



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Dirección General de Estudios de Posgrado
Facultad de Ingeniería Geológica, Minera, Metalúrgica y
Geográfica
Unidad de Posgrado

**Evaluación del efecto antimicrobiano de
nanopartículas de óxido de zinc (ZnO) en el
crecimiento de *escherichia coli* mediante análisis de
turbidez en aguas residuales domésticas**

TESIS

Para optar el Grado Académico de Magíster en Ciencias
Ambientales con mención en Control de la Contaminación y
Ordenamiento Ambiental

AUTOR

Oscar Alberto CORNEJO SANCHEZ

ASESOR

Mg. Ana María OSORIO ANAYA

Lima, Perú

2026



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Cornejo, O. (2026). *Evaluación del efecto antimicrobiano de nanopartículas de óxido de zinc (ZnO) en el crecimiento de escherichia coli mediante análisis de turbidez en aguas residuales domésticas*. [Tesis de maestría, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Ingeniería Geológica, Minera, Metalúrgica y Geográfica, Unidad de Posgrado]. Repositorio institucional Cybertesis UNMSM.

Metadatos complementarios

Datos de autor	
Nombres y apellidos	Oscar Alberto Cornejo Sanchez
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	06036539
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0002-3388-8216
Datos de asesor	
Nombres y apellidos	Ana María Osorio Anaya
<i>Tipo de documento de identidad</i>	DNI
Número de documento de identidad	08633698
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0002-4384-4671
Datos del jurado	
Presidente del jurado	
Nombres y apellidos	Karina Lizeth Lozada Castillo
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	40438343
Miembro del jurado 1	
Nombres y apellidos	Manuel Jesús Luna Hernández
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	06897800
Miembro del jurado 2	
Nombres y apellidos	Raymundo Erazo Erazo
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	08439329
Miembro del jurado 3	
Nombres y apellidos	Nora Rosa Concepción Malca Casavilca
Tipo de documento	DNI

Número de documento de identidad	08129250
Datos de investigación	
Línea de investigación	Tratamientos de aguas residuales con nanomateriales
Grupo de investigación	Materiales para la Innovación Tecnológica (GI MATINTEC)
Agencia de financiamiento	Vicerrectorado de Investigación de la UNMSM. Proyecto N.º C19071481 Proyecto N.º C17071281
Ubicación geográfica de la investigación	<i>Laboratorio de nanotecnología e Innovación Tecnológica del GI MATINTEC de la FQIQ – UNMSM,</i> País: Perú Departamento: Lima Provincia: Lima -12.06023, -77.08323
Año o rango de años en que se realizó la investigación	Setiembre 2024 – Octubre 2025
URL de disciplinas OCDE	2.04.01 -- Ingeniería química https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#2.04.01 2.07.01 -- Ingeniería ambiental y geológica https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#2.07.01 2.10.01 -- Nanomateriales https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#2.10.01



Acta de Sustentación de Tesis

Sustentación Pública

En la Universidad Nacional Mayor de San Marcos – Lima, a los siete días del mes de mayo del año 2026, siendo las 10:00 horas, se reúnen los suscritos Miembros del Jurado Examinador de Tesis, nombrado mediante Dictamen Nº 000232-2026-UPG-VDIP-FIGMMG/UNMSM del 23 de abril de 2026, con la finalidad de evaluar la sustentación oral de la siguiente tesis:

Título

«EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIMICROBIANO DE NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE ZINC (ZNO) EN EL CRECIMIENTO DE *ESCHERICHIA COLI* MEDIANTE ANÁLISIS DE TURBIDEZ EN AGUAS RESIDUALES DOMÉSTICAS»

Que, presenta el Bach. **OSCAR ALBERTO CORNEJO SANCHEZ**, para optar el grado académico de **MAGISTER en CIENCIAS AMBIENTALES** con mención en **CONTROL DE LA CONTAMINACIÓN Y ORDENAMIENTO AMBIENTAL**.

El Secretario del Jurado Examinador de la Tesis, analiza el expediente digital Nº UNMSM-20250046338 del 16 de abril de 2025, en el marco legal y Estatutario de la Ley Universitaria, acreditando que tiene todos los documentos y cumplió con las etapas del trámite según el **Reglamento General de Estudios de Posgrado**, aprobado con Resolución Rectoral Nº 01153-CR-00 del 02 de febrero de 2000.

Luego de la Sustentación, se procede con la calificación de la Tesis, de acuerdo al procedimiento respectivo y se registra en el acta correspondiente en conformidad al Art. 66 del precitado Reglamento, correspondiéndole al graduando la siguiente calificación:

MUY BUENO (17)

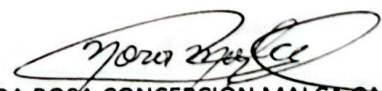
Habiendo sido aprobada la sustentación de la Tesis, el Presidente recomienda a la Facultad se le otorgue el grado académico de **MAGISTER en CIENCIAS AMBIENTALES** con mención en **CONTROL DE LA CONTAMINACIÓN Y ORDENAMIENTO AMBIENTAL** al Bach. **OSCAR ALBERTO CORNEJO SANCHEZ**.

Siendo las 11:00 horas, se dio por concluido al acto académico.


MG. KARINA LIZETH LOZADA CASTILLO
Presidente


MG. MANUEL JESÚS LUNA HERNÁNDEZ
Secretario


DR. RAYMUNDO ERAZO ERAZO
Miembro


DRA. NORA ROSA CONCEPCIÓN MALCA CASAVILCA
Miembro


MG. ANA MARIA OSORIO ANAYA
Asesor



Anexo 1

CERTIFICADO DE SIMILITUD

Yo, MG. ANA MARIA OSORIO ANAYA en mi condición de asesor acreditado con el Dictamen de la UPG o de la EP N° 000355-2025-UPG-VDIP-FIGMMG/UNMSM de la tesis, cuyo título es «EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIMICROBIANO DE NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE ZINC (ZNO) EN EL CRECIMIENTO DE *Escherichia Coli* MEDIANTE ANÁLISIS DE TURBIDEZ EN AGUAS RESIDUALES DOMÉSTICAS», presentado por el bachiller OSCAR ALBERTO CORNEJO SANCHEZ para optar el Grado Académico de MAGISTER en CIENCIAS AMBIENTALES con mención en CONTROL DE LA CONTAMINACIÓN Y ORDENAMIENTO AMBIENTAL, CERTIFICO que se ha cumplido con lo establecido en la Directiva de Originalidad y de Similitud de Trabajos Académicos, de Investigación y Producción Intelectual. Según la revisión, análisis y evaluación mediante la plataforma PIDS, el documento evaluado cuenta con el 12% de similitud, nivel PERMITIDO para continuar con los trámites correspondientes y para su **publicación en el repositorio institucional**.

Se emite el presente certificado en cumplimiento de lo establecido en las normas vigentes, como uno de los requisitos para la obtención del grado Académico de MAGISTER en CIENCIAS AMBIENTALES con mención en CONTROL DE LA CONTAMINACIÓN Y ORDENAMIENTO AMBIENTAL.

Lima, 04 de junio de 2026

Firma del Asesor

Nombres y Apellidos del asesor: ANA MARÍA OSORIO ANAYA

DNI: 08633698

* Según corresponda: bachiller, magíster, doctor; título profesional o título de segunda especialidad

La vigencia del presente certificado corresponde a un período de noventa (90) días desde la fecha de su emisión; siempre que no haya observaciones en el texto durante el proceso de revisión por el jurado informante o surja alguna contingencia.

DEDICATORIA

A mis padres y hermanos,
cuya ausencia no apaga su presencia en mí.

A mi amada esposa,
por amarme y yo amarla más.

AGRADECIMIENTOS

A la **MSc. Ana María Osorio Anaya**, por su orientación y apoyo constante durante el desarrollo de esta investigación.

Al **Vicerrectorado de Investigación de la UNMSM**, por el financiamiento brindado mediante los proyectos N.º C19071481 y N.º C19071281.

Al **Laboratorio de nanotecnología e Innovación Tecnológica del GI MATINTEC de la FQIQ – UNMSM**, por la colaboración recibida.

