 50 mm y mayor a 0,1 mm.
- Dispersiones ó sistemas coloidales: son sistemas heterogéneos, con tamaños de partícula comprendido entre 0,001 y 0,1 mm.
- Soluciones verdaderas: son sistemas homogéneos, donde las partículas dispersas son básicamente moléculas o iones con tamaño menor a 0,001 mm [1].

El estudio de las dispersiones coloidales comprende los sistemas en los que uno ó varios de los componentes que conforma la dispersión tienen una dimensión entre 1 nm y 1 μ m. las dispersiones coloidales pueden encontrarse en gran variedad de formas y sistemas tales como emulsiones, dispersiones de proteínas, polisacáridos, polímeros, entre otras, y su carácter multifacético permite ser aplicado en diversas industrias como la de productos alimenticios, industria de los plásticos, tejidos, intercambio iónico, catálisis heterogénea, entre otros [2].

En los fenómenos de superficie, las dispersiones coloidales juegan un papel fundamental, debido a la alta relación área/volumen del sistema, lo que le permite almacenar una enorme cantidad de interfase, otra característica de estos sistemas es su estabilidad, es decir, que la dispersión coloidal pueda mantenerse de tal manera que las partículas que la conforman no se adhieran entre sí; pero existen diferentes fuerzas que actúan en contra de esta estabilidad, tal es el caso de las atracciones interactivas entre partículas y la fuerza de gravedad. Las partículas como tal no corresponden a la fuerza de gravedad sino que son regidas por el movimiento browniano; sin embargo, una vez que las fuerzas interactivas ejercen su efecto sobre las partículas estas tienden a unirse entre sí, formando partículas más grandes que se encuentran sujetas a la fuerza de gravedad y que por lo tanto son depositadas en el fondo del recipiente contentivo del coloide [3].

I.1 Fuerzas que actúan en los sistemas coloidales

Las fuerzas entre partículas coloidales se deben al tamaño de la superficie y a las cargas que pueden exhibir estos sistemas. Las fuerzas de interacción en sistemas coloidales presentan un carácter electrostático y se clasifican de la siguiente manera: Fuerzas de van der Waals, Fuerzas de tipo Ión-Ion y Fuerzas entrópicas ó estéricas.

I.1.1 Fuerzas de Van der Waals

Son fuerzas de carácter atractivo inversamente proporcionales al cuadrado de la distancia que las separa, son ocasionadas por la interacción entre dipolos instantáneos asociados a las nubes electrónicas atómicas, dándose incluso en átomos neutros. Las fuerzas de Van der Waals presentan un sistema integrado de fuerzas tipo: i) Dipolo-Dipolo. ii) Dipolo-Dipolo inducido y iii) Fuerzas de dispersión de London [4].

I.1.2 Fuerzas de Tipo Dipolo-Dipolo

Son fuerzas de atracción que obedecen la ley de coulomb (Fuerzas entre partículas inversamente proporcionales al cuadrado de la distancia que las separa) y que actúan sobre moléculas que presentan momentos dipolares permanentes; Este tipo de fuerza involucra cargas de tipo parcial, por lo que son más débiles que las de tipo ión-ión, y solo es efectiva a distancias muy cortas, además de ser proporcional al momento dipolar exhibido por la molécula, donde a mayor momento dipolar, mayor es la interacción presentada.

El enlace de hidrogeno es un ejemplo de esto siendo una interacción de tipo dipolo-dipolo particularmente fuerte. Solo algunos elementos pueden participar en este tipo de interacción, como entre el átomo de hidrogeno de un enlace polar, N-H, O-H ó F-H, y un átomo electronegativo O, N o F, y como consecuencia de la energía asociada a este tipo de enlace, los puentes de hidrogeno tienen un poderoso efecto en la estructura y las propiedades de muchos compuestos como el amoniaco y el fluoruro de hidrogeno [5].

I.1.3 Fuerzas de Tipo Dipolo-Dipolo inducido

Son fuerzas similares a las de tipo dipolo-dipolo, sin embargo, en este caso participa una molécula polar y otra apolar. La molécula polar induce un dipolo en su par no polar originándose con esto la atracción electrostática. Este tipo de fuerzas son las que se ven involucradas en la disolución de algunos gases apolares como (Cl_2) en disolventes polares [5].

I.1.4 Fuerzas de Dispersión de London

Son fuerzas de atracción que se generan por dipolos temporales inducidos en los átomos y moléculas. Este tipo de fuerzas son atracciones muy débiles que ejercen su efecto únicamente a distancias muy cortas y existen en todo tipo de moléculas de fase condensada (líquidos y sólidos) siendo débiles en moléculas pequeñas, además es la única presente intermolecularmente en compuestos que no exhiben momento dipolar y entre especies monoatómicas como los gases nobles [5].

I.1.5 Fuerzas de Tipo Ión-Ión

Son fuerzas de atracción entre dos iones que obedecen la ley de coulomb, y muestra como la energía de atracción entre dos iones con cargas opuestas es directamente proporcional a las cargas de los iones involucrados, e inversamente proporcional a la distancia de separación. Si los iones involucrados poseen cargas con signos iguales este tipo de fuerza cambia su carácter de atractiva a repulsiva.

A medida que las cargas de los iones involucrados se hace mayor, mayor es la energía necesaria para vencer este tipo de interacción, razón por la cual las sustancias iónicas con cargas múltiples como el Al^{3+} , Mg^{2+} , O^{2-} , tienen puntos de ebullición y de fusión más elevados en comparación con los compuestos iónicos que solo contienen iones de una sola carga como el Na^+ , K^+ [5].

I.1.6 Fuerzas Entrópicas ó Estéricas

Son un tipo de fuerzas de carácter atractivo y se deben a los efectos entrópicos de las partículas involucradas. En la Figura (1.1) se observa como existe una zona creada entre las partículas esféricas grandes denominada zona de exclusión que no impide la atracción entre partículas pero que limita su acercamiento evitando el solapamiento de las partículas. Por otra parte también se observa como las esferas con diámetro mucho más pequeño se encuentran estéricamente inhabilitadas para penetrar la zona de exclusión limitando su unión a las esferas más grandes [6].

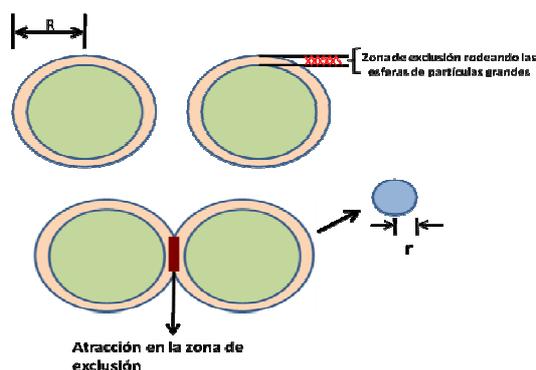


Figura 1.1. Interacciones estéricas entre partículas

I.2 Doble Capa Eléctrica

En la naturaleza, la mayoría de las sustancias son capaces de adquirir una carga eléctrica superficial cuando se ponen en contacto con un medio polar, como el agua, esta carga superficial puede hacerse efectiva mediante tres mecanismos posibles: i) Ionización, que depende sobre todo del pH de la solución. ii) Adsorción iónica, que es función de la adsorción desigual de iones con signos opuestos, por lo que puede ser tanto positiva como negativa y iii) Disolución de iones, donde la disolución desigual de iones de signo opuesto induce una carga superficial en las sustancias iónicas.

Las cargas superficiales rigen el comportamiento de los iones vecinos a las partículas en el medio polar, de manera que los iones que poseen carga opuesta (contra-iones) son atraídos hacia la superficie y los iones de igual carga (co-iones) son alejados de la superficie por fuerzas de repulsión, conduciendo a la formación de una doble capa eléctrica que se encuentra conformada por la superficie cargada y su contra parte neutralizante (contra-iones) sobre co-iones distribuidos de manera difusa en el medio polar. Según Salager [1998] "Cuando un sólido ó líquido apolar está en contacto con una solución acuosa de electrolito, se puede decir en general que la superficie del sólido ó la interfase sólido-liquido presenta un exceso de carga por unidad de área. Un exceso equivalente pero de signo contrario está ubicado en la fase acuosa próxima a la interfase, ambas distribuciones constituyen la llamada doble capa eléctrica interfacial". En la Figura 1.2 se observa la capa eléctrica de un coloide altamente negativo, la capa difusa y la capa de stern [5].

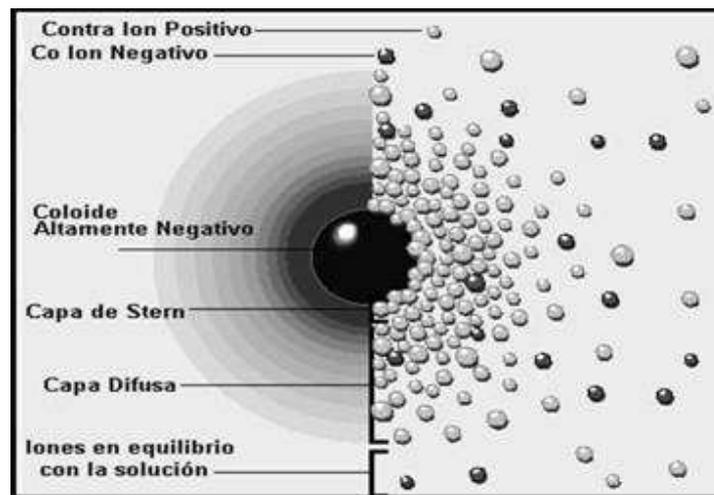


Figura 1.2. Doble capa eléctrica generada alrededor de un coloide [7].

Se puede observar como la doble capa eléctrica se encuentra constituida por dos regiones: una región que presenta los iones adsorbidos y una región que resulta difusa donde los iones se distribuyen de acuerdo a las fuerzas electrostáticas dominantes. La capa de Stern resulta de un modelo donde se propone que la doble capa eléctrica se encuentra dividida en dos partes separadas por un plano, denominado plano de Stern y se encuentra localizado a una distancia de la superficie próximamente igual a la del radio iónico hidratado. Es decir los centros de cualquiera de los iones adsorbidos sobre la capa eléctrica se encuentran localizados en la capa de Stern [3,8].

I.3 Teoría de Estabilidad de Coloides Liofóbicos (DLVO)

Deryagin y Landau desarrollaron por separado en los años 1941 y 1948 respectivamente, una teoría química destinada a comprender la estabilidad de los coloides liofóbicos. Esta teoría relaciona la estabilidad de un coloide liofóbico con la energía de interacción entre partículas, definiendo la energía de interacción entre partículas (V) como una función de dos tipos de interacciones posibles entre partículas: i) El potencial atractivo (V_A) y ii) El potencial repulsivo (V_R).

Como consecuencia del cambio que experimentan los potenciales atractivos y repulsivos conforme se modifica la distancia interpartícula; la energía de interacción interpartícula cambia también. Las fuerzas de atracción lo hacen como una potencia n (1 a 3) de la distancia, mientras que las fuerzas de repulsión decrecen exponencialmente en función de la distancia interpartícula, la suma de los potenciales V_A y V_R definen la energía potencial total de interacción tal como se muestra a continuación:

$$V = VA + VR$$

Los términos VA y VR pueden ser modificados para cambiar la energía potencial total de interacción. Así, por ejemplo: el potencial atractivo, promovido por las fuerzas de Van der Waals (VA) resulta independiente del medio de la dispersión, pero el potencial repulsivo, promovido por las fuerzas electrostáticas (VR) resulta bastante sensible a los cambios de concentración, naturaleza y presencia de electrolitos, pH, entre otros [5].

El hecho de que la energía de interacción entre partículas (V) varíe según el cambio de los potenciales atractivos y repulsivos pone de manifiesto un valor máximo de magnitud de V donde el coloide resulta estable y un valor mínimo para que ocurra la coagulación del coloide. A continuación se presenta una grafica de la variación de potenciales de energía según la teoría DLVO [9].

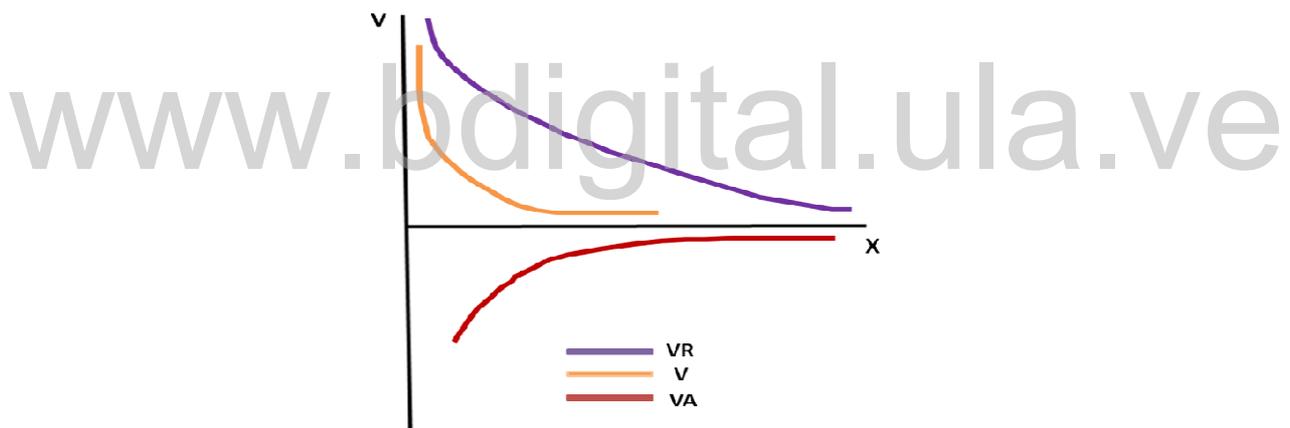


Figura 1.3. Variación de potenciales de energía según la teoría DLVO [9].

I.4 Estabilización de sistemas coloidales

Las partículas conformantes de un sistema coloidal pueden ser estabilizadas atendiendo dos mecanismos fundamentales conocidos como estabilización electrostática y estabilización estérica. Por otra parte estos dos mecanismos pueden ser combinados para dar paso a otro mecanismo de estabilización conocido como estabilización electro-estérica [10].

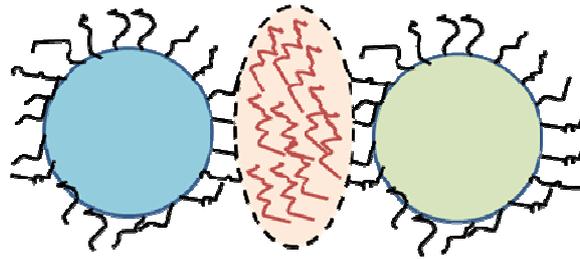


Figura 1.5. Localización de macromolécula interpartícula

I.4.3 Estabilización electro-estérica de sistemas coloidales

La estabilización electrostática y la estabilización estérica pueden combinarse para mantener las partículas estables en solución, esta combinación se conoce como estabilización electro-estérica. Los compuestos que poseen actividad interfacial (surfactantes) generalmente proporcionan este tipo de estabilización. Los surfactantes se caracterizan por poseer una estructura molecular contentiva de dos grupos, uno apolar con poca afinidad al solvente llamado liofílico junto a otro grupo polar con gran afinidad al solvente llamado grupo liofóbico. El grupo polar, es el responsable de la generación de la doble capa eléctrica que induce la repulsión de tipo electrostático, y el grupo apolar es el responsable de proporcionar la repulsión estérica, un ejemplo típico de este tipo de compuestos son los polioxianiones tales como el $\text{Bu}_4\text{N}^+/\text{P}_2\text{W}_{15}\text{Nb}_3\text{O}_{62}$ [10].

www.bdigital.ula.ve

CAPÍTULO II. EMULSIONES

Una emulsión es un sistema constituido como mínimo por dos fases líquidas inmiscibles, una de las cuales se encuentra dispersada en forma de pequeñas gotas dentro de la otra, y cuya estructura es estabilizada por un agente surfactante denominado emulsionante. Este tipo de sistema es termodinámicamente inestable dado que la energía libre interfacial es de tal magnitud que existe una fuerte tendencia a minimizar la superficie de contacto y, en consecuencia, a producir la separación de fases. La presencia de un surfactante produce la reducción de esta energía libre, lo que permite la estabilización de una extensa superficie de contacto, no obstante, estos sistemas siguen siendo termodinámicamente inestables y tienden eventualmente a separarse con el tiempo [11].

Para formar una emulsión se requieren las siguientes condiciones:

- Que los líquidos sean inmiscibles.
- La presencia de un surfactante, para estabilizar la fase dispersa al formar una película elástica que rodee la superficie de las gotas.
- La agitación por un determinado tiempo e intensidad para dispersar un líquido en el otro [11].

Los líquidos inmiscibles que conforman una emulsión pueden mezclarse por medio de agitación mecánica formándose un sistema de tipo coloidal, es decir, un sistema en el cual coexisten especies químicas del orden de tamaño de los nanómetros (10^{-9} m) y los micrómetros (10^{-6} m) [1]. El resultado de esta mezcla constituye un sistema donde los líquidos inmiscibles involucrados pueden permanecer juntos aun sin el medio de agitación. En la mayoría de los casos, para las diferentes aplicaciones donde se requiere un producto emulsionado se debe satisfacer ciertos parámetros de estabilidad como tamaño de gota, viscosidad y composición [12].

II.1 Clasificación de las Emulsiones

En una emulsión se encuentran involucradas dos fases líquidas inmiscibles, lo anterior induce la existencia de una fase denominada continua que sirve de matriz, donde se encuentran suspendidas gotas de otra fase denominada fase dispersa, discontinua ó interna. Las fases presentes en una emulsión están denotadas por las siglas (O) para el aceite y (W) para el agua. Las

propiedades de una emulsión cambian notablemente dependiendo de cuál sea la fase continua por lo que es oportuno clasificar las emulsiones en función de la naturaleza de la fase continua. Por otra parte, es posible clasificar las emulsiones atendiendo el contenido de fase interna (relación volumen de fase externa y volumen total) así como también en función de la distribución de tamaño de la dispersión de partículas ó gotas [13].

II.1.1 Según la naturaleza de la fase continua

Dentro de esta clasificación es posible encontrar tres tipos de emulsiones: i) *emulsiones simples*, ii) *biemulsiones* y iii) *emulsiones múltiples*.

Las emulsiones simples son aquellas en las que la fase continua es el agua ó el aceite. Aquellas en las que la fase continua es agua son denominadas emulsiones “aceite en agua” (O/W); si la fase continua es aceite la emulsión es denominada “agua en aceite” (W/O). En este tipo de emulsiones el agente emulsificante (surfactante) juega un papel fundamental ya que la formación de una u otra emulsión (O/W) ó (W/O) dependerá si el surfactante es mas soluble en la fase acuosa ó en la fase oleica [6].

Las biemulsiones son emulsiones capaces de poseer dos fases internas diferentes que pueden ser de la misma naturaleza pero de diferentes tamaños ó de naturaleza diferentes con cualquier tamaño, este tipo de sistemas son utilizados para inducir transferencia de masa entre dos fases internas ó controlar ciertas propiedades de la emulsión como por ejemplo la viscosidad [11].

Las emulsiones múltiples son simbolizadas por las siglas W/O/W agua en aceite en agua ó O/W/O aceite en agua en aceite y son sistemas en los que la fase dispersa contiene gotas dispersadas contentivas de la misma fase continua, es decir son emulsiones que están localizadas dentro de emulsiones [14].

II.1.2 Según el Contenido de Fase Interna

Ciertas propiedades de las emulsiones como la viscosidad, estabilidad y tamaño de gota varían de acuerdo a la relación másica existentes entre la fase dispersa y la fase continua, de esta forma se obtienen:

- Emulsiones de muy bajo contenido de fase interna

Este tipo de emulsiones puede contener de 0 a 5% de fase dispersa, donde las gotas del líquido disperso no presentan prácticamente interacciones y no suelen ser sistemas muy estables ya que

tienden a conformar aglomerados.

- Emulsiones de bajo contenido de fase interna

El contenido de fase interna de estas emulsiones se encuentra entre el 5 y 30%.

- Emulsiones de contenido medio de fase interna

Estas emulsiones contienen de 30 a 70% de fase interna y sus propiedades son dependientes de la formulación y de los métodos de producción de las mismas. Desde el punto de vista práctico, este tipo de emulsiones es el más frecuente en la industria. El surfactante debe tener gran poder solubilizante de tal manera en asegurar la estabilidad de la emulsión.

- Emulsiones de alto contenido de fase interna o HIPR (High Internal Phase Ratio)

Son aquellas que contienen por encima del 70% de fase interna, y su comportamiento es altamente impredecible. Este tipo de emulsión no es muy común, aunque puede hallarse en emulsiones alimenticias, productos farmacéuticos y emulsiones asfálticas y bituminosas [11].

II.1.3 Según el Tamaño de Gotas

Dentro de esta clasificación se encuentran las emulsiones de tamaño macro (macroemulsiones) y las emulsiones de tamaño nano (nanoemulsiones). Las microemulsiones también se encuentran catalogadas dentro de esta clasificación y a menudo son confundidas con emulsiones que poseen distribución de tamaño micrométrico de partícula.

Las macroemulsiones son sistemas que presentan partículas con diámetros que varían entre 1 y 100 μm , son fácilmente visibles al microscopio y las gotas que conforman estos sistemas son lo suficientemente pesadas como para asentarse por efecto de la fuerza de gravedad [5]

Las nanoemulsiones son sistemas de dos fases en los que el tamaño de gota está comprendida entre 50 – 500 nm. Son emulsiones que no requieren alta concentración de surfactantes para su formación y que como el resto de las emulsiones son sistemas termodinámicamente inestables, translucidos y presentan alta estabilidad cinética [5,15].

II.1.4 Microemulsiones

De acuerdo a lo expresado por Salager (1999): "En el campo de los coloides se encuentran las macromoléculas (coloides liofílicos), las suspensiones sólidas (soles) y los agregados de surfactante (micelas). Cuando una micela solubiliza aceite en su interior, tiende a hincharse; en cuanto la solubilización alcance una fracción notable del sistema, se produce una estructura llamada microemulsión. Una microemulsión es una solución micelar "hinchada", y es por lo tanto no una emulsión sino un sistema monofásico" (p. 4). Por lo tanto, una microemulsión puede ser vista como pequeños compartimientos o pequeños tubos de ensayo producto de la interacción surfactante-agua-aceite, las microemulsiones de acuerdo al ordenamiento de sus micelas pueden ser directas, inversas y bicontínuas (Ver Figura 3.3). Una de las propiedades más importantes de los sistemas micelares es su disponibilidad para solubilizar una gran variedad de especies y llevar a cabo dentro de estos sistemas reacciones tanto orgánicas como inorgánicas. De esta manera, es posible inducir fenómenos dentro de este pequeño compartimiento de manera que, en su interior puedan disolverse materiales, tales como metales de transición y sales precursoras de la partícula de metal requerida [16].

www.bdigital.ula.ve

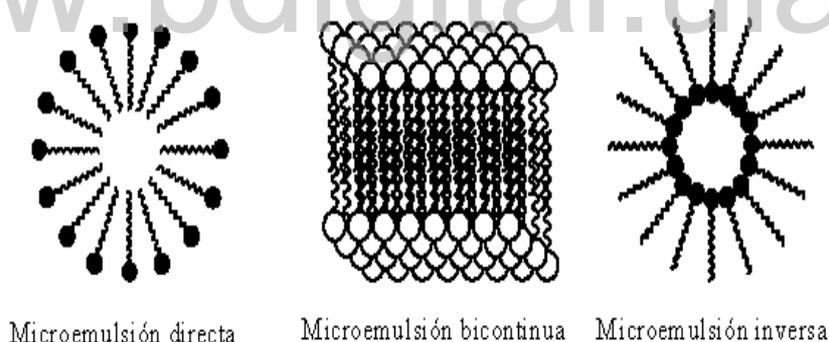


Figura 2.1. Posibilidades de ordenamiento de micelas en una microemulsión [16]

En la actualidad el estudio de la síntesis de nanopartículas empleando microemulsiones es muy diverso; sin embargo, no siempre es fácil determinar el mecanismo por el cual se lleva a cabo la formación de la partícula en el interior del sistema micelar, por lo tanto, es necesario realizar un análisis detallado a partir de la formación de complejos en solución de las sales que formarán la partícula, para relacionar las propiedades de tales complejos con el tipo de microemulsión requerida, tomando en cuenta las posibles interacciones de los complejos con las moléculas de

surfactante y la fase orgánica utilizada [10].

www.bdigital.ula.ve

Convirtiéndolos, tal vez, en las sustancias más versátiles que existen en la industria química. En general los surfactantes son utilizados en la producción de emulsiones y en la estabilización de espumas.

III.1 Clasificación de los Surfactantes

De acuerdo a sus afinidades los surfactantes pueden clasificarse de la siguiente forma: Hidrofílicos, que tienen mayor afinidad por el agua, y Lipofílicos que tienen mayor afinidad por el aceite [17].

Por otra parte, existe otra clasificación que diferencia a los surfactantes dependiendo de la naturaleza del grupo hidrofílico en:

III.1.1 Aniónicos

La porción activa de la superficie del surfactante lleva una carga negativa que generalmente es acompañada por un catión que puede ser un metal o un amonio cuaternario, como principal propiedad se puede mencionar que la solubilidad aumenta con la temperatura. Son los surfactantes de mayor producción y se emplean como detergentes, jabones y agentes espumantes [18].

III.1.2 Catiónicos

La porción activa de la superficie del surfactante lleva una carga positiva y generalmente es acompañada por un anión halogenuro. La gran mayoría son compuestos nitrogenados del tipo sal de amina grasa o de amonio cuaternario. Este tipo de surfactantes no son de uso tan extendido, debido a que su fabricación es más costosa, siendo su utilización muy específica en emulsiones asfálticas, enjuagues capilares y bactericidas [18].

III.1.3 No iónicos

En solución acuosa no forman iones, ya que su parte hidrofílica ésta formado por grupos polares no ionizados como: alcohol, éter o éster. Estos tienen la ventaja de que son estables frente a la mayoría de los productos químicos en las concentraciones usuales de empleo, al no ionizarse en agua, no forman sales con los iones metálicos y son igualmente efectivos en agua blanda o dura. Su naturaleza química los hace compatibles con otros surfactantes catiónicos, aniónicos y coloides cargados positiva y negativamente. Por otra parte sus características los hacen altamente valiosos como materias primas, base para formulación de diversos productos para la industria de la agricultura, curtido, látex, textiles, procesos de metales, pinturas en emulsión, petróleo, pulpa y

papel, limpiadores [18].

III.1.4 Anfotéricos o de Pares Iónicos

Los surfactantes de este tipo combinan en una sola molécula un grupo aniónico y otro catiónico, siendo los aminoácidos y fosfolípidos (lípidos complejos en cuya composición intervienen carbono, hidrógeno, oxígeno, fósforo y nitrógeno) ejemplos de este tipo de sustancias. Estos surfactantes son de poco uso, debido a su alto costo de producción.

Por otro lado también podemos clasificar los surfactantes de acuerdo a su origen: Sintéticos, que son los surfactantes que se obtienen mediante reacciones químicas. Y los Naturales, que se refieren a aquellos que provienen de fuentes naturales, animales o vegetales, que siguiendo un proceso de extracción y purificación son obtenidos sin sufrir modificaciones químicas que alteran estructural y biológicamente su condición natural [17].

III.2 Balance hidrofílico lipofílico (HLB)

Griffin, en 1949 introdujo el concepto de HLB al notar que existía una relación entre la naturaleza de un surfactante y sus propiedades como agente tensoactivo y emulsionante. El HLB está basado en un método experimental, que consiste en asignar un cierto número a los agentes emulsionantes mediante la observación de la estabilidad de una emulsión.

La escala de números va desde el 1 hasta el 20, donde se asignó el número 1 al ácido oléico ($C_{18}H_{34}O_2$) y el número 20 para el oleato de potasio. Todos los otros números en la escala del HLB se derivaron de estos dos estándares primarios.

Para ciertos tipos de surfactantes, el valor experimental del HLB está relacionado con la fórmula química del surfactante. Los surfactantes con valores altos de HLB se relacionan con emulsiones del tipo O/W o hidrofílicas y surfactantes con HLB bajo se relacionan con emulsiones W/O o lipofílicas. Específicamente, una emulsión W/O estará comprendida entre un intervalo de 3-9 en la escala del HLB, mientras que en un rango de 11-18 de HLB, la emulsión será O/W [5,19,1].

III.3 Propiedades de las Soluciones de Surfactantes

Los surfactantes poseen dos propiedades fundamentales: Son capaces de ubicarse en una interfase según el fenómeno llamado adsorción, y también son capaces de asociarse para formar polímeros de agregación llamados micelas.

III.3.1 La Adsorción

La adsorción es un fenómeno espontáneo impulsado por la disminución de energía libre del surfactante al ubicarse en la interfase y satisfacer parcial o totalmente su doble afinidad. Cuando una molécula de surfactante se ubica en forma orientada en una interfase, se dice que se adsorbe [3]; es decir como se dijo anteriormente todos los surfactantes poseen una molécula que presenta a la vez un grupo polar (o hidrofílico) y un grupo apolar (hidrofóbico o lipofílico), en vista de su dualidad polar-apolar, una molécula de surfactante no puede satisfacer su doble afinidad ni en un solvente polar, ni en un solvente orgánico. Cuando una molécula de surfactante se coloca en una interfase agua-aire ó agua-aceite, ella puede orientarse de manera a que el grupo polar esté en el agua, mientras que el grupo apolar se ubica "fuera" del agua, en el aire o en el aceite [17].

La adsorción es un fenómeno dinámico que está contrarrestado por la desorción. El equilibrio adsorción/desorción se establece entre la interfase y el seno de las fases inmiscibles. En consecuencia, se llega muy rápidamente a una saturación de todo el espacio disponible en la interfase formándose una capa monomolecular o monocapa, en la cual las moléculas de surfactante tal y como establece Anton y Salager (1990) "se encuentran dispuestas en forma geométrica apropiada de acuerdo a su orientación polar-apolar (interacciones con los solventes) y a las atracciones o repulsiones (interacciones entre moléculas de surfactantes)" [4,17].