A la **Dra. Ruth García de la Guarda**, corresponsable del Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología de la **FCB – UNMSM**, por su asistencia técnica en los análisis microbiológicos

INDICE GENERAL

DEDICATORIA.....	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
ÍNDICE GENERAL.....	IV
LISTA DE TABLAS.....	VIII
LISTA DE FIGURAS.....	IX
RESUMEN.....	XI
SUMMARY.....	XII
Capítulo I. INTRODUCCION.....	1
1.1 Situación problemática.....	1
1.2. Formulación del Problema	3
1.2.1 <i>Problema general</i>	3
1.2.2 <i>Problemas específicos</i>	3
1.3 Justificación de la Investigación	4
1.3.1 <i>Justificación teórica</i>	4
1.3.2 <i>Justificación práctica</i>	4
1.4 Objetivos	5
1.4.1 <i>Objetivo general:</i>	5
1.4.2 <i>Objetivos específicos:</i>	5
1.5 Hipótesis de investigación.....	6
1.5.1 <i>Hipótesis general: turbidez (NTU).</i>	6
1.5.2 <i>Hipótesis específicas:</i>	6
1.5.3 <i>Matriz de Consistencia</i>	6

Capítulo II. MARCO TEORICO.....	9
2.1 Antecedentes de estudio.....	9
2.1.1 <i>Antecedentes internacionales</i>	9
2.1.2 <i>Antecedentes nacionales</i>	16
2.2 Bases teóricas.....	19
2.2.1 <i>Agua residual</i>	19
2.2.2 <i>Agua residual doméstica</i>	20
2.2.3 <i>Agua residual sintética</i>	24
2.2.4 <i>Coliformes fecales y Escherichia coli</i>	25
2.2.5 <i>Óxido de zinc</i>	25
2.2.6 <i>Nanotecnología</i>	29
2.2.7 <i>Nanoestructuras de óxido de zinc</i>	30
2.2.8 <i>Actividad Antibacteriana</i>	31
2.2.9 <i>Otros Mecanismos Probables</i>	33
2.2.10 <i>Análisis de turbidez y su relación con la medición del</i> <i>crecimiento de Escherichia coli</i>	34
2.3 Marco Conceptual	35
Capítulo III. METODOLOGÍA.....	41
3.1 Tipo y diseño de la investigación.	41
3.1.1. <i>Diseño experimental</i>	42
3.1.2 <i>Etapas del Diseño metodológico</i>	43
3.1.2.1 <i>Caracterización estructural y morfológico de nanopartículas de</i> <i>óxido de zinc mediante DRX y SEM</i>	44
3.1.2.2 <i>Evaluación de agua doméstica sintética con carga</i> <i>microbiana</i>	46
3.2. Variables de investigación.....	49
3.2.1 <i>Variable independiente (VI)</i> :	49

3.2.2 <i>Variable dependiente (VD)</i>	47
3.2.3 <i>Variables de control</i>	50
3.2.4 <i>Matriz de operacionalización de variables</i>	51
3.3 Unidad de Análisis	53
3.4. Población y muestra.....	53
3.4.1. <i>Población</i>	53
3.4.2. <i>Muestra</i>	54
3.4.3. <i>Selección de Muestra</i>	54
3.5. Técnicas e instrumentos de recolección de Datos	55
3.5.1. <i>Técnicas de investigación</i>	55
3.5.2 <i>Instrumentos de investigación</i>	68
3.5.2.1 <i>Matriz de instrumentos</i>	66
3.6. Análisis e Interpretación de la Información.....	69
Capítulo IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	71
4.1. Presentación de resultados.....	71
4.1.1 <i>Análisis de la Biomasa y el Medio de Ensayo (ARSD)</i>	71
4.1.2 Resultados Biológicos (Tablas).....	71
4.1.3. <i>Caracterización Estructural y Morfológica de Nanopartículas de ZnO</i>	72
4.1.4. <i>Efecto del ZnO en la Producción de Biomasa de E. coli</i>	73
4.1.5. <i>Curvas de Crecimiento de E. coli</i>	75
4.2. Análisis, interpretación y discusión de resultados.	78
4.2.1. <i>Análisis de Efectos Inter-Sujetos (ANOVA Factorial)</i>	78
4.2.2. <i>Relación y Tendencia (Correlación de Pearson)</i>	80
4.3. Prueba / Comprobación de hipótesis.	81
4.4. El fenómeno de la Hormesis y el balance homeostático.....	81
4.5. El rol protector de la interfase bionano(Tween 20).....	81
CONCLUSIONES	X

RECOMENDACIONES.....	XII
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	XIII
ANEXOS.....	XXV

LISTA DE TABLAS

Tabla 1.....	7
Matriz de Consistencia del Proyecto de Investigación.....	7
Tabla 2.....	22
Composición típica de las aguas residuales domésticas no tratadas	22
Tabla 3.....	23
Componentes de las aguas residuales domésticas.....	23
Tabla 4.....	27
Composición típica del agua residual domestica bruta.....	27
Tabla 5 Mariz de operacionalización de variables	50
Tabla 6 Composición del agua residual doméstica sintética.	57
Tabla 7 Matriz de elaboración de instrumentos de investigación.....	68
Tabla 8 Concentración de biomasa de E coli. en medio Mueller Hinton..... (MH).....	70
Resumen de los 720 min resultados de la biomasa de E. coli expresada en DO_{600} al tiempo final de utos en el medio MH	73
Tabla 9 Concentración de biomasa final de E. coli. en Medio Agua Residual Sintética (ARSD).....	70
Tabla 10 Resumen de los 720 min resultados de la biomasa de E. coli expresada en DO_{600} al tiempo final de utos en el medio MH	72
Tabla 11 Resumen de los resultados de la biomasa de E. coli expresada .. en DO_{600} al tiempo final de 720 minutos en el medio ASD.....	74
Tabla 12 Análisis de Varianza (ANOVA)	79
Tabla 13 Correlación entre el Tiempo y la Biomasa a 80 ppm.	80
Tabla 14 Correlación entre el Tiempo y la Biomasa a 40 ppm.	80

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Tipos de agua residuales.....	21
Figura 2. Difractograma de la muestra de ZnO.....	45
Figura 3. Micrografías SEM de la muestra de ZnO	46
Figura 4. Esquema del experimento. ..	48
Figura 5. Distribución de matraces	55
para la evaluación de la actividad antimicrobiana.....	55
Figura 6.	58
Preparación de agua sintética en cabina de flujo laminar.....	58
Preparación del agua doméstica residual.	60
Figura 8.	61
Reactivación de la cepa bacteriana ATCC 11229.	61
Figura 9. Lectura de la microplaca.	62
Figura 10. Ensayo 1. Caldo Mueller Hinton + E. coli ATCC 11229.....	63
Figura 11. Ensayo 2 – Agua doméstica sintética + E. coli ATCC.....	
11229.....	60
Figura 12. Ensayo 3 – Caldo Mueller Hinton + E. coli ATCC 11229	62.
Figura 13. Ensayo 4 - Agua Sintética Doméstica + E. coli.....	66
Figuras 14. Crecimiento de la cepa E. coli ATCC 11229.....	67
Crecimiento de la cepa E. coli ATCC 11229. Nota.....	67
Figura 15. Cinética de Crecimiento de E. coli en Caldo Mueller Hinton con Diferentes Concentraciones de Nanopartículas de Zn (Densidad..... Óptica).....	75
Figura 16. Curva de Turbidez de E. coli en Caldo Mueller Hinton a..... Diferentes Concentraciones de Nanopartículas de ZnO (Unidades..... .Nefelométricas de Turbidez).....	76
Figura 17. Cinética de Crecimiento de E. coli en Agua Residual Sintética con Diferentes Concentraciones de Nanopartículas de ZnO (Densidad..... Óptica).....	77

Figura 18. Curva de Turbidez de E. coli en Agua Residual Sintética a.....
Diferentes Concentraciones de Nanopartículas de ZnO (Unidades.....
Nefelométricas de Turbidez)..... 78

RESUMEN

La presente tesis de Maestría, desarrollada en la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (Perú), tuvo como objetivo evaluar la eficacia de las nanopartículas (NPs) de óxido de zinc (ZnO) como alternativa innovadora para la desinfección de aguas residuales.

Se utilizaron nanopartículas de ZnO comerciales de **30 nm** en un **diseño experimental completamente aleatorizado de tipo factorial, trabajando por triplicado** a concentraciones de 0, 40, 80, 100 y 200 ppm. La cepa *E. coli* (ATCC 11229) fue expuesta en Caldo Mueller Hinton (MH) y Agua Residual Sintética (ARS) durante **12 horas (720 minutos)**. La cinética de inhibición se monitoreó mediante análisis de turbidez y Densidad Óptica (DO), y los datos se validaron mediante un Análisis de Varianza (ANOVA).

El ANOVA confirmó que la concentración de ZnO tiene un efecto altamente significativo sobre la biomasa aparente ($p < 0.001$). En el medio MH, se demostró una inhibición dosis-dependiente, siendo la concentración óptima de **80 ppm**, la cual logró una reducción máxima de la biomasa del **25.43%**. Concentraciones superiores fueron menos efectivas debido a la **aglomeración** de las nanopartículas. Crucialmente, en el medio ARS, la alta complejidad de la matriz generó una **interferencia metodológica severa**, donde las lecturas de DO/NTU se vieron artificialmente incrementadas a altas dosis, impidiendo una cuantificación fiable.