III.3.2 La asociación micelar

Cuando la concentración de surfactante aumenta en la fase acuosa, se produce rápidamente la saturación del área interfacial y como consecuencia el número de moléculas disueltas tiende a aumentar. A partir de cierta concentración, denominada Concentración Micelar Crítica (CMC), el surfactante produce estructuras poliméricas de asociación o agregados denominados micelas.

En una solución acuosa la fuerza motriz principal que favorece la formación de micelas es el efecto hidrofóbico, es decir, la sustracción de la parte apolar del surfactante del contacto con las moléculas de agua y la formación de un contacto más favorable desde el punto de vista energético con las partes apolares de otras moléculas de surfactante [17].

El número de moléculas que forman una micela generalmente es superior a cien y los agregados tienen formas geométricas que varían entre esféricas y cilíndricas. La forma de las micelas depende de varios factores, siendo los más importantes, la concentración del surfactante, la fuerza iónica de la solución y la temperatura [5,6].

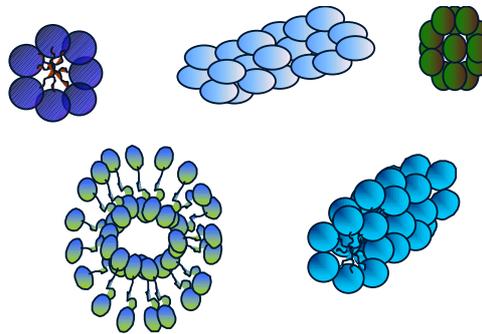


Figura 3.3. Formas Típicas de las Micelas [20]

La mejor forma de visualizar las micelas es imaginarse que la parte hidrofílica del surfactante está en contacto con el agua, mientras que los grupos lipofílicos se unen en el interior del agregado creando una región de la cual se encuentra esencialmente excluida. El interior de las micelas se asemeja a un líquido parafínico. Una situación similar ocurre cuando el surfactante se disuelve en un solvente no polar, en este caso las micelas formadas se conocen como micelas inversas, en las cuales los grupos hidrofóbicos se orientan hacia fuera, es decir, en contacto con el líquido no polar mientras que las partes hidrofílicas se unen en el interior del agregado.

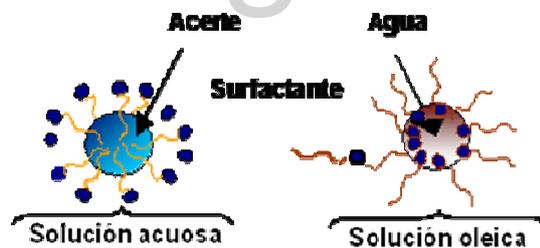


Figura 3.4. Tipos de Micelas [20]

III.3.2.1 Concentración Micelar Crítica (CMC)

Es la concentración a partir de la cual las fuerzas que favorecen la formación de micelas (efecto hidrófobo), superan a las fuerzas que se oponen a ésta (repulsión entre las partes polares). El fenómeno de micelación es importante, no sólo porque varias propiedades interfaciales como la solubilización dependen de éste, sino también porque afecta la tensión interfacial, adsorción a interfases y estabilidad de sistemas coloidales, entre otras propiedades [17].

La concentración dónde ocurre la formación de micelas, está bien definida y puede ser identificada por medio de la observación del comportamiento de alguna de las propiedades de equilibrio o transporte de la solución, la cual cambia abruptamente en un punto dependiente de la concentración dada. La concentración de surfactante a partir de la cual la tensión superficial se hace constante viene a ser la concentración micelar crítica (CMC), y a partir de ésta se comienzan a formar las micelas de lo que anteriormente eran sólo monómeros. Esta se representa al construir la isoterma de adsorción producto de graficar la tensión interfacial en función del logaritmo de la concentración de surfactante en una solución acuosa. Inicialmente la tensión interfacial de la solución decrece casi linealmente con el logaritmo de la concentración, para luego permanecer casi prácticamente constante [19] [5].

Las micelas parecen formarse en un rango estrecho de concentraciones de surfactantes, no obstante para fines prácticos se considera que la formación de las micelas se inicia cuando se alcanza la concentración micelar crítica. Así, para concentraciones inferiores a la CMC, solo existen monómeros (moléculas de surfactantes) en solución, pero para concentraciones iguales o superiores a la CMC, existen monómeros y agregados moleculares en la solución.

www.bdigital.ula.ve

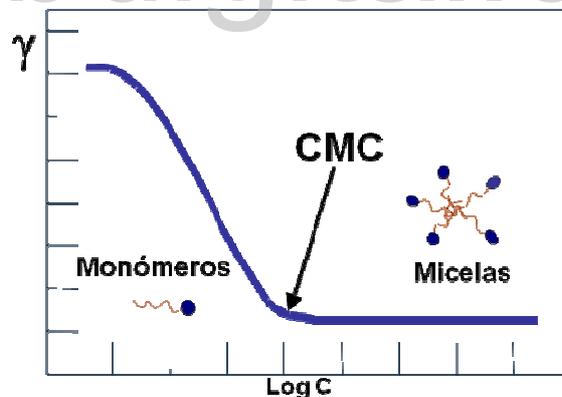


Figura 3.5. Tensión Interfacial en función de Log. Concentración de Surfactante, donde se representa la CMC [20]

III.4 Tensión Superficial e Interfacial

La tensión superficial es el resultado de la existencia de una presión interna, una fuerza, que dirige las moléculas dentro del líquido y es perpendicular a la superficie [21].

Las moléculas que se encuentran situadas en el seno de un líquido están sometidas a fuerzas iguales de atracción en todas direcciones, mientras que, las que están situadas en la superficie experimentan fuerzas atractivas no equilibradas con un empuje resultante hacia el interior. Tantas moléculas como sea posible abandonarán la superficie para pasar al interior del líquido, con lo cual la superficie tendrá que contraerse espontáneamente; el efecto resultante de las fuerzas de contracción es lo que da origen a la tensión superficial [22]. Esta depende de la naturaleza del líquido, del medio que le rodea y de la temperatura y es responsable de la resistencia que un líquido presenta a la penetración de su superficie, de la tendencia a la forma esférica de las gotas de un líquido, del ascenso de los líquidos en los tubos capilares y de la flotación de objetos u organismos en la superficie de los líquidos [23].

La tensión interfacial es la fuerza por unidad de longitud que se requiere para crear una nueva unidad de superficie; entendiéndose por unidad de superficie el área superficial que ocupa una molécula que se encuentra en la superficie de contacto entre dos líquidos inmiscibles. Esta indica un límite entre dos líquidos inmiscibles donde las propiedades cambian desde el seno de un líquido al seno del otro. Se define como el trabajo reversible e isotérmico necesario para aumentar la interfase en una unidad por área a composición constante [5].

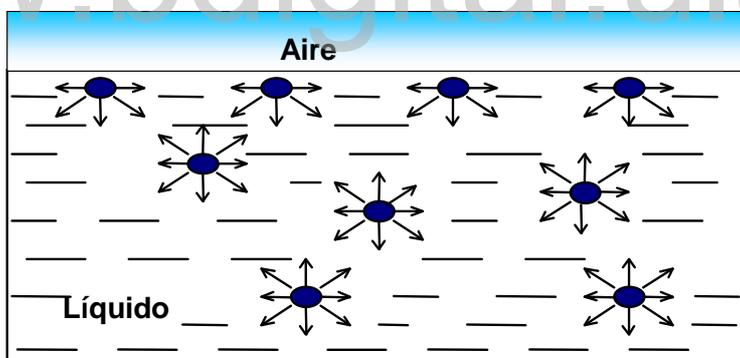


Figura 3.6. Fuerzas de Atracción entre Moléculas en en el interior de un líquido [21]

CAPÍTULO IV. APLICACIONES PRÁCTICAS DE LA PLATA COLOIDAL

La plata (Ag) es un elemento químico que, de manera natural, posee propiedades tan interesantes y con tanta aplicabilidad como su condición antiséptica. Este efecto antimicrobiano, le confiere a

la plata y a los compuestos plateados, es decir a los que en su estructura poseen este elemento químico como el cloruro de plata AgCl , un extenso campo de aplicación en varias ramas de la medicina. Solo por citar algunos: en oftalmología, el uso de gotas de plata coloidal es un tratamiento de gran aplicación contra las infecciones, el empleo de pomadas para urología-ginecología con bases de plata, el uso de astringentes a base de plata para los trastornos intestinales como consecuencia de la ingesta de alimentos y bebidas contaminados, tratamientos de quemaduras con nitrato de plata, entre otras aplicaciones. Adicional a estas aplicaciones, han surgido nuevos usos para la plata como: la elaboración de catéteres bactericidas, materiales quirúrgicos, pinturas y utensilios para hospitales. Así como en otros campos como lo son la industria de alimentos, veterinaria, potabilización del agua, electrónica, entre otras [24].

El desarrollo de bactericidas a base de plata es actualmente impulsado por dos factores importantes, por una parte, las bacterias han ido desarrollando una resistencia ante los antibióticos convencionales disponibles en el mercado, y por otra parte, la imposibilidad de la resistencia bacteriana ante la plata [25].

Los mecanismos de acción de los bactericidas a base de plata convergen en que la efectividad de este elemento químico sobre los sistemas bacteriales es ocasionada por la interacción específica de los iones plata con grupos sulfhidrilo (-SH) ubicados en la pared celular bacteriana. La actividad antimicrobiana va a depender de la acumulación intracelular de bajas concentraciones de iones plata, que interactúan con las enzimas, proteínas y ácidos nucleicos produciendo cambios estructurales en la pared celular bacteriana, membranas y ácidos nucleicos afectando su viabilidad [25].

Existen diferentes microorganismos sobre los que actualmente, se evalúa la plata como agente bactericida. La *Escherichia coli* (*E. coli*) es un ejemplo de ello. *E. coli* es un microorganismo perteneciente a la familia Enterobacteriaceae que representa el grupo más grande y heterogéneo de bacilos gramnegativos con importancia clínica. Estos microorganismos se encuentran de forma universal en el suelo, agua, vegetación y forman parte de la flora intestinal normal de muchos animales, entre los que están los humanos. Estas bacterias producen un gran número de enfermedades al ser humano como: Septicemias, infecciones del tracto urinario y muchas infecciones intestinales. En la actualidad se presenta el problema de la resistencia bacteriana como consecuencia del uso indiscriminado de antibióticos lo que hace complicado establecer una

terapia antibiótica eficaz. Por esta razón se hace necesario desarrollar agentes antimicrobianos capaces de atacar efectivamente a estos microorganismos y que tengan pocas posibilidades de desarrollar resistencia bacteriana [25]

Diferentes métodos de laboratorio son usados para determinar in vitro la susceptibilidad de bacterias ante agentes microbianos. En muchos laboratorios de microbiología clínica, el test de difusión en agar es usado en forma rutinaria para bacterias de rápido crecimiento y algunas bacterias fastidiosas patógenas como la *Escherichia coli*; el método estandarizado de difusión en disco (test de difusión en agar "Kirby Bauer") descrito por el Laboratorio Internacional de Referencia: National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) es uno de los más usados actualmente para la determinación de la susceptibilidad bacteriana [25].

www.bdigital.ula.ve

CAPÍTULO V. ANTECEDENTES Y PLAN DE TRABAJO

V.1 Antecedentes y justificación

Desde el punto de vista práctico, las características más importantes que poseen los sistemas coloidales son dos: i) sistemas contenedores de gran número de partículas y ii) sistemas de gran área interfacial. Estas características tan particulares inducen en estos sistemas una gran variedad de propiedades y fenómenos casi únicos que los distinguen de manera marcada de los demás sistemas. Así, las partículas conformantes, debido a su gran número, están presentes de manera cercana en casi todos los puntos del sistema; Aunado a esto, su gran área interfacial permite una gran tasa de transferencia de masa. Estas dos propiedades fundamentales le confieren a los sistemas coloidales un inmenso potencial para ser aplicados en muchas soluciones tecnológicas y científicas [5,2].

Actualmente, las investigaciones dirigidas a desarrollar nuevos métodos de obtención de partículas, la comprensión de los mecanismos de su crecimiento, así como también la forma y el tamaño de las mismas, han cobrado gran interés en la química de superficies. Existe una gran cantidad y variedad de estudios que interpretan las diferentes respuestas emitidas por los sistemas de partículas coloidales cuando son sometidos a factores como: i) Concentración de sales precursoras ii) pH iii) Presencia y naturaleza de surfactantes. Los diferentes y novedosos métodos de obtención de partículas como: a) sol-gel b) electrodeposición c) microemulsiones inversas; han permitido desarrollar aplicaciones que ya se encuentran disponibles en industrias como: alimenticia, farmacéutica, pinturas, entre otras [10].

Snigdhamayee y col [26] estudiaron el sistema Au (iii) iónico – metanol – agua, la respuesta monitoreada fue la forma de la partícula, siendo la misma determinada por microscopía de transmisión electrónica. Encontraron que si la polaridad del solvente (agua) permanece constante así como la concentración del reductor-estabilizador, la forma de las partículas dependía únicamente de la concentración del co-solvente (metanol). Snigdhamayee y col determinaron que para bajas concentraciones de metanol, las partículas adquirirían una forma triangular, mientras que a medida que se elevaba la concentración de metanol en el sistema las partículas tomaban una forma esférica. Así mismo, observaron que a medida que la concentración de metanol se elevaba las partículas de oro se hacían más pequeñas.

Mohammed Baalousha [27] realizó un estudio sobre la agregación y la desagregación de nanopartículas de óxido de hierro evaluando dos factores: i) concentración de óxido de hierro y ii) presencia ó no de materia orgánica. Baalousha encontró que la agregación se veía favorecida si la concentración de óxido de hierro se elevaba, así como también, que bajas concentraciones de materia orgánica no causaron efecto alguno en la agregación de las partículas. En cuanto a la desagregación, se estudió a pH= 7 con concentraciones variables de materia orgánica, resultando que una elevación de la concentración y por ende de la adsorción de moléculas de materia orgánica produce un aumento de las fuerzas de tipo estérico ocasionando la desagregación de las partículas, la desagregación cambió conforme aumentaba la concentración de materia orgánica y disminuyó como es de esperarse con el tiempo.

Anthony Ratkovich y col [28] realizaron sobre el sistema precursores de Zinc-Alcohol Isopropílico-Hidróxido de Zinc, un estudio de crecimiento de partículas de óxido de zinc. Encontró que tanto el tamaño como la tasa de crecimiento de las partículas eran respuestas muy afectadas por la presencia y el incremento en la concentración de hidróxido de Zinc (precursor) y la presencia de un compuesto surfactante. Esta investigación evaluó dos tipos de surfactante sobre el sistema: i) Adamantane ácido carboxílico y ii) monocarboxilatos (p.ej., el acetato y tribromoacetato). Las diferencias entre los efectos ocasionados al variar el tipo de surfactante van desde la inhibición de crecimiento de las partículas (Adamantane) hasta la formación en solución homogénea de las partículas de óxido de zinc. El resultado de esta investigación sugiere que la presencia y el tipo de surfactante es un factor controlante en la formación de las partículas pudiendo, de acuerdo a lo requerido y con una elección adecuada del tipo de surfactante inhibir o promover la formación de partículas de óxido de zinc en solución homogénea.

En lo referente a los métodos de obtención de partículas, Wanzhong y col [24] obtuvieron nanopartículas de plata empleando dos microemulsiones, una con nitrato de plata y la otra con hidrato de hidracina solubilizados en agua, dodecano como fase aceite y AOT como surfactante. Las microemulsiones son mezclas permitiendo la reacción que da origen a la formación de la plata iónica. Este sistema fue observado a través del microscopio electrónico de barrido TEM, que reporta la presencia de partículas esféricas (plata) en solución. La solución resultante posee aplicaciones bactericidas sin necesidad de separar la plata iónica de la solución.

En la naturaleza existen elementos que de manera natural gozan de propiedades tan especiales como la bactericidad, ejemplos de estos elementos son la plata y la alúmina. I. Mohammed Sadiq

y col [29] realizaron un estudio para determinar la sensibilidad antimicrobial que poseen las nanopartículas de alumina sobre la bacteria Escherichia Coli. A través de esta investigación lograron, en primer lugar, determinar una concentración moderada inhibitoria para la dispersión de alumina ante la bacteria, resultando la misma en 1000 mg/lit. En este trabajo se observó que, con excepción de las muy altamente concentradas, las nanopartículas de alumina tenían un efecto inhibitorio muy poco efectivo ó nulo sobre la bacteria Escherichia Coli.

V.2 Objetivos

- 1) Este proyecto de investigación se propone estudiar la forma y el tamaño de partículas de cloruro de plata sometidas a presencia de surfactantes, cambios de pH del medio de reacción y cambios de concentración de sales precursoras (NaCl) y (AgNO₃).
- 2) Evaluar la capacidad bactericida de sistemas de partículas coloidales de Cloruro de Plata en medios de cultivo de la bacteria E. COLI

V.3 Parte experimental

V.3.1 Materiales

Para el desarrollo de la investigación se utilizaron diversos materiales, equipos e instrumentos necesarios para llevar a cabo los experimentos realizados. Entre los instrumentos utilizados se tienen: micropipeta automática de 1-5 ml con apreciación de 20 µl, marca BioPette™, modelo BP 5000; micropipeta automática de 0,1-1 ml con apreciación de 1 µl, marca HTL labmate™, micropipeta automática de 20-200 µl con apreciación de 0,1 µl, marca HTL labmate™, micropipeta automática de 0,5-10 µl con apreciación de 0,01 µl, marca HTL labmate™, balones aforados de 100 y 250 ml, apreciación de 0,1 y 0,15 ml respectivamente, marca LMS Germany, discos de petri, marca LMS Germany, Filtros Milipore Microcon 10000 MWCO y 3000 MWCO, papel de filtro. Materiales de vidrio como laminas portaobjetos de microscopio, tubos de ensayo, frascos de comptas usados como contenedores, mezclador de vidrio; materiales de otro tipo como gradillas, marcadores, papel plástico envolvente, pisetas.

Los equipos utilizados fueron:

- Microscopio electrónico de barrido. Scanning Electron Microscope. Modelo S-2500. Hitachi

- Microscopio de Fuerza atómica
- Microscopio óptico.
- Coulter sizer Beckman Coulter™. Lab. FIRP Universidad de los Andes.
- Turbidímetro DR/890 Colorimeter
- Balanza analítica con una apreciación de 100 µg, Modelo Adventurer ohaus
- Estufa Mennert modelo U-2072247
- Centrifuga M-5804. Merck Chemicals
- Mechero tipo Bunsen
- Videocámara digital SONY Handycam modelo DCR-DVD 108/DVD308
- Cámara fotográfica HP modelo Photosmart R847

Las sustancias y reactivos utilizados fueron:

- Cloruro de Sodio. Grado analítico marca Riedel-Deltaeh
- Nitrato de plata. Grado reactivo marca Riedel-Deltaeh
- Ácido acético. Grado analítico marca Riedel-Deltaeh
- Acetato de sodio. Grado analítico marca Riedel-Deltaeh
- AOT. Bis(2-etilhexil)-sulfosuccinato de sodio Pureza: 95%. Fisher Scientific.
- SDS. dodecil sulfato de sodio. Pureza: 95%. Scharlau Chemie SA.
- Sulfato de amonio. (Grado analítico) marca Riedel-Deltaeh
- Amoniaco. (grado analítico). Pureza: 35%. marca Riedel-Deltaeh
- TTAB. Bromuro de Tetradecil Trimetil Amonio. Pureza: 99%. Sigma Aldrich
- DTAB. Bromuro de Dodecil Trimetil Amonio. Pureza: 99%. Sigma Aldrich
- Kerosene Filtrado obtenido en el laboratorio FIRP de la Universidad de los Andes
- Agua pura y destilada obtenida en el laboratorio FIRP de la Universidad de Los Andes
- Cultivo de bacterias Escherichia coli. Obtenido de una muestra clínica

- Agar Müller Hinton
- Antibiotico: Ciprofloxacina (CIP). Sigma Aldrich
- Antibiótico: Amoxicilina ácido clavulanico (AMC). Sigma Aldrich
- Antibiotico: Trimetropin sulfa metoxazol (STX). Sigma Aldrich

V.3.2 Metodología experimental

V.3.2.1 Sistema SDS

Se diseñó un experimento que permitiera establecer en primer lugar cual de los factores involucrados posee influencia sobre las respuestas monitoreadas, una vez identificado esto, se procede a determinar cuál es el orden de importancia en el que estos actúan, en la Tabla número 5.1, se resumen los factores y las respuestas monitoreadas en el sistema SDS.

Tabla 5.1. Factores estudiados y respuestas monitoreadas para el sistema SDS

FACTORES	RESPUESTAS
Concentración de AgNO ₃	Forma de las partículas Tamaño de las partículas
Concentración de SDS	
Concentración de NaCl	
pH del medio	

Para la realización de este experimento se preparan soluciones de AgNO₃ y de NaCl al 3 y 20% en peso respectivamente, adicionalmente se prepara una solución acuosa de SDS de concentración 500 mM y un sistema buffer (ácido acético-acetato de sodio) que proporciona dos pH ácidos: 4,74 y 3,78 respectivamente.

Para la determinación del tamaño y forma de las partículas dispersas en los sistemas obtenidos se utiliza el coulter sizer y el microscopio óptico.

El hecho de que existan diferentes factores que afecten la forma y el tamaño de las partículas y lo complejo que puede resultar analizar los resultados de los mismos, condujo a hacer uso de de una técnica conocida como “Diseño de experimentos” [30]. El utilizar esta técnica permite ejecutar un experimento que muestre el efecto de cada factor sobre las diferentes respuestas monitoreadas, las relaciones existentes entre cada factor, y las interacciones que puedan existir entre los

diferentes factores involucrados.

A continuación se muestra la forma en que se diseñaron los diferentes experimentos que se ejecutaron en este proyecto.

Una vez definidos los factores a analizar, debemos determinar la cantidad de niveles en que se van a evaluar dichos factores, es decir el intervalo de valores de evaluación de los factores; estos valores pueden ser cualitativos o cuantitativos. El número de tratamientos se calcula como la cantidad de niveles elevado al número de factores, es decir, para el caso que se tiene 4 factores y 2 niveles, nos daría $2^4 = 16$ tratamientos. Los factores son representados por las letras capitales A – Z, mientras que los niveles se representan por símbolos operacionales (-), (+), al menor de los valores se le asigna el signo (-), al mayor el signo (+). Entendido esto, procedemos a montar un diseño experimental factorial 2^4 . Para el sistema SDS se tiene que:

Los factores y los respectivos niveles son:

- A. Concentración de AgNO_3 [0,06 y 0,6 mM]
- B. pH del sistema [4,74 y 3,78]
- C. Concentración de SDS [100 y 10 mM]
- D. Concentración de NaCl [2% y 0,2]

Tabla 5.2 Representación de un diseño experimental 2^4

Tratamientos	A	B	C	D
1	-	+	-	-
2	+	+	-	-
3	-	+	+	-
4	+	+	+	-
5	-	-	-	-
6	+	-	-	-
7	-	-	+	-
8	+	-	+	-
9	-	+	-	+
10	+	+	-	+
11	-	+	+	+
12	+	+	+	+
13	-	-	-	+
14	+	-	-	+
15	-	-	+	+
16	+	-	+	+

El algoritmo de Yate [30], es un método para estimar, de una manera sencilla, el efecto que tienen

los distintos factores y las interacciones entre estos sobre la(s) respuesta(s) del sistema. El mismo consiste en una serie de operaciones aritméticas sencillas ejecutadas de manera práctica con una hoja de cálculo como el Excel.

V.3.2.2 Sistema aniónico/catiónico

Para la realización de este experimento se dispone de soluciones de AgNO_3 y de NaCl al 3 y 20% en peso respectivamente, adicionalmente se prepara una solución acuosa de SDS de concentración 500 mM y de TTAB 100 mM. Para modificar el pH del sistema se introducen soluciones de amoniacó concentrado (pH 12) y de ácido acético (pH 4).

Para la determinación del tamaño y forma de las partículas dispersas en los sistemas obtenidos se utiliza el coulter sizer, el microscopio óptico y el microscopio electrónico. Para evaluar la turbidez del sistema se emplea el turbidímetro.

Los surfactantes empleados en este sistema actúan de manera conjunta, la solución "S" se prepara combinando los surfactantes TTAB (catiónico) y SDS (aniónico) conservando la relación:

$$S = \frac{20 \text{ mmoles de aniónico}}{1 \text{ mmol de cationico}}$$

En la tabla 5.3 se resumen los factores involucrados y las respuestas monitoreadas en la realización de esta experimentación.

Tabla 5.3. Factores estudiados y respuestas monitoreadas para el sistema aniónico-catiónico

FACTORES	RESPUESTAS
Concentración de TTAB	Forma de las partículas
Concentración de SDS	Tamaño de las partículas
Concentración de NaCl	
pH del medio	

Los factores y niveles involucrados en el diseño experimental 2^3 del sistema aniónico-catiónico son:

A. Concentración de aniónico-catiónico:

(-). Concentración SDS= 0,04 mM; (-). Concentración TTAB= 2×10^{-3} mM

(+). Concentración SDS= 0,2 mM; (+). Concentración TTAB=0,01 mM

B. pH del sistema [4 y 12]

C. Concentración de NaCl [2% y 0,2]

Tabla 5.4 representación de un diseño experimental 2³

Tratamientos	A	B	C	D
1	-	+	-	0,06 mM
2	+	+	-	0,06 mM
3	-	-	-	0,06 mM
4	+	-	-	0,06 mM
5	-	+	+	0,06 mM
6	+	+	+	0,06 mM
7	-	-	+	0,06 mM
8	+	-	+	0,06 mM

V.3.2.3 Sistemas microemulsionados

Se preparan tres microemulsiones mezclando AOT (80%) al 20% con Kerosene comercial en tubos de ensayo contentivos de NaCl al 1%, AgNO₃ al 1% y agua. Los sistemas resultantes denominados T1, T2 y T3 son los posteriormente empleados para la obtención partículas de cloruro de plata.

Esto último se realiza realizando combinaciones como se muestra a continuación:

Tabla 5.5 Combinaciones de microemulsiones T

Sistema	T1	T2	T3
M1	100 µl	100 µl	200 µl
M2	200 µl	100 µl	100 µl
M3	100 µl	200 µl	100 µl
M4	200 µl	200 µl	0

Los sistemas resultantes (M) son sometidos a un proceso de filtrado y de caracterización. El filtrado se realiza utilizando filtros Milipore Microcon de 3000 MWCO, para esto, se dispone la muestra en el filtro y se somete a centrifugación, el proceso se repite continuamente de manera en que las partículas queden retenidas en el filtro y permita que la solución sobrenadante drene separando de esta manera a las partículas del sistema disperso donde se encuentra suspendida.

El proceso de caracterización se realiza haciendo uso del microscopio electrónico y del

microscopio de fuerza atómica. Adicionalmente se mide la turbidez de los sistemas obtenidos.

V.3.2.4. Aplicación práctica sobre el método microbiológico de KIRBY BAUER

Se estudia el efecto bactericida de las soluciones resultantes de cloruro de plata que son obtenidas a través del método de microemulsiones inversas. En este experimento se busca demostrar el efecto bactericida que poseen los compuestos que contienen plata. De manera aleatoria, se selecciona la muestra M2 de la tabla 5.5 (*microemulsión contentiva de cloruro de plata*) y se somete al método de determinación de sensibilidad antimicrobiana por difusión disco Kirby Bauer. (Figura 5.1).

Como patrón de comparación se utilizan tres discos antibiótico: i) Ciprofloxacina (CIP) ii) Amoxicilina ácido clavulanico (AMC) y iii) Trimetropin sulfa metoxazol (STX). Que serán comparadas con muestras experimentales de: i) AOT 1 ii) AOT 2 y iii) AgCl al 1%. La muestra AOT 1 proviene del sistema M2 (Ver tabla 5.5) y la muestra AOT 2 se preparó diluyendo diez veces la muestra AOT 1.

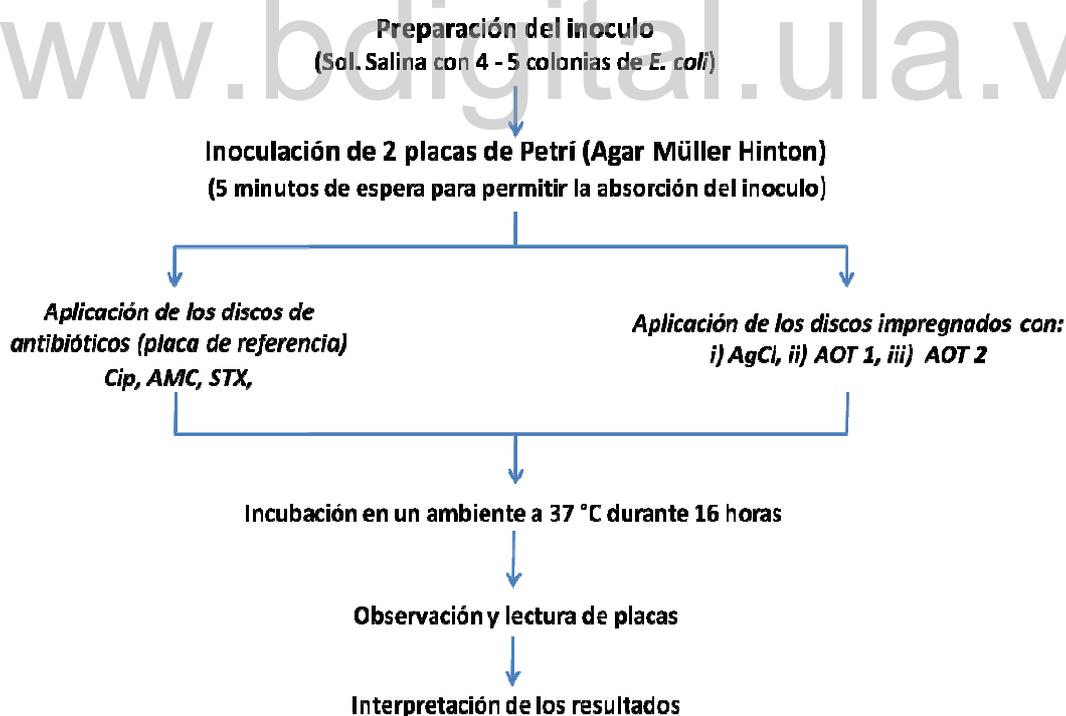


Figura 5.1 protocolo experimental del análisis Kirby Bauer

V.3.2.5 Utilización del turbidímetro

El turbidímetro es el instrumento empleado para realizar las medidas de turbidez de los sistemas dispersos resultantes en cada una de las experiencias realizadas. El protocolo del uso de este equipo es como se muestra:

- Se limpia la celda del equipo y se dispone en ella la muestra utilizada como blanco (agua destilada)
- Con el blanco se ajusta el equipo a turbidez cero
- Se limpia la celda del equipo y se dispone en ella la muestra problema a analizar
- Se procede a realizar la lectura de turbidez de la muestra desde un tiempo 0 seg hasta 20 minutos en intervalos de 5 minutos

V.3.2.6 Preparación de las muestras para análisis microscópico

Microscopio óptico y microscopio de fuerza atómica

Se utilizan laminas portaobjetos de microscopio sobre las que se colocan dos muestras tal como se observa en la Figura 5.2



Figura 5.2. Muestras problemas analizadas con el microscopio óptico y de fuerza atómica

- Para la gota "concentrada" se colocan 10 μ l de la muestra problema a analizar
- Para la gota "diluida" se colocan 0,5 ml de la muestra problema a analizar, en un tubo de ensayo con 9,5 ml de agua destilada. El tubo es agitado y se retiran 10 μ l de este sistema que son colocados en el portaobjetos
- Se permite el secado en la estufa con temperatura de 30 a 35 grados centígrados
- Se realiza el análisis respectivo

Microscopio de transmisión electrónica

Antes de ser analizadas las muestras reciben el siguiente tratamiento:

- Se coloca 10 μl de la muestra problema en los discos porta-muestras del microscopio electrónico y se somete a un proceso de secado a temperatura ambiente por 24 horas
- Las muestras secas se ionizan recubriéndolas de un material áurico
- Se realiza el análisis respectivo

V.3.2.7 Fundamento del microscopio electrónico de barrido

La microscopía de barrido electrónico (MBE) es una de las técnicas analíticas de superficie mejor conocidas y la más ampliamente usada. MBE, es considerada un método económico, relativamente rápido y básicamente no destructivo que permite analizar superficies. Para ello, MBE genera imágenes de alta resolución tridimensionales con una excelente profundidad de campo, producido por el barrido electrónico que se hace incidir a la muestra [31].