Se concluye que el ZnO es un agente antimicrobiano significativo, pero su aplicación en matrices complejas requiere el cambio a métodos de cuantificación directa (ej., UFC/mL).

Palabras Clave: Nanopartículas de Óxido de Zinc (ZnO); *Escherichia coli*; Turbidimetría; Dosis Óptima; Aglomeración; Interferencia de Matriz; Tratamiento de Aguas Residuales.

SUMMARY

This master's thesis, conducted at the National University of San Marcos (Peru), aimed to evaluate the efficacy of zinc oxide nanoparticles (ZnO NPs) as an innovative alternative for domestic wastewater disinfection.

Commercial ZnO NPs with an average size of **30 nm** were used in a **completely randomized factorial experimental design, conducted in triplicate**, at concentrations ranging from 0 to 200 ppm. The *E. coli* strain (ATCC 11229) was exposed in Mueller Hinton Broth (MH) and Synthetic Domestic Wastewater (SDW) for **12 hours (720 minutes)**. Inhibition kinetics were monitored via turbidimetry and Optical Density (OD) analysis, and data was validated using a factorial Analysis of Variance (ANOVA).

The ANOVA confirmed that the ZnO concentration had a highly significant effect on apparent biomass ($p < 0.001$). In the controlled MH medium, dose-dependent inhibition was demonstrated, with the optimal concentration of **80 ppm** achieving a maximum biomass reduction of **25.43%**. Higher concentrations were less effective due to nanoparticle **agglomeration**. Crucially, the SDW assay revealed severe **methodological matrix interference**, where OD/NTU readings were artificially inflated at high doses, precluding reliable quantification.

Conclusion: It is concluded that ZnO is a significant antimicrobial agent, but its application in complex matrices necessitates a switch to direct quantification methods (e.g., CFU/mL).

Keywords: Zinc Oxide Nanoparticles (ZnO NPs); *Escherichia coli*; Turbidimetry; Optimal Dose; Agglomeration; Matrix Interference; Wastewater Treatment.

Capítulo I. INTRODUCCION

1.1 Situación problemática

A escala global, la seguridad hídrica atraviesa una crisis profunda caracterizada por la persistente contaminación microbiológica de los suministros de agua potable. Según el reciente informe del Programa Conjunto OMS/UNICEF (2025), a pesar de que la cobertura de servicios gestionados de forma segura aumentó al 74% en 2024, todavía existen aproximadamente 2,000 millones de personas que carecen de acceso a agua libre de contaminantes en sus hogares. Esta problemática se agrava por la presencia de la bacteria *Escherichia coli*, considerada el indicador universal de contaminación fecal. Se estima que al menos 1,700 millones de individuos consumen agua sin protección efectiva contra patógenos entéricos, lo que deriva en una mortalidad anual cercana a las 800,000 personas por enfermedades diarreicas relacionadas con el agua contaminada y el saneamiento deficiente (Organización Mundial de la Salud, 2023). La comunidad científica advierte que el 60% de las fuentes de agua superficiales en países en desarrollo muestran niveles de *E. coli* que superan los límites permitidos, lo que ha impulsado el uso de nanomateriales de ZnO.

Ante la resistencia de estos patógenos a los tratamientos convencionales de cloración frente a cepas multirresistentes, investigaciones recientes de Kamaruzaman et al. (2025) han demostrado que las nanopartículas de óxido de zinc (ZnO NPs) sintetizadas mediante métodos ecológicos logran una inactivación eficiente de *E. coli* en matrices complejas como las aguas residuales, destruyendo la integridad de la membrana celular bacteriana y superando la eficacia de la desinfección química tradicional.

En el Perú, aunque el 93.2% de la población urbana accede a red pública, la brecha de saneamiento afecta al 73.7% de la población, quienes no

cuentan con un servicio gestionado de manera segura, es decir, con niveles adecuados de cloro y libre de bacterias, según el Instituto Nacional de Estadística e Informática (2024). La contaminación de las fuentes hídricas es severa; la Autoridad Nacional del Agua (2024) reporta que el 26% de las cuencas hidrográficas del país sufren impactos directos por el vertimiento de efluentes domésticos e industriales sin tratamiento. Estadísticas oficiales revelan que, a pesar de la cobertura en zonas urbanas, se detecta presencia de *E. coli* en el 25.8% de las muestras de agua para consumo humano a nivel nacional, lo que evidencia que los sistemas de potabilización actuales no logran neutralizar totalmente la carga microbiológica de los ríos.

En la ciudad de Lima el desafío se concentra en la capacidad de las plantas de tratamiento para procesar efluentes con alta densidad de contaminantes orgánicos, la problemática se intensifica por la alta densidad poblacional que presiona al río Rímac y chillón, el cual recibe el 67.93% de los vertimientos de aguas residuales de la capital. Informes técnicos de la Autoridad Nacional del Agua (2024) señalan que durante el 2024 se registró una alta concentración de contaminantes biológicos en los ríos locales debido a la gestión deficiente de los efluentes. En este escenario, estudios técnicos de Carhuamaca y Flores (2025) han validado que el uso de nanopartículas de óxido de zinc en el tratamiento de aguas residuales municipales de la región permite una reducción significativa de la carga microbiana. No obstante, es imperativo implementar métodos de monitoreo precisos, como el análisis de turbidez, para evaluar la cinética de inhibición bacteriana y estandarizar soluciones nanotecnológicas que garanticen la inocuidad del agua en Lima Metropolitana.

En este contexto, el presente proyecto tiene como propósito evaluar el potencial de las nanopartículas de ZnO para inhibir el crecimiento de *Escherichia coli* en aguas residuales domésticas mediante mediciones de turbidez, a fin de aportar información relevante que contribuya a optimizar los procesos de desinfección y promover el reúso seguro del agua tratada.

I.2. Formulación del Problema

La ciencia de los materiales ha impulsado el desarrollo de tecnologías sostenibles orientadas al saneamiento ambiental, especialmente en el tratamiento de aguas. Garantizar el acceso a agua segura constituye un pilar fundamental para la prevención de enfermedades y la reducción de la mortalidad asociada a microorganismos patógenos (Gastañaga, 2018). La calidad del agua y su adecuado tratamiento son factores esenciales para evitar enfermedades transmitidas por el agua contaminada (Barrenechea Martel & Vargas, 2014, como se citó en Tibaduiza Landinez & L., 2014). Sin embargo, los métodos tradicionales de desinfección suelen ser costosos y, en algunos casos, generar subproductos tóxicos. La nanotecnología surge como una alternativa innovadora frente a estas limitaciones. En particular, las nanopartículas de óxido de zinc (ZnO) han demostrado una eficacia notable en la eliminación de bacterias gracias a su actividad antimicrobiana (Noriega-Treviño et al., 2012). En este marco, la investigación se orienta a responder la siguiente pregunta general:

1.2.1 Problema general

¿Cuál es el efecto antimicrobiano de las nanopartículas de óxido de zinc (ZnO) sobre el crecimiento de *Escherichia coli* mediante análisis de turbidez en aguas residuales domésticas?

De esta interrogante principal se derivan las siguientes preguntas específicas:

1.2.2 Problemas específicos

¿Como influye la concentración de nanopartículas de ZnO en la disminución de la turbidez de las aguas residuales domésticas, asociada al crecimiento de *Escherichia coli*?

¿Qué relación existe entre la concentración de nanopartículas de ZnO y el grado de inhibición de crecimiento bacteriano de *Escherichia coli* observado en las aguas residuales domésticas?

1.3 Justificación de la Investigación

1.3.1 Justificación teórica

Las nanopartículas de óxido de zinc (ZnO) constituyen un recurso científico con alto potencial en el control de *Escherichia coli* presente en aguas residuales domésticas. Su acción antimicrobiana se fundamenta principalmente en la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS), como radicales hidroxilos y peróxido de hidrógeno, que ocasionan daños en las membranas celulares y alteran procesos metabólicos esenciales, provocando la pérdida de viabilidad bacteriana. Asimismo, la liberación de iones Zn^{2+} produce un estrés intracelular adicional al interferir con rutas metabólicas vitales (Demapilis et al., 2018, como se citó en Calderón & Esteban, 2022, p. 27).

En comparación con otros nanomateriales, el ZnO presenta ventajas importantes sobre el dióxido de titanio (TiO_2) en la inactivación de *E. coli*, ya que no requiere una exposición prolongada a la luz para activarse y mantiene su efectividad bajo condiciones reales de tratamiento (Al Hallak, Bailly & Roques, 2023, p. 8).