Los electrones generados por el equipo (Primarios) son emitidos hacia la superficie en estudio con una energía de 0,5 a 30 KeV, para producir electrones de baja energía (Secundarios) cuya intensidad solo depende de la topografía de la muestra. Por tanto, una imagen puede construirse por medidas de la intensidad de dichos electrones en función de la posición donde se hizo incidir el haz de electrones primarios.

La alta resolución espacial es posible gracias a que el haz de electrones puede ser incidido a lugares muy pequeños (<10nm) mientras que la alta sensibilidad se logra, usando un haz de electrones con energías menores a 1 KeV.

Las interacciones de los átomos de la muestra con el haz incidente resulta en una ionización interna lo cual genera los rayos X. El análisis de la longitud de onda o energía de estos rayos proporciona una identificación cualitativa elemental (Cada elemento irradia una longitud de onda específica) y las intensidades relativas de estos rayos se usan para análisis cuantitativo [32].

V.3.2.8 Fundamento del microscopio de fuerza atómica

La Microscopía de Fuerza Atómica (AFM) es una técnica que permite visualizar los materiales y muchas de sus propiedades con una extraordinaria resolución espacial. Su funcionamiento se basa en la detección de las minúsculas fuerzas atómicas o moleculares de interacción entre una punta metálica especial (cantilever) y la superficie del material a estudiar. El AFM opera llevando la punta

del cantilever en contacto con la superficie de la cual va a hacer la imagen. Una fuerza iónica repulsiva aplicada desde la superficie a la punta dobla el cantilever hacia arriba. La cantidad de doblamiento, medida por un punto láser se refleja en un foto detector, y se puede usar para calcular la fuerza. Al mantener la fuerza constante mientras rastrea la punta sobre la superficie, el movimiento vertical de la punta sigue el perfil de la superficie y se graba como la topografía de la superficie por el AFM. Explicado de forma sencilla, se trata de una aguja minúscula (apenas 5 nanómetros) que va recorriendo a cierta distancia la superficie de un material y midiendo la fuerza de sus átomos [33].

La ventaja que presenta la AFM es que permite elaborar con facilidad mapas topográficos en tres dimensiones, con resolución nanométrica en el plano de la muestra y resolución atómica en la dirección perpendicular a la misma [33].

www.bdigital.ula.ve

CAPÍTULO VI. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Durante este proyecto de investigación se trabajó con diferentes diseños experimentales factoriales con el objetivo de evaluar el efecto de diferentes factores (concentración de AgNO_3 , SDS, NaCl y de un sistema mixto SDS-TTAB a una relación molar 20:1 y el pH de la solución) sobre las respuestas forma, “grado de floculación” y el tamaño, de cristales de cloruro de plata, AgCl, formados in situ. Este estudio básicamente se hizo por medio de dos diseños factoriales uno 2^4 y uno 2^3 , los cuales se describen en detalle en la sección de métodos. Los resultados de este sistema se obtuvieron por medio de una cámara fotográfica adaptada a un microscopio óptico, de un medidor de tamaños de partículas Coulter Sizer LS320. Finalmente, se hizo un ensayo sobre el poder bactericida de un sistema de partículas de cloruro de plata.

Las Figuras VI.1. es una serie fotográfica de los cristales de AgCl generados al poner en contacto soluciones de AgNO_3 y NaCl de acuerdo al diseño experimental descrito brevemente en la Tabla VI.1. y en detalle en la sección de métodos experimentales Tabla V.2. La muestras son fotografiadas luego de una gota del sistema se dejó secar por varias horas en una estufa. En las fotografías se observa que tanto el tamaño, como la forma, y el nivel de agregación” varía en mayor o menor grado de fotografía a fotografía, esto es de sistema a sistema o de tratamiento a tratamiento. Por ejemplo, para analizar el efecto de los diferentes factores en estudio y el de las interacciones de los mismos sobre la forma de los cristales se debe contrastar la forma de los cristales en las fotografías en las que el nivel del factor es positivo con aquellas en las que es negativo. Viendo esto en detalle resulta muy complejo, en especial si se tiene en cuenta que para dicho experimento se tienen cuatro efectos principales, seis efectos de las interacciones entre dos factores, cuatro de la interacción entre tres factores y uno de la interacción entre cuatro factores, para un total de 15. Esto hace muy difícil analizar dichas fotografías para evaluar el efecto de los distintos factores y el de sus interacciones. Así, tomando en cuenta dicha dificultad, se propone dar un valor numérico alto a la fotografía que presente la cualidad (respuesta en cuestión) de manera evidente, exaltada, por ejemplo 10, un valor medio, tal como 5, a aquellas fotos que presenten la respuesta en un grado medio, y un valor bajo, dígase 1, a aquellas fotografías que no presenten la respuesta o que ésta sea muy baja. Así, al evaluar la forma, se le asignará el valor de 10 a las fotos con una clara evidencia de que las formas alargadas predominan, mientras que se le

dará el valor 5 a aquellas fotografías en las que se presenten cristales con forma alargadas pero que no sean abundantes o predominantes y se les dará el valor de 1 a aquellas fotos que presenten ningún o casi ningún cristal alargado. Aplicando este criterio al diseño experimental factorial 2^4 cuyos resultados se presentan en la Figura VI.1 resulta la Tabla VI.1. En esta tabla se muestra el diseño experimental resumido, la matriz de contraste, a través de la cual se pueden estimar los diferentes efectos de manera directa pero también más tediosa, los resultados relativos (producto del criterio algo arbitrario descrito arriba), el algoritmo de Yate, por medio del cual se estiman, en este caso, los efectos de los distintos factores y el de sus interacciones de manera muy sencilla y rápida. Así, de la Tabla VI.1 se puede ver que los factores que más influyen en la formación de cristales alargados son las concentraciones de AgNO_3 y de NaCl , así como el de la interacción entre estos. Sin embargo, los efectos principales tienen un efecto en dirección opuesta al de interacción. Esto es, mientras disminuir la concentración tanto del AgNO_3 como la del NaCl favorecen la formación de cristales alargados y vice versa, disminuir el nivel de los dos factores a la vez podría no tener un efecto magnificado debido al efecto de la interacción entre dichos factores. Esto se debe, entre otras cosas, a que el tamaño de los cristales también decrece al disminuir la concentración, lo cual puede modificar la percepción de la forma, que a su vez puede hacer ver menos evidente la idea de alargamiento del cristal. Más aún, si el cristal es pequeño pequeñas variaciones en las diferentes orientaciones puede modificar la forma del cristal de alargado a no alargado y estadísticamente hablando hay más probabilidad de crecer por los lados que le dan una apariencia menos alargada en tanto que el área para crecer es mayor.

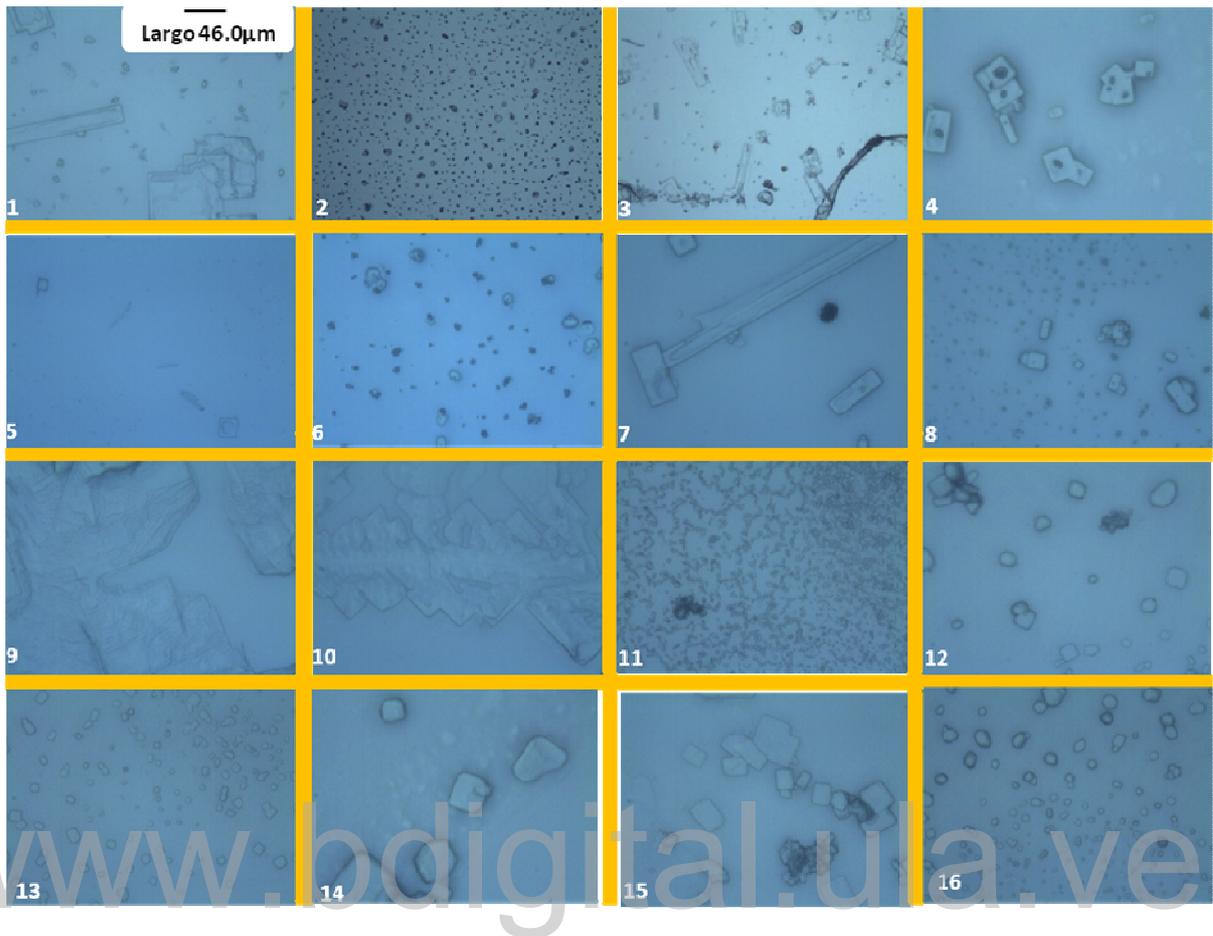


Figura VI.1.: fotografías tomadas, por medio del microscopio óptico con lente 40X, de los cristales formados en una gota a “concentración media”, luego de secado en la estufa por varias horas, del sistema resultante de poner en contacto soluciones de AgNO_3 y NaCl a las condiciones establecidas en cada uno de los 16 tratamientos del diseño experimental factorial 2^4 .

Tabla VI.1.: Resumen del diseño experimental factorial 2^4 junto con el resultado de aplicar el criterio para hacer cuantitativa a la respuesta forma y su correspondiente estimación de los efectos por medio del

algoritmo de Yate.

No Corrida	Diseño				Contrastes												Observación	Algoritmo de Yates				Efectos				
	A: [AgNO ₃]	B: [SDS]	C: pH	D: [NaCl]	A	B	C	D	AB	AC	AD	BC	BD	CD	ABC	ABD		ACD	BCD	ABCD	1	2	3	4	Estimados	
1	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	10,0	11	26	52	72	$\bar{Y} =$	4,50
2	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	1,0	15	26	20	-32	$\xi_A =$	-4,0
3	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	-	+	-	10,0	11	8	-28	4	$\xi_B =$	0,5
4	+	+	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	5,0	15	12	-4	4	$\xi_{AB} =$	0,5
5	-	-	+	-	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	+	-	10,0	6,0	-14,0	8,0	4,0	$\xi_C =$	0,5
6	+	-	+	-	+	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	+	-	1,0	2,0	-14,0	-4,0	-12,0	$\xi_{AC} =$	-1,5
7	-	+	+	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	10,0	6,0	4,0	8,0	4,0	$\xi_{BC} =$	0,5
8	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	-	-	+	-	-	-	-	5,0	6,0	-8,0	-4,0	4,0	$\xi_{ABC} =$	0,5
9	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	+	-	1,0	-9,0	4,0	0,0	-32,0	$\xi_D =$	-4,0
10	+	-	-	+	+	-	-	+	-	-	+	+	-	-	+	-	+	+	+	5,0	-5,0	4,0	4,0	24,0	$\xi_{AD} =$	3,0
11	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	-	+	+	-	+	-	1,0	-9,0	-4,0	0,0	-12,0	$\xi_{BD} =$	-1,5
12	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	+	-	-	+	-	-	-	-	1,0	-5,0	0,0	-12,0	-12,0	$\xi_{ABD} =$	-1,5
13	-	-	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	5,0	4,0	4,0	0,0	4,0	$\xi_{BD} =$	0,5
14	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	-	+	-	-	+	-	-	1,0	0,0	4,0	4,0	-12,0	$\xi_{ACD} =$	-1,5
15	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	-	5,0	-4,0	-4,0	0,0	4,0	$\xi_{BCD} =$	0,5
16	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1,0	-4,0	0,0	4,0	4,0	$\xi_{ABCD} =$	0,5

De igual manera resulta el análisis del efecto de los diferentes factores sobre el grado de floculación de los cristales de AgCl; lo cual quiere decir que llevar a cabo dicho análisis a través de las fotografía resulta una tarea extremadamente difícil. Sin embargo, aplicando una variante al diseño factorial 2⁴, esto es repitiendo la variante empleada para estudiar la forma de los cristales se simplifica el problema enormemente. Los resultados de este estudio se encuentran descritos brevemente en la Tabla VI.2. En ella se presentan el diseño experimental, la matriz de los contrastes, y el algoritmo de Yate y los efectos de los diferentes factores y el de las interacciones entre estos. Así, de dicha tabla se puede apreciar que los factores que más afectan al grado de floculación es la concentración de NaCl. Esto es bastante razonable a las condiciones de operación en la que la concentración más alta de electrolito es la del NaCl. Al aumentar la concentración de

este electrolito la doble capa eléctrica [5], lo cual hace que las partículas puedan flocular más fácilmente. Es importante destacar que aunque la concentración de AgNO_3 no afecta al grado de floculación, al menos bajo las condiciones de estudio, tiene un efecto de interacción con el NaCl , 2.3, que parece tener una importancia media. Esto también es razonable puesto que ellos no sólo pueden afectar a la doble capa eléctrica sino que también contienen los iones que forma a los cristales de AgCl , lo cual puede estar relacionado con, al menos, dos conjuntos de fenómenos: primero, con aquellos promovido por movimientos de fluidos en la vecindad del cristal producto de la “desaparición de estos iones en la vecindad de los cristales como consecuencia del proceso de cristalización mismo. Así se pudieran crear corrientes de fluido que harían que los cristales se acerquen y eventualmente floculen. Segundo, como consecuencia también del proceso de cristalización se podría modificar el gradiente de concentración de los iones en la vecindad de los cristales y con ello se modificaría el potencial de la doble capa eléctrica que, en este caso pareciera favorecer la floculación de los cristales ya formados.

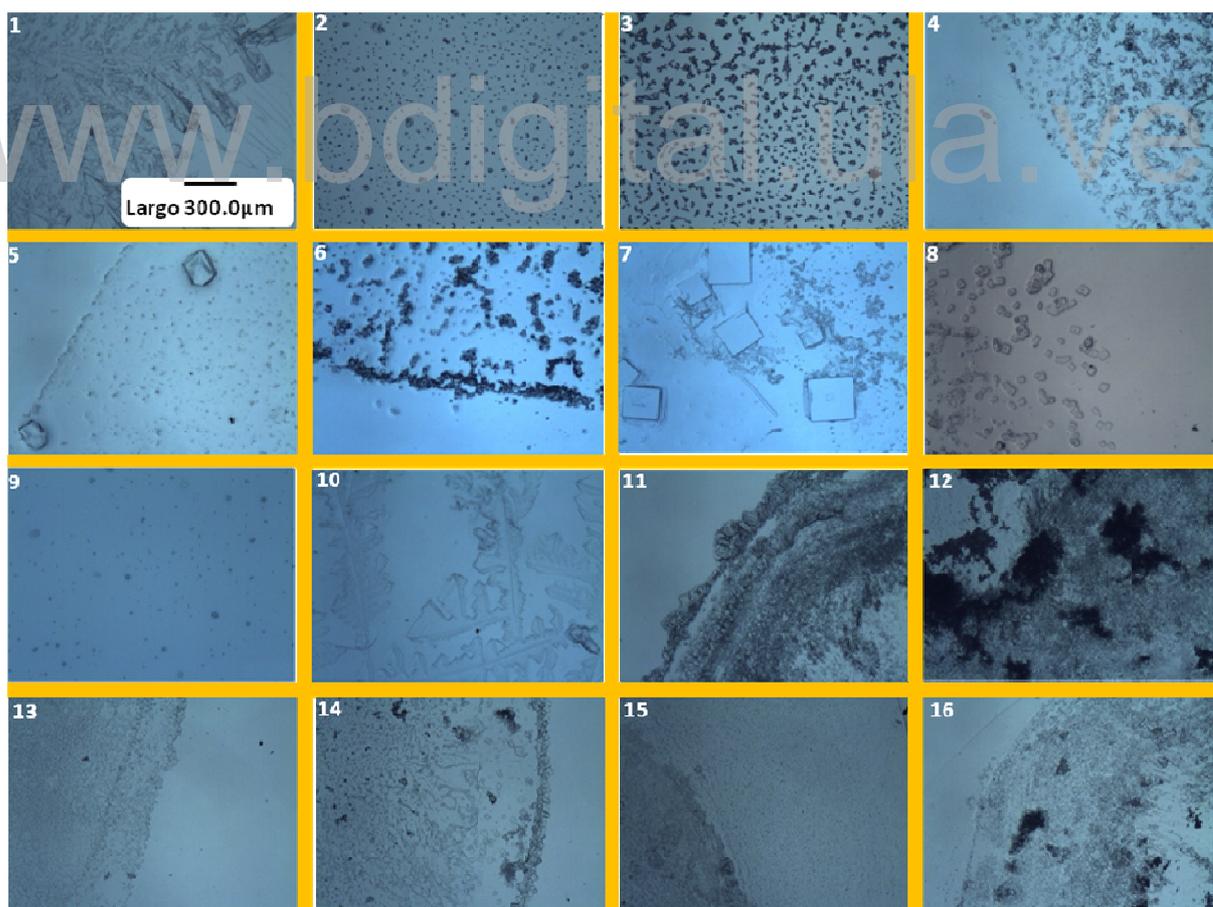


Figura VI.2.: fotografías tomadas, por medio del microscopio óptico con lente 4X, de los cristales formados en una gota "a concentración alta", luego de ponerla a secar en una estufa por varias horas, del sistema resultante de poner en contacto soluciones de AgNO₃ y NaCl a las condiciones establecidas en cada uno de los 16 tratamientos del diseño experimental factorial 2⁴.

Tabla VI.2.: Resumen del diseño experimental factorial 2⁴ junto con el resultado de aplicar el criterio para hacer cuantitativa a la respuesta grado de floculación y su correspondiente estimación de los efectos por medio del algoritmo de Yate.

www.bdigital.ula.ve

No Corrida	Diseño				Contrastes												Observación	Algoritmo de Yates				Efectos			
	A:[AgNO3]	B:[SDS]	C:pH	D:[NaCl]	A	B	C	D	AB	AC	AD	BC	BD	CD	ABC	ABD		ACD	BCD	ABCD	1	2	3	4	Estimados
1	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	10,0	11	21	33	104	$\bar{Y} =$ 6,50
2	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	1,0	10	12	71	0	$\ell_A =$ 0,0
3	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	-	+	-	5,0	6	31	-9	8	$\ell_B =$ 1,0
4	+	+	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	5,0	6	40	9	-8	$\ell_{AB} =$ -1,0
5	-	-	+	-	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	+	-	1,0	11,0	-9,0	-1,0	0,0	$\ell_C =$ 0,0
6	+	-	+	-	+	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	+	-	5,0	20,0	0,0	9,0	0,0	$\ell_{AC} =$ 0,0
7	-	+	+	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-	+	5,0	20,0	9,0	1,0	-8,0	$\ell_{BC} =$ -1,0
8	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	-	-	+	-	-	-	-	1,0	20,0	0,0	-9,0	-8,0	$\ell_{ABC} =$ -1,0
9	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	+	-	1,0	-9,0	-1,0	-9,0	38,0	$\ell_D =$ 4,8
10	+	-	-	+	+	-	-	+	-	-	+	+	-	-	+	-	-	+	+	10,0	0,0	0,0	9,0	18,0	$\ell_{AD} =$ 2,3
11	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	-	+	-	+	-	+	-	+	10,0	4,0	9,0	9,0	10,0	$\ell_{BD} =$ 1,3
12	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+	-	-	+	-	-	-	10,0	-4,0	0,0	-9,0	-10,0	$\ell_{ABD} =$ -1,3
13	-	-	+	+	-	-	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	10,0	9,0	9,0	1,0	18,0	$\ell_{CD} =$ 2,3
14	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	10,0	0,0	-8,0	-9,0	-18,0	$\ell_{ACD} =$ -2,3
15	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	10,0	0,0	-9,0	-17,0	-10,0	$\ell_{BCD} =$ -1,3
16	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	10,0	0,0	0,0	9,0	26,0	$\ell_{ABCD} =$ 3,3

Para estudiar el efecto que tienen cada uno de los mismos factores analizados anteriormente sobre la respuesta tamaño de partículas se va usar la información proveniente de un Coulter Sizer LS320, en lugar de aquella proveniente del microscopio. Esto se va a hacer así debido a que el Coulter toma en cuenta un número de cristales muchísimo mayor. Por otra parte, aunque se debe tener en cuenta que la información que reporta dicho equipo es bastante confiable se debe destacar que los resultados van a ser diferentes a los que se observan por el microscopio, puesto que las condiciones son diferentes. En la cámara del Coulter la dilución del sistema se puede considerar casi infinita y el mismo se somete esfuerzos cortantes producto del flujo de fluido por lo que es poco probable que los cristales puedan flocular y crecer por esa vía; además, estos vienen afectados por que las característica morfológicas de los cristales “se congelan” en el momento inicial de su formación una vez que estos se inyectan en la cámara del Coulter. Un resumen de los resultados de esta prueba se muestran en la Tabla VI.3., de la cual se

puede observar que tres de los factores (las concentraciones de AgNO_3 y SDS y el pH de la solución) son importantes, mientras que la concentración de NaCl, al menos a las condiciones de estudio, parecen no afectar de manera significativa al tamaño. Por otra parte, se observa que algunas interacciones entre dos factores también tienen un efecto notable, incluso mucho mayor que los factores mismos. Así por ejemplo, se puede apreciar que la interacción entre la concentración de SDS y la de NaCl tienen un efecto bastante importante; de hecho, es el más importante a pesar de que la concentración de NaCl por si misma no parezca ser importante. Otro hecho importante de resaltar es que pareciera que todos los efectos más destacados, más altos en valor que el resto de los demás, apunta a que todos son positivos excepto dos de ellos. En el caso de los efectos de interacción entre dos factores, el signo negativo significa que cuando dichos factores están ambos en los niveles altos o bajos, el tamaño de partículas disminuye. Por ejemplo, el efecto de la interacción entre los factores AB, AgNO_3 y NaCl, es de -17, esto significa que cuando la concentraciones tanto de AgNO_3 como la de NaCl están bien en el nivel bajo o en el alto se favorece la formación de cristales pequeños, mientras que si los niveles están cruzados se favorece la formación de cristales grandes. En este punto es importante resaltar que aunque los diseños experimentales factoriales son bastante útiles para determinar cuáles son los factores y las interacciones entre factores que puedan estar afectando a una respuesta dada, en este caso el tamaño de cristales de AgCl, no dicen como lo hacen. De cualquier manera, lo que se dice ya es bastante útil. Por ejemplo, elucubrando, se puede decir que el efecto BC, 57.5 que es el mayor de los efectos y posiblemente encuentre explicación en el hecho de que cuando los dos factores están en su nivel alto el SDS, un ion relativamente voluminoso con alta tendencia a adsorberse por lo que ocupa un gran volumen cercano a los cristales y por tanto crea una gradiente de concentración más alto entre la superficie de los cristales y el “seno del fluido”, los alrededores de los cristales, que se encuentra rico en iones Cl^- , puesto que está en su nivel alto. Esto hace que los iones Cl^- migren en mayor número al cristal haciendo que el mismo crezca. Por otra parte, los iones Ag^+ se ven atraídos a la superficie poblada de los iones negativos (SDS). En el caso contrario, cuando el nivel de tales factores son ambos bajos hay mucho menos SDS sobre la superficie de los cristales por lo que la barrera creada por éste se reduce de manera considerable de modo que en tales condiciones los iones Ag^+ y Cl^- pueden incorporarse a las celdas de los cristales fácilmente haciendo que estos crezcan. Claro que haría falta muchos experimentos para probar tal hipótesis mas aun lo propuesto es bastante razonable.

Tabla VI.3.: Resumen del diseño experimental factorial 2^4 junto con la respuesta tamaño (mediana) y su correspondiente estimación de los efectos por medio del algoritmo de Yate.

No Corrida	Diseño				Contrastes											mediana [nm]	Algoritmo de Yates				Efectos					
	A:[AgNO3]	B:[SDS]	C: pH	D:[NaCl]	A	B	C	D	AB	AC	AD	BC	BD	CD	ABC		ABD	ACD	BCD	ABCD	1	2	3	4	Estimados	
1	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	65,0	145	505	915	1910	$\bar{Y} =$	119,38
2	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	80,0	360	410	995	350	$\ell_A =$	43,8
3	-	+	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	-	180,0	250	315	125	240	$\ell_B =$	30,0
4	+	+	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	180,0	160	680	225	-140	$\ell_{AB} =$	-17,5
5	-	-	+	-	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	+	-	70,0	160,0	15,0	125,0	270,0	$\ell_C =$	33,8
6	+	-	+	-	+	-	+	-	-	+	-	+	-	-	+	-	+	-	-	180,0	155,0	110,0	115,0	310,0	$\ell_{AC} =$	38,8
7	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+	80,0	280,0	5,0	-125,0	-180,0	$\ell_{BC} =$	-22,5
8	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	80,0	400,0	220,0	-15,0	-120,0	$\ell_{ABC} =$	-15,0
9	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	+	+	+	-	-	80,0	15,0	215,0	-95,0	80,0	$\ell_D =$	10,0
10	+	-	+	+	+	-	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	80,0	0,0	-90,0	365,0	100,0	$\ell_{AD} =$	12,5
11	-	+	-	+	-	+	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	75,0	110,0	-5,0	95,0	-10,0	$\ell_{BD} =$	-1,3
12	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	-	80,0	0,0	120,0	215,0	110,0	$\ell_{ABD} =$	13,8
13	-	-	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	80,0	0,0	-15,0	-305,0	460,0	$\ell_{CD} =$	57,5
14	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	-	200,0	5,0	-110,0	125,0	120,0	$\ell_{ACD} =$	15,0
15	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	+	-	+	150,0	120,0	5,0	-95,0	430,0	$\ell_{BCD} =$	53,8
16	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	250,0	100,0	-20,0	-25,0	70,0	$\ell_{ABCD} =$	8,8

De igual manera que se hizo con el SDS, se hizo un diseño factorial más pequeño, 2^3 , pero esta vez en lugar de SDS se estudió el efecto de una mezcla de SDS-TTAB a una relación molar 20:1 a dos concentraciones diferentes. De este modo se convirtieron estos dos factores en uno solo. El diseño experimental se muestra en la Tabla V.4. Los resultados de este experimento factorial se muestran en las Figuras VI.3 y VI.4. En la Figura VI.3. se puede apreciar que la combinación SDS-TTAB modificó notablemente a la respuesta forma. Como se puede apreciar ya no se observan cristales alargados a pesar de que se está trabajando a las concentraciones de los electrolitos que más favorecía su formación; además, los cristales en general son mucho más pequeños. Estos dos resultados posiblemente se deban a que el SDS se adsorba de acuerdo a una isoterma tipo Langmuir [34]. Mientras que la combinación a parte de formar una barrera mucho más fuerte [35]

se pudiera estar adsorbiendo en bicapa dado que la presencia de un catiónico en una solución de aniónico promueve la formación de doble capas [36]; más aún la tensión superficial del sólido posiblemente también sea más baja. Todo esto hace que los cristales no crezcan mucho y lo último hace que los cristales busquen estructuras de menor superficie como por ejemplo una esfera, lo cual se puede apreciar en la mayoría de los cristales con formas redondeadas de cantos rodados. Esto es el factor SDS-TTAB induce una forma redondeada de los cristales en contraposición con las formas alargadas y rectangulares observadas cuando se tiene sólo al SDS como surfactante.