De manera práctica, su aplicación en sistemas de tratamiento de aguas residuales domésticas ha mostrado resultados sobresalientes: un estudio reciente reportó reducciones superiores al 98 % en coliformes totales y hasta un 97 % en demanda química de oxígeno (DQO) al combinar ZnO con radiación UV y tiempos de contacto controlados (Carhuamaca & Flores, 2024, p. 75).

1.3.2 Justificación práctica

La contaminación bacteriana en aguas residuales domésticas representa un desafío crítico para la salud pública y la sostenibilidad ambiental. Este proyecto, centrado en evaluar el efecto antimicrobiano de las nanopartículas de ZnO sobre *Escherichia coli* mediante el análisis de turbidez, se justifica por

la necesidad urgente de desarrollar tecnologías de tratamiento accesibles, eficientes y seguras.

El agua es un recurso esencial cuya disponibilidad se ha reducido drásticamente debido al crecimiento poblacional, la urbanización y el cambio climático (Gastañaga, 2018). Esta situación ha impulsado la reutilización de aguas residuales, práctica que conlleva riesgos significativos si no se garantiza la eliminación de patógenos como *E. coli*, asociados a enfermedades gastrointestinales y alta mortalidad en poblaciones vulnerables (Kumar et al., 2017). Aunque métodos tradicionales de desinfección, como la cloración, son ampliamente utilizados, su aplicación genera subproductos halogenados potencialmente tóxicos que incrementan el riesgo de cáncer (Elmi et al., 2014).

Frente a ello, las nanopartículas de ZnO ofrecen una alternativa prometedora gracias a su capacidad bactericida contra cepas Gramnegativas y su bajo impacto ambiental (Elmi et al., 2014; Kumar et al., 2017). Además, su implementación puede reducir los costos operativos de las plantas de tratamiento y ampliar el acceso a agua segura en comunidades con infraestructura limitada, contribuyendo al cumplimiento de los Objetivos de Desarrollo Sostenible (Annan et al., 2018).

1.4 Objetivos

1.4.1 Objetivo general: Evaluar el efecto de las nanopartículas de óxido de zinc (ZnO) sobre el crecimiento de *Escherichia coli* en aguas residuales domésticas, mediante el análisis de la variación de la turbidez (NTU).

1.4.2 Objetivos específicos:

1.4.2.1 Analizar la influencia de diferentes concentraciones de nanopartículas de ZnO en la disminución de la turbidez asociada al crecimiento de *Escherichia coli*

1.4.2.2. Determinar la relación entre la concentración de nanopartículas de ZnO y el grado de inhibición microbiana observado.

1.5 Hipótesis de investigación

1.5.1 Hipótesis general: Las nanopartículas de óxido de zinc (ZnO) reducen significativamente el crecimiento de *Escherichia coli* en aguas residuales domésticas, lo cual se refleja en una disminución de la turbidez (NTU).

1.5.2 Hipótesis específicas:

1.5.2.1 La concentración de las nanopartículas de ZnO reduce la turbidez de las aguas residuales domésticas, asociada al crecimiento de *Escherichia coli*.

1.5.2.2 Existe correlación entre la concentración de las nanopartículas de ZnO y el grado de inhibición del crecimiento bacteriano de *Escherichia coli* observado en las aguas residuales domésticas.

1.5.3 Matriz de Consistencia

(véase la tabla 1)

Tabla 1

Matriz de Consistencia del Proyecto de Investigación

Tipo	Problemas	Objetivos	Hipótesis	Variables	Metodología
General	Problema ¿Cuál es el efecto antimicrobiano de las nanopartículas de óxido de zinc (ZnO) sobre el crecimiento de <i>Escherichia coli</i> mediante análisis de turbidez en aguas residuales domésticas?	Objetivo Evaluar el efecto de las nanopartículas de óxido de zinc (ZnO) sobre el crecimiento de <i>Escherichia coli</i> en aguas residuales domésticas, lo cual se refleja en una disminución de la turbidez mediante el análisis de la variación de la turbidez (NTU)	Hipótesis Las nanopartículas de óxido de zinc (ZnO) reducen significativamente el crecimiento de <i>Escherichia coli</i> en aguas residuales domésticas, lo cual se refleja en una reducción de la turbidez (NTU)	Variable independiente (VI): Concentración de nano partículas de ZnO (mg/L o ppm). Variable Dependiente (VD): Crecimiento de <i>Escherichia coli</i> (evaluado por turbidez NTU). Variable de Control: Tiempo de contacto, temperatura, pH, condiciones del agua residual	Tipo de investigación: Aplicada. Diseño de investigación: Experimental. Diseño experimental completamente aleatorizado con diferentes concentraciones de ZnO. Población: Agua residual doméstica sintética inoculada con <i>E. coli</i>. Muestra: Volúmenes de agua residual preparados para cada tratamiento y control. Técnicas e instrumentos: Espectrofotómetro/turbidímetro para medición de NTU; técnicas de microbiología para inoculación y manejo de <i>E. coli</i>. Procedimiento: ensayo en lote con tres réplicas, muestreo cada 30 min. Análisis estadístico: ANOVA de una vía para comparar medias de turbidez entre tratamientos; prueba post hoc de Tukey para identificar diferencias específicas; correlación de Pearson o Spearman para relacionar concentración de ZnO e inhibición microbiana; nivel de significancia $p = 0.05$.

Específicos	Problema 1 ¿Como influye la concentración de nanopartículas de ZnO en la disminución de la turbidez de las aguas residuales domésticas, asociada al crecimiento de <i>Escherichia coli</i>?	Objetivo 1 Analizar la influencia de diferentes concentraciones de nano partículas de ZnO en la disminución de la turbidez asociada al crecimiento de <i>Escherichia coli</i>	Hipótesis 1 La concentración de las nanopartículas de ZnO reduce la turbidez de las aguas residuales domésticas, asociada al crecimiento de <i>Escherichia coli</i>.	VI: Concentración de nano partículas de ZnO. VD: Disminución de la turbidez (NTU).	Método de análisis: ANOVA de una vía para comparar medias; prueba post hoc de Tukey en caso de significancia; $p = 0.05$. Técnica: Turbidimetría en lote; muestreo cada 30 min. Instrumento: turbidímetro.
	Problema 2 ¿Qué relación existe entre la concentración de nanopartículas de ZnO y el grado de inhibición de crecimiento bacteriano de <i>Escherichia coli</i> observado en las aguas residuales domésticas?	Objetivo 2 Determinar la relación entre la concentración de nano partículas de ZnO y el grado de inhibición microbiana observado.	Hipótesis 2 Existe correlación entre la concentración de las nanopartículas de ZnO y el grado de inhibición del crecimiento bacteriano de <i>Escherichia coli</i> observado en las aguas residuales domésticas.	VI: Concentración de nano partículas de ZnO. VD: Porcentaje de inhibición microbiana (calculado a partir de la variación de turbidez y densidad óptica)	Método de análisis: Correlación de Pearson según distribución de datos; $p = 0.05$. Técnicas: Espectrofotometría UV-Vis (DO a 600 nm) y cálculo de % de inhibición respecto al control; Turbidimetría de apoyo.

Fuente. Los datos son de elaboración propia para esta investigación.

Capítulo II. MARCO TEORICO

2.1 Antecedentes de estudio

2.1.1 Antecedentes internacionales

Después de buscar referencias bibliográficas, respecto al efecto microbicida de las NPs de ZnO sobre el tratamiento de aguas, teniendo en cuenta estudios y artículos científicos de la base de datos Springer, Elsevier, y otros se encontró la siguiente información relacionada:

Cervantes, Avilés et al., (2017), en su trabajo **“Interacciones y efectos de las nanopartículas de óxido de metal sobre organismos implicados en el tratamiento biológico de aguas residuales”** estudiaron el efecto toxicológico y las interacciones morfológicas de dos tipos de nanopartículas metálicas (ZnO y TiO₂) tratamiento aeróbico de aguas residuales. Las muestras de aguas residuales tomadas de una fosa séptica en una casa de Guanajuato, México. Los ensayos consistieron en el tratamiento con nanopartículas óxido de zinc y óxido de titanio a aguas residuales crudas tratadas a su vez con lodos activados. Los efectos de las nanopartículas sobre estas aguas residuales se evaluaron mediante la eliminación de nutrientes, y las interacciones morfológicas mediante las técnicas de microscopía como TEM y HAADF-STEM también se efectuaron mapas elementales al final de la prueba. Las concentraciones finales de las nanopartículas de óxido de zinc fueron 450, 900, 1,500, y 2,000 mg/L, mientras que para el óxido de titanio fueron 500, 1,000, 1,500 y 1,500. 2,000 mg/L. Las pruebas se realizaron en reactores de 2 l a los cuales se agregó 0,842 l de lodos activados, 0,842 l de agua residual, y 0,316 l de nanopartículas (ZnO o TiO). Los lodos activados presentan una concentración de 3.060 y 100 mg/L de sólidos volátiles en

suspensión (VSS), que fue determinado por el método estándar 2,540 D (American Public Health Association, 2005). El tiempo de duración de las pruebas fue 8 h, tiempo de retención hidráulico típico en el tratamiento de los lodos activados, a cada reactor se le adaptó un difusor de burbujas de aire con un caudal de aireación de 6 m³/h por m³ del reactor. Después de 8 h las muestras se recolectaron para determinar materia orgánica medida como DQO, nitrógeno amoniacal (NH₃-N), y ortofosfato (PO₄-P), pH, Conductividad TSS, VSS, COD; el porcentaje de eliminación de cada nutriente fue determinado por la diferencia entre la concentración final e inicial.