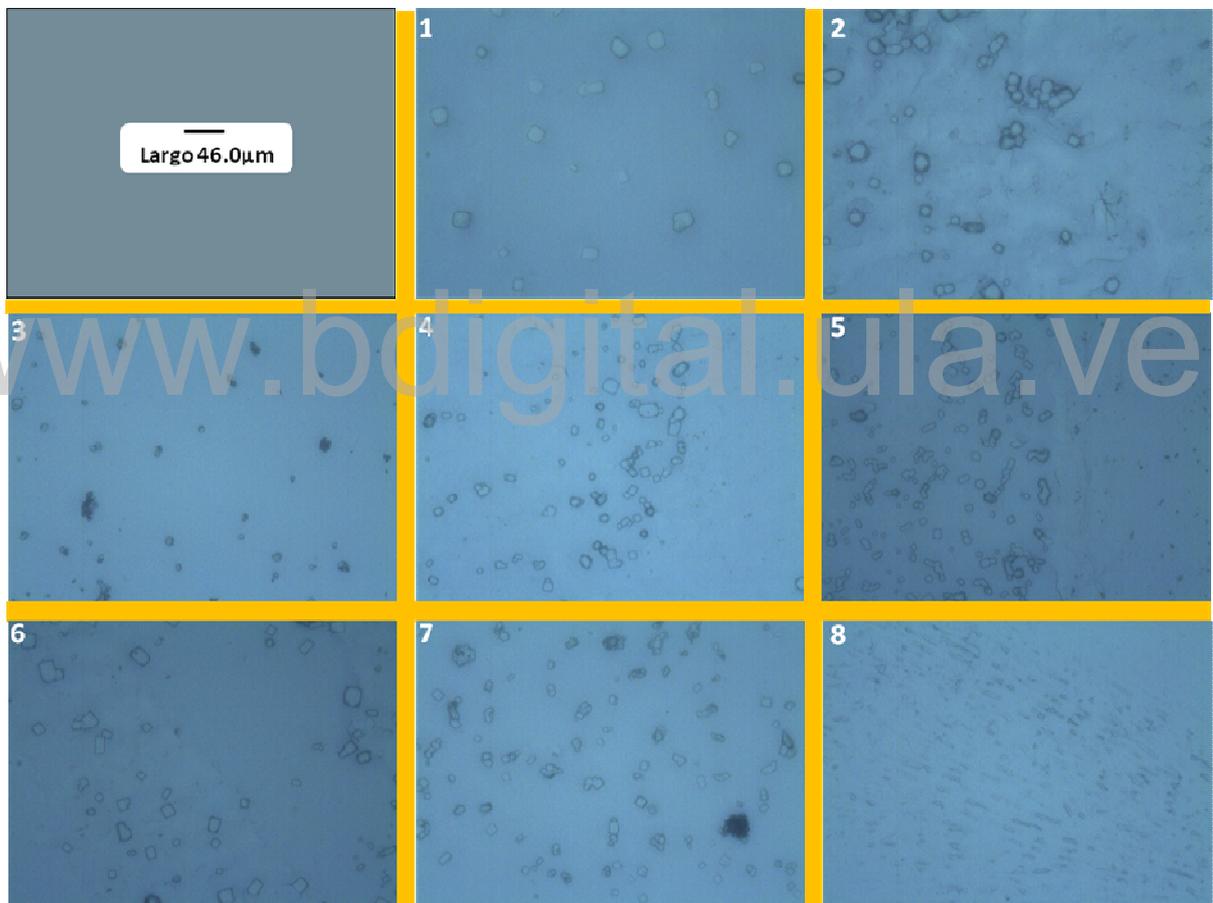


Figura VI.3.: Fotografías tomadas, por medio del microscopio óptico con lente 40X, de los cristales formados en una gota "a concentración alta", luego de ponerla a secar en una estufa por varias horas, del sistema resultante de poner en contacto soluciones de AgNO_3 y NaCl a las condiciones establecidas en cada uno de los 8 tratamientos del diseño experimental factorial 2^3 del sistema con SDS-TTAB.

La Figura VI.4. Muestra una fotografía tomada a través de un microscopio óptico de una gota de los diferentes sistemas del diseño experimental factorial descrito en la Tabla VI.4. En dicha figura se puede observar de manera cualitativa el grado de floculación de los diferentes sistemas. Poniendo atención a las diferentes fotografías se puede apreciar que no hay una diferencia marcada en el grado de floculación. De hecho, se ve la zona fotografiada como cubierta de grandes manchas oscuras uniformes formadas de cristales pequeños que se pueden apreciar por otra lente más potente, como se observa en la Figura VI.3., aunque la gota en ese caso está a mucha mayor dilución. En tal sentido se puede decir que la presencia de un catiónico como el TTAB en combinación apropiada con SDS tiene un efecto extraordinariamente marcado, no sólo sobre la forma y el tamaño de los cristales, sino también, sobre el grado de floculación de los mismos; esto es, promueve la floculación de los cristales, aunque atenúa el crecimiento de los mismos. Esto encuentra fundamento en la explicación que se dio anteriormente para describir el mecanismo mediante el cual la interacción SDS-TTAB actúa para atenuar el crecimiento de los cristales; es decir que la combinación de estos dos surfactantes se adsorben en doble capa sobre el cristal y, luego, las "cabezas" catiónicas adsorbidas, pero dirigidas hacia el seno de la solución acuosa, interactúan con las cabezas aniónicas de SDS adsorbidas sobre otras partículas haciendo de esta manera que floquen y se vean al microscopio bajo la lente 4x como un manto oscuro. El grado de floculación se ve alto en todas las fotos.

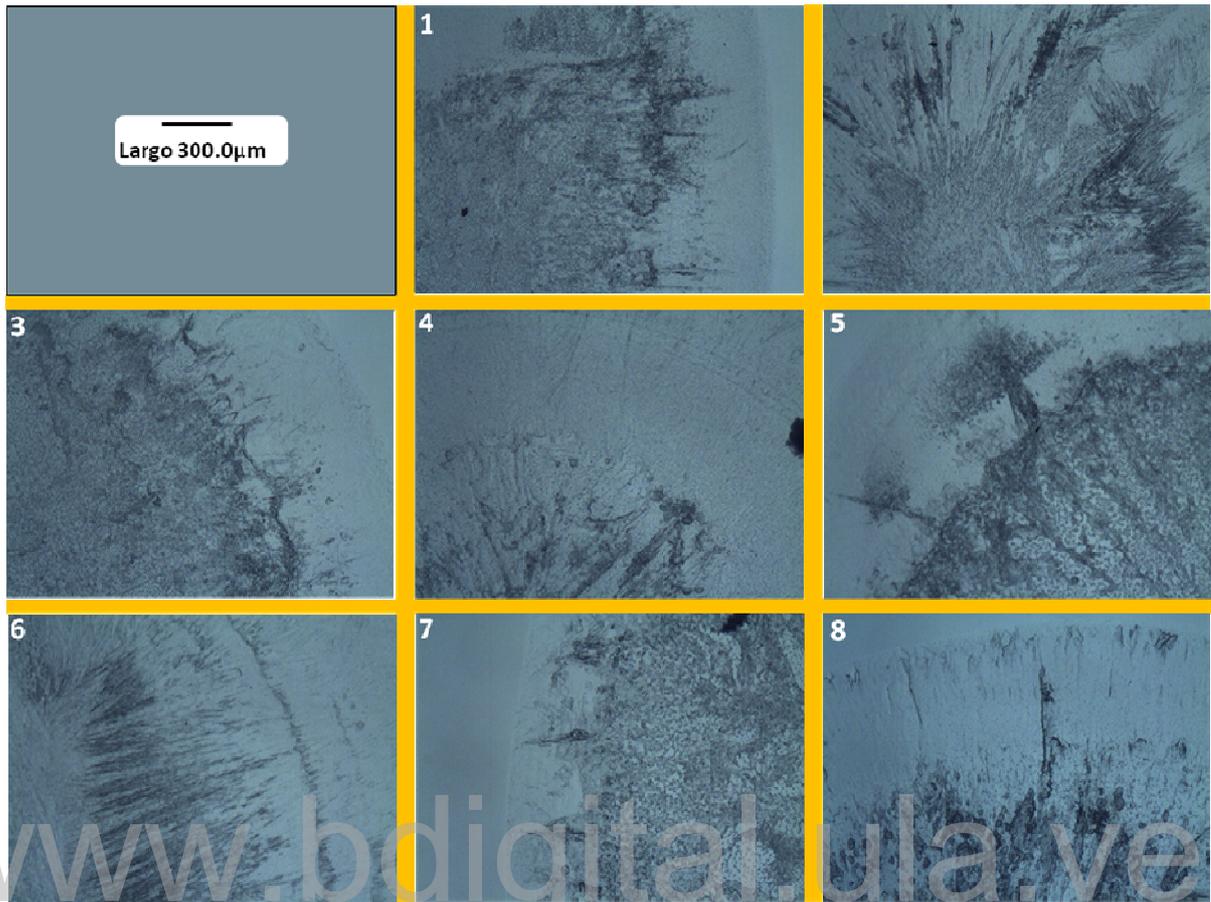


Figura VI.4.: fotografías tomadas, por medio del microscopio óptico con lente 4X, de los cristales formados en una gota “a concentración alta”, luego de ponerla a secar en una estufa por varias horas, del sistema resultante de poner en contacto soluciones de AgNO_3 y NaCl a las condiciones establecidas en cada uno de los 8 tratamientos del diseño experimental factorial 2^3 del sistema con SDS-TTAB.

Aunque se puede intuir con sólo mirar las fotos que el efecto de la presencia de un sistema surfactante como el SDS-TTAB sobre la forma, el grado de floculación e incluso el tamaño de los cristales se decidió estudiar esta última respuesta; esto es, analizar el efecto de los diferentes factores sobre el tamaño de los cristales a partir de información recabada sobre el tamaño de partículas a partir del Coulter LS320 y montadas sobre el diseño experimental factorial, el cual se muestra en la Tabla VI.5. En esta tabla se puede apreciar al igual que en las anteriores el valor de los efectos estimados de los distintos factores y el de las interacciones entre estos. Así, se puede apreciar que los efectos principales A y C son los más importantes y hacen que los cristales disminuyan de tamaño cuando se encuentran en su nivel “alto”, mientras que el efecto de la

interacción entre dichos factores tiene un efecto contrario. Esto podría encontrar una explicación en el hecho de que a “alta” concentración de NaCl se reduce las barreras entre las moléculas de SDS haciendo que en combinación con el TTAB se acerquen aun más y creen una barrera menos penetrables por otros iones lo cual termina por atenuar a los cristales. Se debe recordar que los surfactantes tienen, debido a su estructura molecular, una fuerte tendencia a adsorberse sobre superficies, en este caso la de los cristales recién formados.

Tabla VI.4.: Resumen del diseño experimental factorial 2^3 junto con la respuesta tamaño (mediana) y su correspondiente estimación de los efectos por medio del algoritmo de Yate.

No Corrida	Diseño			Contrastes				Mediana [nm]	Algoritmo de Yates			Efectos				
	A: [S]	B: pH	C: [NaCl]	A	B	C	D		AB	AC	BC	ABC	1	2	3	Estimados
1	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	700,0	780	1430	1840	$\bar{y} =$ 230,00
2	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	80,0	650	410	-960	$\xi_A =$ -240,0
3	-	+	-	-	+	-	-	-	+	-	+	450,0	160	-870	-40	$\xi_B =$ -10,0
4	+	+	-	+	+	-	-	+	-	-	-	200,0	250	-90	280	$\xi_{AB} =$ 70,0
5	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-	+	80,0	-620,0	-130,0	-1020,0	$\xi_C =$ -255,0
6	+	-	+	+	-	+	-	-	+	-	-	80,0	-250,0	90,0	780,0	$\xi_{AC} =$ 195,0
7	-	+	+	-	+	+	-	-	-	+	-	170,0	0,0	370,0	220,0	$\xi_{BC} =$ 55,0
8	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	80,0	-90,0	-90,0	-460,0	$\xi_{ABC} =$ -115,0

También se pretendió evaluar el efecto que tiene la longitud de la cola del surfactante sobre la forma de los cristales de AgCl. Para ello se pusieron en contacto una solución de AgNO₃ con una de NaCl. En un caso las soluciones tenían DTAB y en otro TTAB con el objeto de observar el efecto de la longitud de la cola sobre la forma de los cristales formado in situ. La Figura 5 muestra por medio de cuatro fotografías tomadas en el microscopio óptico el resultado de esta investigación. Las

fotografías 1 y 2 corresponden al DTAB y las 3 y 4 al TTAB. Por simple inspección, se puede ver que el DTAB promueve la formación de cristales cuadrados grandes y tipo agujas medianas, mientras que el TTAB promueve la formación de cristales pequeños y cuadrados grandes. Tiene sentido que un surfactante de cadena hidrocarbonada más larga de cristales pequeños pues tiende a adsorberse más sobre los cristallitos recién formados inhibiendo de manera determinante su crecimiento al nivel de agujas. Posiblemente lo que ocurra es que los primeros cristales, cuando hay mucho de los iones de Ag^+ y de Cl^- se forman los cristales grandes cuadrados, pero luego cuando baja la concentración de los mismos, entonces se pueden formar los cristales pequeños como se ha observado arriba. Así, bajo las condiciones de baja concentración de iones (una condición residual) es cuando hay una gran influencia de la cola; de modo que, colas grandes tienden a inducir la formación de cristales pequeño, mientras que colas más pequeños tienden a inducir la formación de cristales más grandes, en este caso en forma de agujas.



Figura VI.5.: fotografías tomadas, por medio del microscopio óptico con lente 4X, de los cristales formados en una gota "a concentración media", luego de ponerla a secar en una estufa por varias horas, del sistema resultante de poner en contacto soluciones de AgNO_3 y NaCl a) en presencia de DTAB y b) en presencia de TTAB.

Finalmente, se quiso evaluar el poder bactericida de las partículas formadas, en especial unas que aunque no se podían ver al microscopio por ser tan pequeñas si se observaba un tipo de reacción entre ellas y el medio tornándose color óxido de plata. Se tomaron dos muestras al azar de las que ya habían floculado y sedimentado. Una formada a partir de una microemulsión en AOT y otra formada simplemente por poner en contacto una solución de AgNO_3 y una de NaCl . En ambos casos se pusieron en contacto volúmenes iguales de soluciones de AgNO_3 con NaCl ambas al 1%. La diferencia aparente a parte del tamaño de partículas es que una lucía oxidada mientras que la otra lucía color blanco. Se recolectaron los sedimentos de los cristales formados de la manera descrita y se lavaron 10 veces con 5 ml de agua destilada. Luego, los cristales remanentes se redispersaron en agua destilada y se les hizo la prueba que se presenta a continuación, para lo cual se rotularon las muestras como AOT1 y AgCl. Siendo AOT1 la muestra que proviene de la microemulsión y la AgCl la obtenida por traer en contacto a los dos sistemas salinos. Cabe mencionar que a la muestra, de partículas obtenida vía microemulsión, luego de lavadas se le hizo una dilución 1 a 10 obteniéndose una segunda muestra que se denominó AOT2.