La caracterización de las nanopartículas se realizó antes de los ensayos, se determinó la morfología, tamaño, estructura cristalina y espectro ultravioleta visible, así como la composición elemental de EDS. La morfología fue examinada mediante observación en MET y microscopía electrónica de barrido (SEM), utilizando un JEM 2200FS a 80 kV y un JSM 7401F a 5 kV, respectivamente. Para TEM se depositó una gota de la suspensión de cada NPs en rejillas de cobre, mientras que para la observación de SEM se colocó una gota sobre monturas de aluminio. El tamaño se calculó midiendo NPs (n5150) en 15 con el software Image. La estructura cristalina fue determinada comparando el espectro de difracción de rayos X (DRX) con los patrones en la base de datos. El difractómetro usado para determinar el XRD fue el X Pert Pro (Analítico). El espectro UV-VIS fue determinado con un espectrofotómetro Hach DR/5000. Finalmente, la composición elemental se llevó a cabo en el SEM, usando un detector EDS acoplado al SEM. Por los resultados obtenidos se observa la inhibición de la remoción de materia orgánica y nitrógeno amoniacal, y mejoran la eliminación de ortofosfato

Khan, W. (2017), en la investigación **“Aplicación de nanopartículas ZnO en el tratamiento biológico de aguas residuales municipales”** se estudió el efecto antibacteriano de las nanopartículas de óxido de zinc en las aguas del alcantarillado de la ciudad de Karachi, Pakistán. Las nanopartículas de óxido de zinc utilizadas fueron preparadas por el método mecano-químico, consistente en la mezcla de acetato de zinc secado a 60° con aire durante 4 horas y ácido oxálico en una proporción molar de 2: 3 es decir: 2,5 g de acetato

de zinc 7.5 gramos de ácido oxálico pulverizados durante 45 minutos y calcinados a 160° por 30 minutos, posteriormente fueron caracterizadas por el método de microscopia electrónica de transmisión (TEM). Para el tratamiento del agua, se recogieron muestras de agua de alcantarillado dividiéndose en tres porciones marcándose como muestra 1 y muestra 2, la muestra 3 fue el blanco. 1 ml de la muestra se añadió una placa Petri y se agregó 0,5 ml de cloro, así mismo 1ml de la muestra 2 se agregó a otra placa Petri y sometida a la acción UV por 2 minutos. Ambas placas fueron suspendidas en medio de agar NA EMB, e incubadas a 37° durante 24-48 horas. Se nota la formación de colonias, en las muestras 1 y 2 *Staphylococcus epidermidis* y en el blanco *Escherichia coli*. La actividad bacteriana de las nanopartículas de óxido de zinc se realizó por el método de dispersión en placas, previamente desinfectadas por UV durante 1 min. Una suspensión Salinas formadas por $1,5 \times 10^8$ UFC/ml de cada bacteria (*E. coli*, y *S. epidermidis*) se repicaron en medio cultivo de Mueller– Hinton y después de 5- 10 minutos se añadió 20 µl de la suspensión de nanopartículas de óxido de zinc. Se determinó la concentración mínima Inhibitoria (CMI) una concentración de 32 y 641 para *S. epidermidis* y *E. coli* respectivamente. Los resultados del experimento sugieren que las nanopartículas de ZnO pueden actuar como agentes antimicrobianos y que la clase de bacterias dependen de las nanopartículas, es decir mayor sería la actividad cuanto mayor sean las nanopartículas.

Jesline, John, Neetu, (2015), Narayanan, Vani, Murugan y Sevanan (2015) en su artículo denominado “**Antimicrobial activity of zinc and titanium dioxide nanoparticles against biofilm producing methicillin resistant staphylococcus aureus**”, estudiaron un diseño para determinar la eficacia zinc y nanopartículas de dióxido de titanio contra biofilm de metilina resistente a *S. aureus*. La bio producción de película se detectó por el método de placa de cultivo de tejido. Las nanopartículas mostraron considerablemente buena actividad frente a los aislados, concluyendo buena acción como agentes antibacterianos prometedores, por mucho tiempo.

En el 2015, Sirelkhatim et al, en la investigación “**Revisión de nanopartículas de óxido de zinc: Actividad antibacteriana**” hace

referencia a la actividad antibacteriana que tienen las nanopartículas de óxido de zinc, los métodos utilizados para medir su evaluación, y la efectividad de las nanopartículas en función de sus propiedades como (tamaño, concentración, forma, y defectos), toma en cuenta la modificación superficial y la concentración mínima inhibitoria (CMI). El trabajo trata de explicar los posibles mecanismos bactericida y bacteriostático de las nanopartículas metálicas de óxido de zinc frente a los microorganismos.

Se prepararon suspensiones de nanopartículas a diferentes concentraciones y se determinaron sus características bajo diferentes técnicas como (difracción de rayos X (DRX), microscopio electrónico de barrido de emisiones de campo (FESEM), microscopio electrónico de transmisión (TEM), dispersivo de energía Espectroscopia de rayos X (EDX), imágenes de espectroscopia electrónica (ESI), etc. Las curvas de crecimiento se obtuvieron mediante el monitoreo de la densidad óptica (DO a una longitud de onda de 600 nm, la densidad bacteriana fue ajustada a un valor de 0.5 mediante los estándares de Mc Farland estándar. La tasa de inhibición varía según el tipo de microorganismo y el tamaño de nanopartículas utilizada.

Como conclusión, la actividad antibacteriana de las nanopartículas se ve influenciada por diferentes factores, como el efecto UV, tamaño, concentración, forma, superficie. La inducción para la generación intracelular de especies reactivas de oxígeno (ROS) pueden causar la muerte de los microorganismos y es una de las principales capacidades de las nanopartículas de óxido de zinc.

Elmi, et al, 2014, en su trabajo de investigación **“Uso de la actividad antibacteriana de las nanopartículas de ZnO en el tratamiento de aguas residuales municipales”** sintetizaron nanopartículas de óxido de zinc a través de dos métodos uno de ellos es el método mecano- químico y el otro es el método Sol- gel. En el primero de ellos se mezcla el acetato de zinc y el ácido oxálico en un mortero en una proporción estequiométrica de 2:3, (el acetato de zinc fue previamente secado a 20° durante 24 horas); y posteriormente calcinado por 30 minutos a 450 °C y caracterizado

posteriormente por el método de difracción de rayos X y microscopía electrónica (TEM).

Para el método del Sol -gel, se utilizó una solución etanólica de acetato de zinc (0.1 M) y después de estar en reflujo durante 3 horas a 80 °C, 0.2 L de esta se diluye con 0.5 L de etanol absoluto y se hidroliza con hidróxido de litio (0,14 M) en un baño de ultrasonido durante 1 hora. Las nanopartículas fueron caracterizadas por microscopía electrónica de barrido (SEM) y por (XRD). Las muestras de aguas residuales fueron recolectadas de dos estaciones diferentes clasificadas como estación 1 y estación 2. La muestra de la estación 1 fue tratada con cloro, y la muestra de la estación 2 fue tratada con UV. Se hicieron cultivos en agar nutriente con las muestras de agua, antes y después de ser tratada con cloro y UV, incubándose a 37 °C durante (24-48 h) luego las colonias se transfirieron sobre EMB (eosina azul de metileno) y se sometió a 37 °C durante 24h, reconociéndose bacterias Gram- Positivas y Gram -negativas.

Para la actividad antibacteriana de las nanopartículas de óxido de zinc se hicieron pruebas de difusión en disco. Las nanopartículas fueron esterilizadas previamente por radiaciones UV. Se tomaron 1.5×10^8 UFC/ ml de cada bacteria (*K. neumonía*, *E. coli*, *Proteus* y *S. epidermis*) y se rociaron sobre el medio Mueller-Hinton, después (5-10 min) y se le agregó 20 µl de nanopartículas de ZnO, con concentraciones que variaron entre (0.01-50 mM), y se dejó a 37 °C 24 h. El experimento se repite por triplicado. Se aplicó el método de micro dilución en caldo para evaluar el MIC. Después de 24 horas la solución estaba transparente y no tenía crecimiento bacteriano, también se evaluó el MBC considerándose el pocillo que tenía tres colonias. Como resultado final se deduce que, el tratamiento con nanopartículas de óxido de zinc puede ser un método para el tratamiento de aguas residuales o aplicarse como un método complementario.

Ramírez, Barrón, 2013, en su trabajo denominado **“Estudio del efecto antimicrobiano y citotóxicos de nanopartículas de óxido de zinc con y sin tratamiento superficial en nanocompuestos para uso médico”** realizó la obtención de las nanopartículas de óxido de zinc semiesféricas y

modificadas posteriormente con agentes químicos, sus propiedades antimicrobianas fueron evaluadas frente a diferentes bacterias. Para la síntesis de las nanopartículas de óxido de zinc, se mezcló 13.7 gramos de acetato de zinc con 600 ml de etanol, después de 2 horas a 37 °C en reflujo, fueron hidrolizados con 0,22 ml de NaOH, permaneciendo con agitación constante por 24 h, finalmente lavadas secadas a 60 °C por 24 h.

Las nanopartículas fueron modificadas con (dimetilsulfóxido y 3-aminopropiltietoxisilano) en una proporción 2:1. Para su caracterización se utilizaron las técnicas como (XRD), (FT-IR), (SEM). La actividad antibacteriana de las nanopartículas se probó de dos maneras, una de ellas fue la difusión en agar y la otra el método de microdilución en placa; la última permitió encontrar la concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima bactericida (CMB). Las bacterias utilizadas para determinar las propiedades antimicrobianas de las nanopartículas fueron: *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048, *Escherichia coli* ATCC 35218, *Klebsiella Oxytoca* ATCC 8724, *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 y *Streptococcus Pyogenes* ATCC 19615. Los resultados obtenidos con las nanopartículas modificadas y sin modificar demuestran que tienen efectividad antimicrobiana dependiendo del tipo de bacteria que se trate. Propiedades antimicrobianas en (*Enterobacter aerógenes*, *Escherichia coli*, *Klebsiella Oxytoca*, *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus Pyogenes*) y propiedades bacteriostáticas en (*Pseudomona aeruginosa*)

Noriega, Quintero, Guajardo, Morales y Campean, (2012), en el estudio **“Desinfección y purificación de aguas mediante nanopartículas metálicas y membranas compósitas”** investigaron la aplicación de las nanopartículas metálicas para desinfectar aguas, considerando su carácter biocida y las diferentes estructuras mixtas que pueden formarse con estas, para ampliar sus usos. En este trabajo se comparó el efecto bactericida de nanopartículas metálicas (nanopartículas de plata 14 nm, nanopartículas de plata 3,5 nm, nanocompósito de plata Ag-TiO₂, nanopartícula de óxido de

zinc, nanopartícula de cobre), teniendo en cuenta diferentes composiciones químicas del agua, contra dos tipos de microorganismos *E. coli* y *E. faecalis*. Las nanopartículas fueron caracterizadas por diferentes técnicas de microscopía electrónica (MET, DDL, espectroscopia-UV visible). Así mismo se determinó la concentración mínima inhibitoria y bactericida (CMI) y (CMB) respectivamente según la norma NCCLS-CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) N7A7, 2006, 26(2). Para el caso de las nanopartículas de óxido de zinc se mezclaron soluciones de ZnCl con NaOH estequiométricamente, obteniéndose 14,08 µg/ml de ZnCl de (0.0 01M). Desde el punto de vista bactericida se utilizó el método de la microdilución en placa NCCLS-CLSI N7 A7 Vol. 26 No. 2 (2006) para obtener la (CMI) y la (CMB), se utilizó una cepa Gram- negativa *E. coli* (ATCC 25922), y una cepa Gram- positiva *E. faecalis* (ATCC 29212) a una concentración de 10⁵ UFC/ml diluidas en caldo Mueller-Hinton, incubándose 24 horas a 37°, en dicho trabajo se observó que las nanopartículas que mayor satisfacción fueron las nanopartículas de óxido de plata a 14 nm que representa una (CMI) de 13,37 µg/ml para *E. coli* y 40,13 µg/ml para *E. faecalis*. Se concluye que el efecto bactericida de las nanopartículas fue mayor para las bacterias Gramnegativas y que a menor tamaño de estas, mayor será este efecto.

Meruvu, Vangalapati, Chippada, y Bammidi, (2011), en el artículo “**Síntesis y caracterización nanopartículas de óxido de zinc y su actividad antimicrobiana contra *Bacillus subtilis* y *Escherichia coli***” estudiaron la obtención de las nanopartículas de óxido de zinc por el método de precipitación química y caracterizarlas por los métodos de microscopía electrónica de barrido y difracción de rayos X, así mismo evaluar su

efecto microbicida los microorganismos *Bacillus subtilis* y *Escherichia coli*. Para la síntesis de las nanopartículas de óxido de zinc se mezcló en un matraz de tres bocas, polietilenglicol al 5% con acetato de zinc y carbonato de amonio después y agitar por 2 h a temperatura ambiente, se secó al vacío por 12 y posteriormente se calcina a 450°C. Las nanopartículas son sometidas a su caracterización. Las técnicas del TEM y difractómetro XRD. Para la actividad antimicrobiana se hicieron los cultivos de *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* en caldo de nutriente se mantuvo en agitación a 100 rpm durante 24 horas. La evaluación nanopartículas de óxido de zinc se hizo por el método de difusión en disco. En conclusión, las características detalladas muestran que la forma de las nanopartículas de óxido de zinc es de forma esférica cristalinas del tamaño de 30 nm, en cuanto a la actividad microbiana se observa que la zona de inhibición se incrementa, el aumento de la concentración de las nanopartículas y la disminución del tamaño de partícula aumenta la efectividad de imbibición.

2.1.2 Antecedentes nacionales

Ambrosio Huanay y Landa Chagua, 2025, desarrollaron el estudio titulado **“Evaluación de nanopartículas de óxido de zinc para la inhibición de coliformes totales en efluentes de plantas de tratamiento de aguas residuales municipales”**, con el objetivo de determinar el efecto de las nanopartículas de ZnO en la reducción de coliformes totales presentes en el punto de mezcla entre los efluentes municipales y el río Pucará, empleado para el riego de vegetales. La investigación, de tipo **experimental aplicada**, comprendió un monitoreo de cuatro meses para caracterizar el cuerpo receptor, obteniéndose una concentración promedio de 1983 NMP/100 mL. Posteriormente, se aplicaron tratamientos variando las concentraciones de nanopartículas (5, 10 y 20 g/L) y los tiempos de contacto (30, 60 y 120 minutos), evaluando la inhibición mediante la técnica del Número Más Probable. Los resultados mostraron que una dosis de 20 g/L con un tiempo de 120 minutos alcanzó una eliminación del 99,82 %, evidenciando una alta eficiencia antibacteriana. Las imágenes por microscopía electrónica de barrido

(SEM) revelaron la ruptura de la membrana celular y la extrusión del citoplasma, atribuibles a interacciones electrostáticas, liberación de iones Zn^{2+} y formación de especies reactivas de oxígeno. En conclusión, se determinó que la concentración de nanopartículas y el tiempo de contacto influyen significativamente en la inhibición de coliformes totales en aguas residuales.

Arroyo Clemente y Huánuco García, 2024 realizaron la investigación titulada **“Evaluación de la concentración de nanopartículas de ZnO para la inactivación de las bacterias E. coli en aguas residuales”**, cuyo objetivo fue determinar la concentración óptima de nanopartículas de óxido de zinc (NPs-ZnO) para lograr la inactivación de *Escherichia coli* en aguas residuales. Este estudio, de enfoque cuantitativo y aplicado, se ejecutó mediante ensayos experimentales en laboratorio, aplicando los métodos McFarland y Halo de Inhibición. En el primer método se trabajó con distintas concentraciones iniciales de *E. coli* (6×10^8 , $1,8 \times 10^9$ y $2,4 \times 10^9$ UFC/mL) y tres concentraciones de NPs-ZnO (10, 20 y 40 mg/L), alcanzándose la mayor inactivación a 40 mg/L con una reducción bacteriana de $1,8 \times 10^9$ a 3×10^8 UFC/mL. En el método de Halo de Inhibición, manteniendo una concentración constante de *E. coli* de $1,8 \times 10^9$ UFC/mL, se obtuvo un diámetro máximo de inhibición de 11,84 mm a 40 mg/L. Los resultados demostraron que a mayor concentración de nanopartículas se logra una mayor eficiencia en la eliminación de *E. coli*, y que la aplicación de dicha concentración óptima en aguas residuales domésticas permitió una inactivación favorable, confirmando la efectividad del tratamiento.