Los resultados del efecto bactericida de los sistemas dispersos obtenidos fueron analizados de acuerdo a lo que determina el protocolo de Kirby Bauer ver anexo 2. Se observó la clara formación de un halo inhibitorio del antibiótico ATB alrededor de la bacteria E.Coli, así como para el antibiótico STX, mientras que para el antibiótico AMC no se observó halo de inhibición alguno. En cuanto a las muestras de cloruro de plata estudiadas, AOT 1, AOT 2 y AgCl se tiene que para los discos ensayados con las muestras AgCl al 1% y AOT2 no existe respuesta alguna de parte del sistema, mientras que para la muestra de AOT 1 se observó un halo de inhibición pero casi imperceptible por lo tenue y lo pequeño del mismo en comparación con los observados en dos de los antibióticos comerciales.

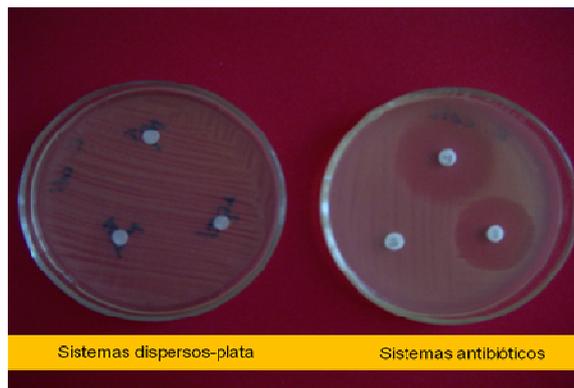


Figura 5.2. Discos de petri 16 horas después de la incubación

Teniendo en cuenta que la efectividad de los antibióticos ensayados está sujeta a varios factores, como lo son: la concentración mínima inhibitoria y el protocolo de la disposición del papel filtro impregnado sobre el agar, no es posible descartar el efecto bactericida de las dispersiones de AgCl, AOT1 y AOT2 ensayadas sobre la bacteria, sino que, la respuesta del sistema conduce a repetir la experimentación pero tomando en cuenta algunos factores como el tiempo de secado que debe llevar el papel filtro luego de la impregnación en la solución, y la concentración mínima inhibitoria que poseen los antibióticos más efectivos contra la E.Coli como el ATB.

CAPÍTULO VII. CONCLUSIONES

- Para el primer diseño experimental muestra que tanto la concentración de AgNO_3 como la de NaCl y su interacción son los efectos más importantes sobre la forma a las condiciones estudiadas. De modo que a los niveles bajos de estos factores se promueve la formación de cristales alargados y a alta concentración cristales rectangulares. Sin embargo respecto al grado de floculación parece que es la concentración de NaCl el factor más importante. El tamaño de los cristales parece que es más sensible a cambios en los distintos factores e incluso se ve fuertemente afectado por interacciones entre los factores. Así resultan como los más importantes sobre el tamaño de los cristales los factores concentraciones de AgNO_3 , A, y SDS, B, y pH, C, y de mucho menos importancia la concentración de NaCl , D. De igual manera, el tamaño de los cristales resulto altamente sensible a los efectos de interacción entre los factores CD, AC, AB y BC.
- En el caso del sistema SDS-TTAB se puede apreciar que este factor tiene un efecto marcado sobre las tres respuestas, a saber, forma, grado de floculación y tamaño de los cristales. Dicho factor promueve la formación de cristales redondeados, tal cual canto rodado. Respecto al tamaño en el momento temprano, información obtenida del Coulter Sizer LS320, revela que los factores importantes son la concentración del sistema SDS-TTAB y del NaCl y la interacción entre estos factores.
- Se puede observar un efecto notable de la longitud de la cola del surfactante sobre la forma de los cristales de AgCl , de modo que el DTAB produce cristales de forma rectangulares grandes y agujas” de tamaño “medio”, mientras que el TTAB induce la formación de cristales rectangulares grandes y partículas pequeñas.
- Aunque se observó una respuesta a la actividad bactericida por porte de la muestra AOT1, no es concluyente.

BIBLIOGRAFÍA

1. **Rosen, J. M.** Surfactants and Interfacial Phenomena. New Jersey : Jhon Wiley and Sons, 2004.
2. **S, Martínez.** *La nanotecnología. ¿Una Nueva Era? .1era Escuela Venezolana de Nanociencia y Nanotecnología. Facultad de ciencias. . ULA Mérida- Venezuela (2005).* : s.n.
3. **Paul C. Hiemenz, Raj Rajagopalan.** *Principles of Colloid and Surface Chemistry.* third edition. New York, USA : Marcel Dekker, 1997.
4. **Schukin, ED pertson.** *Química Coloidal.* Moscu : Mlr, 1979.
5. **Shaw, D. J.** *Introduction to Colloid and Surface Chemistry.* Londres : Butterworth-Heinemann, 1992.
6. **I. Aranberri, B.P. Binks, J.H. Clint, P.D.I. Fletcher.** *ELABORACION Y CARACTERIZACIÓN DE EMULSIONES ESTABILIZADAS POR POLIMEROS Y AGENTES TENSIOACTIVOS.* Reino Unido : s.n., 2006, : Revista Iberoamericana de Polímeros, Vol. 7.
7. <http://www.doublelayerpot.com>. 05-10-2008 [En línea]
8. **SALAGER, Jean-Louis.** *Doble capa eléctrica Cuaderno FIRP S610.* . Mérida : Universidad de los Andes, 1998.
9. **SALAGER, Jean-Louis.** *Teorias relativas a la estabilidad de coloides liofobicos Cuaderno FIRP S614-A.* Universidad de los Andes. Mérida : s.n., 2007.

10. **Narayanan R, El – Sayed M.** *Catalysis with Transition Metal Nanoparticles in Colloidal solution: Nanoparticle Shape Dependence and stability.* Journal. Physics. Chemical. B 109 (2005) 12663. : s.n.
11. **SALAGER, J.** *"Emulsiones, propiedades y formulación". Cuaderno FIRP # 231.* Laboratorio FIRP, Universidad de los Andes. Mérida : s.n., 1993.
12. **SALAGER, J.** *"Propiedades de las emulsiones y su medición". Cuaderno FIRP #S747.* Laboratorio FIRP, Universidad de los Andes. Mérida : s.n., 1999.
13. **ANDRADE, P.** *Notas sobre la Formación de emulsiones.* [ed.] Quimitecnica. Quito : s.n., 2001.
14. **CARDENAS, Antonio.** *Emulsiones Múltiples. Cuaderno FIRP S277-A.* Universidad de los Andes. Mérida : s.n., 2003.
15. **Forgiarini, A., Esquena, J y Gomzález, C.** Formation of nano-emulsions by Low-Energy Emulsificación Methods at constant Temperature. s.l. : Langmuir 17, 2076-2083, 2001.
16. **Salager, J.L.** "Microemulsions". [aut. libro] G Broze Ed. *Handbook of Detergents-Part A: Properties, Surfactant Science Series.* New York : s.n., 1999, Vol. 82, págs. 253-302.
17. **ANTON, R y SALAGER, J.** *"Surfactantes". Cuaderno FIRP #300.* Laboratorio FIRP, Universidad de los Andes. Mérida : s.n., 1990.
18. **Salager, J. L.** *"Surfactantes: Tipos y Usos". Cuaderno FIRP S300-A.* Laboratorio FIRP, Universidad de Los Andes. Mérida. Venezuela : s.n., 2002.
19. **ADAMSON, W.** *Physical Chemistry of surfaces.* 2da. Estados Unidos de Norte

America : Jhon, 1967.

20. **ANTON, R y SALAGER, J.** *Surfactantes. Cuaderno FIRP # 300.* . s.l. : Universidad de los Andes. Merida, 1990.

21. **ANTON DE SALAGER, R.** *"Tensión Superficial". Cuaderno FIRP # 203.* Laboratorio FIRP, Universidad de los Andes. Mérida. Venezuela : s.n., 1992.

22. **Rosen, M.** *Surfactant and interfacial Phenomena.* s.l. : A Wiley interscience publication, USA 1989.

23. **Paul C. Hiemenz, Raj Rajagopalan.** *Principles of Colloid and Surface Chemistry.* third edition. New York, USA : Marcel Dekker, 1997. : s.n.

24. **Wanzhong Zhang, Xueliang Qiao , Jianguo Chen.** *Synthesis and characterization of silver nanoparticles in AOT.* . China. Sci : s.n., 2006 : s.n.

25. **Murray, Patrick R.** *Microbiología médica, cuarta edición.* USA : Elsevier Science, 2002.

26. **Snigdhamayee Praharaj, Subhra Jana, Subrata Kundu, Surojit Pande, Tarasankar Pal.** *Efecto de la concentración de metanol sobre el tamaño de partícula y estudios SERS dependientes del tamaño.* . India : Sci s.n., 2009. : s.n.

27. **Baalousha, Mohammed.** *Aggregation and disaggregation of iron oxide nanoparticles.* United Kingdom. Sd : s.n., 2008.

28. **Anthony Ratkovich, R. Lee Penn.** *Zinc oxide nanoparticle growth from homogenous solution: Influence of Zn:OH₂.* USA. Sci : s.n., 2008.

29. **I. Mohammed Sadiq, MSc, Basudev Chowdhury, BTech.,** *Antimicrobial*

sensitivity of Escherichia coli to alumina nanoparticles. India.Sci : s.n., 2009.

30. **Gutiérrez, Humberto y Salazar, Román.** *"Análisis y Diseño de Experimentos"*. Mexico : McGraw Hill InterAmericana, 2004.

31. **Skoog, D, James, H y Timothy, N.** *Principios de Análisis Instrumental. 5ta edición.* Madrid (España) : McGraw-Hill, 2001.

32. <http://www.willstein.com/SEM.html>. [En línea]

33. <http://www.full.chemistry.uakron.edu/SEM.html>. [En línea]

34. **Guillen, Eleazar.** *Estrategias fisico-químicas para reducir la adsorción de surfactante aniónico y su implicación en tecnologías EOR. en progreso.* Universidad de los Andes. Mérida : s.n., 2009.

35. *Importance of micellar lifetime and sub micellar aggregates in detergency processes.* **Monica, James.** s.l. : Tenside Surface detergency, 2007.

36. *Correlation of particulate dispersion stability with strength of self assembled surfactant films.* **Brij, Dinesh Shah and.** s.l. : Langmuir, 16 (18) 7255 7262, 2000.

37. **Brown, D, Floyd, A y Sainsburg, M.** *Organic Spectroscopy.* s.l. : Journal of colloid and interface Science, 183,301-308, #0550, 1996.

ANEXOS

1. Método de determinación de sensibilidad antimicrobiana por difusión en disco (Kirby Bauer)

FUNDAMENTO:

El microorganismo es inoculado en la superficie de una placa de agar (Müller Hinton), sobre la cual se colocan discos impregnados con una concentración conocida de antibiótico. Las placas se incuban por 16- 18 horas a 35°C- 37°C. Durante la incubación, el antibiótico difunde radialmente desde el disco a través del agar, por lo que su concentración va disminuyendo a medida que se aleja del disco; en un punto determinado, la concentración del antibiótico en el medio es incapaz de inhibir al microorganismo en estudio. El diámetro de inhibición alrededor del disco puede ser convertido a las categorías de sensible (S), Intermedio (I) y resistente (R) de acuerdo a tablas publicadas por el Comité Nacional de Estándares de Laboratorios Clínicos de Estados Unidos de Norteamérica (Siglas en inglés, NCCLS).

PROCEDIMIENTO:

1. Preparación del inóculo (método directo de inoculación a partir de la colonia aislada)

El inóculo se prepara a partir de colonias seleccionadas de una placa de cultivo (no selectivo) que tenga entre 18 a 24 horas de incubación. Se realiza una suspensión de las colonias en solución salina estéril, la cual debe ser ajustada a la escala de 0.5 de Mc Farland (Patrón de turbidez)

2. Inoculación de las placas

Dentro de los 15 minutos después de ajustado el inóculo se siembran las placas de MH (Müller Hinton) con un hisopo estéril, este debe ser presionado contra las paredes del tubo a fin de escurrir el exceso de inóculo.

Se procede a inocular la superficie seca del MH por hisopado en tres direcciones para asegurar una completa distribución del inóculo. Se debe esperar de 3 a 5 minutos antes de colocar los discos de antibióticos para que el exceso de humedad sea absorbido.

3. Aplicación de los discos de antibióticos en las placas inoculadas

Colocar los discos sobre la superficie del agar previamente inoculado utilizando una pinza estéril y aplicando una ligera presión sobre el disco para que este se adhiera a la superficie, guardando una distancia entre disco y disco al menos de 24 mm desde un centro al otro. Una vez que el disco haya tocado la superficie del agar MH no debe ser removido, ya que algunas drogas difunden casi instantáneamente al ser aplicados.

Se debe incubar las placas en posición invertida a 35 °C – 37 °C.

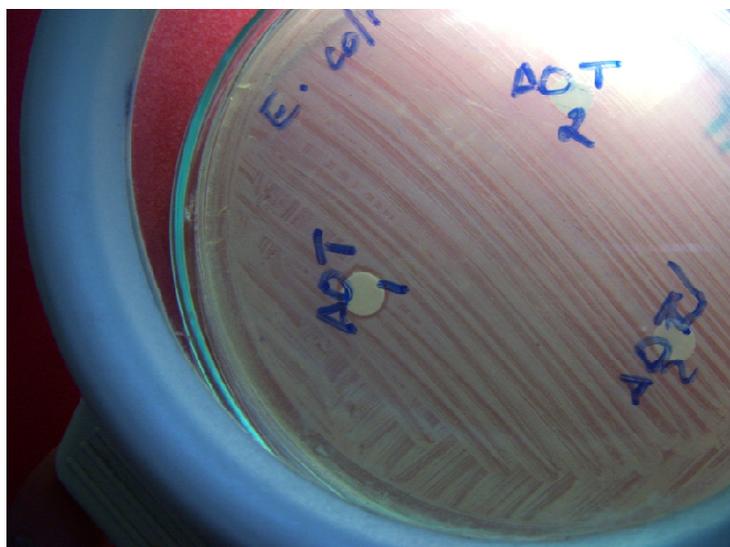
4. Lectura de las placas e interpretación de resultados

Después de 16 – 18 horas de incubación las placas deben ser examinadas buscando halos de inhibición para proceder a medir su diámetro. Hay que tener presente que se medirá el diámetro del halo de inhibición desde el punto en el cual no se observa crecimiento alguno del microorganismo a simple vista u ojo desnudo.

La interpretación de las medidas de los halos de inhibición se realiza cotejando tales medidas con las tablas de la NCCLS para la sensibilidad antimicrobiana, según esto se clasificará al antibiótico como sensible, intermedio o resistente ante el microorganismo ensayado.

www.bdigital.ula.ve

2. Discos de petri de los sistemas: Agar-Bacteria-Sustancias antimicrobianas



Efecto del sistema plata-AOT1 sobre la E.Coli

www.bdigital.ula.ve