Calderón Esquivel y Esteban Condor, 2022, en su estudio **denominado “Evaluación de la Concentración de E. Coli y el Tiempo de Contacto con Nanopartículas de ZnO opciones y en la Desinfección de Bacterias”**, Se evaluó la inhibición de *E. Coli* en aguas residuales municipales utilizando nanopartículas de óxido de zinc (ZnO) como desinfectante alternativo. Se probaron concentraciones de ZnO de 10 mg, 20 mg y 40 mg con tiempos de contacto de 0 a 24 horas. Las nanopartículas, caracterizadas mediante

Dispersión de Luz Dinámica, presentaron un diámetro medio de 22,1 nm. Las muestras se tomaron de la planta de tratamiento de aguas residuales del distrito de Sicaya, las cuales contenían una concentración inicial de $1,80\text{E}+09$ UFC/100 mL de *E. Coli*, excediendo el límite máximo permitido de 0 UFC/100 mL según la normativa DS N° 031-2010-SA.

El estudio empleó dos métodos para evaluar la inhibición de *E. Coli*: el método de distancia de inhibición y el método de Mc Farland. No se observó inhibición de microorganismos con 10 mg de ZnO, ya que los iones de zinc fueron utilizados por las bacterias en sus procesos celulares sin ser tóxicos. Sin embargo, con 40 mg de ZnO y un tiempo de contacto de 24 horas, se alcanzó la mayor inhibición, reduciendo la concentración de *E. Coli* a $9,00\text{E}+08$ UFC/100 mL y logrando una distancia de inhibición de 11,55 mm.

Estos resultados sugieren que la efectividad de las nanopartículas de ZnO depende tanto de la concentración como del tiempo de contacto, posicionándolas como una alternativa potencial al uso de cloro en la desinfección de aguas residuales. (Calderón Esquivel y Esteban Condor , 2022).

Zavaleta Espejo Gina et.al., 2019, en su artículo **“Efecto antibacteriano de nanopartículas de ZnO sobre *Staphylococcus aureus* y *Salmonella typhi*”** evaluaron el efecto antibacteriano de nanopartículas de óxido de zinc (ZnO) obtenidas mediante el método sol-gel modificado, en *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Salmonella typhi*, utilizando el método de Kirby-Bauer modificado con hoyos en lugar de discos. Se probaron concentraciones de ZnO (0.4, 0.8, 1.2, 1.6, 2.0 mg/ml) en soluciones acuosas de PEG 6000 (100 mg/ml). Los resultados mostraron que el aumento de la concentración de ZnO incrementó el efecto antibacteriano. Se observó el mayor halo de inhibición en *S. aureus* (14.78 mm) con 2.0 mg/ml, mientras que en *S. typhi* fue de 11.01 mm a la misma concentración. Este efecto se atribuye a la generación de radicales libres (ROS) que dañan proteínas y lípidos de la membrana celular bacteriana. Se concluyó que las nanopartículas de ZnO podrían ser una alternativa eficaz contra infecciones bacterianas.

Cabrera Castro Lucero Marita y González Martell Pedro Jerih, 2017, en su trabajo titulado **“Efecto de diferentes concentraciones de nanopartículas de Óxido de Zinc sobre la concentración mínima Inhibitoria y concentración mínima bactericida en bacterias Gram positivas y Gram negativas”**, se evaluó el efecto de nanopartículas de óxido de zinc (ZnO) en la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y la Concentración Mínima Bactericida (CMB) en *Escherichia coli*, *Salmonella entérica*, *Enterococcus faecalis* y *Staphylococcus aureus*. Se utilizó el método de microdilución y siembra en agar. Los resultados mostraron actividad bactericida en *S. aureus* (CMI: 0.4 mg/ml, CMB: 0.7 mg/ml), *S. entérica* (CMI: 0.45 mg/ml, CMB: 0.75 mg/ml) y *E. coli* (CMI: 0.6 mg/ml, CMB: 1.1 mg/ml). No se observó efecto en *E. faecalis*. Se concluyó que las nanopartículas de ZnO son efectivas contra ciertas bacterias patógenas.

2.2 Bases teóricas

2.2.1 Agua residual

De acuerdo con Almuktar, Abed y Scholz (2018, como se citó en Fahad et al., 2019), las aguas residuales corresponden a todas aquellas que han sido alteradas por actividades humanas, incluyendo descargas domésticas, industriales, agrícolas, escurrimientos superficiales, precipitaciones e infiltraciones de sistemas cloacales. Estas aguas requieren un monitoreo estricto debido a su composición heterogénea, que combina compuestos orgánicos e inorgánicos con potencial impacto ambiental, tal como señala la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO, 2003, como se citó en Fahad et al., 2019). Además, Yuhua et al. (2018, como se citó en Fahad et al., 2019) enfatizan que los métodos de tratamiento deben adaptarse según las características específicas de cada tipo de agua residual.

El tratamiento de las aguas residuales tiene como objetivo reducir la concentración de contaminantes a niveles que no representen riesgo para la salud pública ni el ambiente. En este sentido, las tecnologías convencionales de tratamiento incluyen procesos físicos, químicos y biológicos. Sin embargo, la eficiencia de dichos métodos puede verse limitada frente a contaminantes emergentes o microorganismos resistentes, lo cual ha impulsado el desarrollo de tecnologías avanzadas, entre ellas, la aplicación de nanopartículas metálicas como agentes desinfectantes y catalíticos.

2.2.2 Agua residual doméstica

Las aguas residuales domésticas, según Fahad et al. (2019), provienen de las actividades cotidianas realizadas en los hogares, tales como el aseo personal, la preparación de alimentos, el lavado de ropa y utensilios, así como la evacuación de excretas humanas. Aunque su carga contaminante es menor comparada con otras fuentes, su manejo inadecuado puede afectar la salud humana y los ecosistemas. Estos desechos se componen principalmente de residuos de origen humano, los cuales son transportados hacia los sistemas de alcantarillado a través de las descargas generadas por las instalaciones hidrosanitarias de las construcciones, así como de aquellos provenientes de locales comerciales, espacios públicos y otros análogos (Mara, 1990, citado por Díaz Cuenca et.al., 2012). (véase tabla 2 y tabla 3).

Estas aguas se clasifican en dos tipos: “aguas grises”, provenientes de lavabos, lavadoras y duchas, y “aguas negras”, originadas en inodoros y desagües sanitarios. Los autores destacan que un sistema de tratamiento eficiente reduce significativamente la contaminación de cuerpos hídricos superficiales y subterráneos (Fahad et al., 2019), (véase figura1).

La caracterización de las aguas residuales domésticas permite evaluar parámetros como la demanda bioquímica de oxígeno (DBO_5), la demanda química de oxígeno (DQO), el carbono orgánico total (COT), el pH y la

turbidez. Dichos indicadores reflejan la carga orgánica y el potencial de contaminación del efluente (Metcalf & Eddy, 2014). En general, un efluente doméstico no tratado puede presentar valores de DQO entre 400 y 600 mg/L, DBO₅ de 200 a 300 mg/L y concentraciones de sólidos suspendidos totales de 150 a 350 mg/L.

En las aguas residuales domésticas típicas, aproximadamente el 75% de los sólidos en suspensión y cerca del 40% de los sólidos filtrables tienen origen orgánico. Estos compuestos suelen estar constituidos principalmente por carbono, hidrógeno y oxígeno, aunque en algunos casos también contienen nitrógeno.

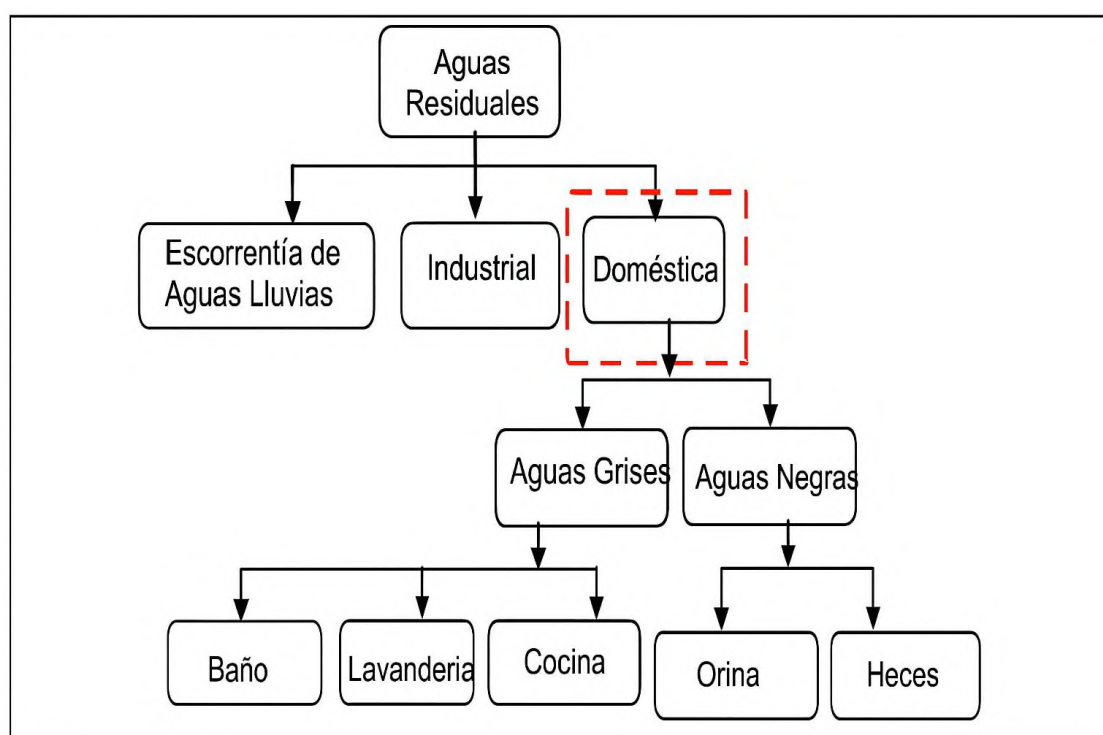


Figura 1. Tipos de agua residuales. Fuente. Adaptado de Fahad, Saphira Mohamed et al 2019, "Wastewater types- Wastewater Treatment Techniques". Fahad et al (2019, p. 3)

Además, suelen incluir elementos como azufre, fósforo, hierro, entre otros. Por otro lado, los materiales orgánicos más comunes presentes en estas aguas son las proteínas (que representan entre el 40% y 60% del total), los carbohidratos (con un 25% a 50%) y las grasas o aceites (alrededor del 10%).

Cabe destacar que no podemos olvidar la presencia de orina (urea) como componente orgánico relevante, así como ciertos agentes tensoactivos, fenoles y residuos de pesticidas que pueden encontrarse en menor medida. (Metcalf y Eddy, 1995). (ver tabla 3)

Tabla 2

Composición típica de las aguas residuales domésticas no tratadas

Fuente. Adaptado de “Typical composition of untreated domestic wastewater- Wastewater and its Treatment Techniques”. Fahad et al (2019, p. 4).

Contaminants	Concentration (mg L ⁻¹)		
	Weak	Medium	Strong
Total Dissolved (TDS)	250	500	850
Fixed	145	300	525
Volatile	105	200	325
Total Solids (TS)	350	720	1200
Suspended Solids (SS)	100	220	350
Fixed	20	55	75
Volatile	80	165	275
Total Organic Carbon (TOC)	80	160	290
BOD ₅ at 20° C	110	220	400
Nitrogen (total as N)	20	40	85
Chemical Oxygen Demand (COD)	250	500	1000
Organic	8	15	35
Phosphorus (P)	4	8	15
Free ammonia	12	25	50
Inorganic	3	5	10
Alkalinity (as CaCO ₃)	50	100	200
Sulfate	20	30	50
Volatile organic compounds (VOCs)	<100	100-400	>400
Grease	50	100	150

Tabla 3

Componentes de las aguas residuales domésticas

Fuente. Adatado de Fahad, Saphira Mohamed et al 2019 – “Constituents in domestic wastewater- Wastewater and its Treatment Techniques”. Fahad et al (2019, p. 3).

Constituent	Concentration	Effect on Environment
Biodegradable Organic Materials	Oxygen diminution in lakes and rivers	Odour and Deaths of Fish
Microorganisms	Pathogenic bacteria, worms' eggs and virus.	Hazardous during bathing and eating shellfish
Nutrients	Phosphorus, Nitrogen, Ammonium	Oxygen depletion, Eutrophication, poisonous influence
Additional Organic Materials	Pesticides, Detergents, Oil & Grease, Fat, Coloring, Phenols, Solvents and Cyanide	Bioaccumulation in the food chain, Aesthetic awkwardness and Toxic result
Additional In-Organic Materials	Acids (Sulphide, Hydrogen)	Toxic and Corrosion.
Metals	Ni, Cu, Cr, Cd, Pb and Hg.	Bioaccumulation and Toxic Result.
Taste and Odour	Hydrogen sulphide	Toxic Result and Aesthetic awkwardness.
Thermal effects	Hot water	Fluctuating the living situations for fauna and flora.
Radioactivity		Accumulation and Toxic effect.

Cabe destacar que no podemos olvidar la presencia de orina (urea) como componente orgánico relevante, así como ciertos agentes tensoactivos, fenoles y residuos de pesticidas que pueden encontrarse en menor medida. (Metcalf y Eddy, 1995). (véase tabla 4)

La elevada carga microbiana presente en las aguas residuales domésticas constituye un riesgo sanitario cuando son vertidas sin tratamiento a ríos o lagunas. Por ello, resulta necesario implementar métodos de desinfección eficientes, entre los cuales las nanopartículas de óxido de zinc (ZnO) se han postulado como una alternativa innovadora, sostenible y económica frente a los desinfectantes tradicionales como el cloro o el ozono (Padmavathy & Vijayaraghavan, 2008).

2.2.3 Agua residual sintética

El uso de aguas residuales crudas en investigaciones presenta diversos inconvenientes, como el traslado de muestras al laboratorio y los riesgos asociados a su manipulación. Debido a esto, varios investigadores han optado por emplear aguas residuales sintéticas, las cuales pueden replicar las características de las aguas residuales reales y son elaboradas en condiciones controladas de laboratorio (Martínez-Santacruz et al., 2016; citado por Omonte Méndez et al., 2020).

En nuestro país, no existe una normativa específica para la preparación de agua residual sintética de origen doméstico. No obstante, en este caso, se tomará como referencia la normativa técnica peruana establecida en el Decreto Supremo 003-2010-MINAM, que regula los límites máximos permisibles para los efluentes de plantas de tratamiento de aguas residuales municipales. Además, se considerarán tasas de remoción típicas de diversos parámetros, como la demanda bioquímica de oxígeno (DBO5), la demanda química de oxígeno (DQO), los sólidos suspendidos totales, las grasas y otros

contaminantes comunes en sistemas de tratamiento de aguas residuales, información que se encuentra en documentos técnicos.

2.2.4 Coliformes fecales y *Escherichia coli*

El grupo de bacterias coliformes comprende a microorganismos aeróbicos o anaeróbicos facultativos, gramnegativos, con capacidad de fermentar la lactosa y producir gas a 35–37 °C. Entre ellos se encuentra la *Escherichia coli*, considerada como el principal indicador de contaminación fecal, debido a su presencia habitual en el intestino de animales de sangre caliente y su fácil detección en laboratorio (Tortora, Funke & Case, 2019).

La *E. coli* es una bacteria bacilar que se reproduce rápidamente en medios con nutrientes orgánicos, lo que la convierte en un organismo representativo para evaluar la eficiencia de procesos de desinfección y tratamiento de aguas residuales. Algunas cepas patógenas de *E. coli* pueden causar enfermedades gastrointestinales, infecciones urinarias y otras afecciones, por lo que su eliminación en los efluentes constituye un objetivo esencial de los sistemas de tratamiento (World Health Organization. (2022)).

Los métodos convencionales para la inactivación de bacterias incluyen la cloración, la ozonización, la radiación ultravioleta y la filtración, aunque presentan limitaciones asociadas a la formación de subproductos tóxicos o altos costos operativos. En este contexto, la aplicación de nanopartículas metálicas, como las de óxido de zinc, se presenta como una alternativa prometedora debido a su acción antimicrobiana eficiente y su bajo impacto ambiental (Reddy et al., 2014).

2.2.5 Óxido de zinc

2.2.5.1 Características del Óxido de Zinc.

El óxido de zinc (ZnO) es un compuesto inorgánico con la fórmula química ZnO. Este compuesto es un polvo blanco insoluble en agua y se utiliza ampliamente como aditivo en diversos materiales y productos, incluyendo caucho, plásticos, cerámicas, vidrio, cemento y lubricantes (Hernández et al.,

2008, pp. 422-428). Además, se encuentra en pinturas, ungüentos, adhesivos, selladores, pigmentos, alimentos, baterías, ferritas, retardadores de fuego y cintas de primeros auxilios. Aunque el óxido de zinc se encuentra de forma natural en el mineral cincita, la mayoría se produce sintéticamente (Liedekerke, 2006, p. 56).

El ZnO es un semiconductor del grupo II-VI. La adición de impurezas para modular sus propiedades eléctricas (doping) nativo del semiconductor, debido a las vacantes de oxígeno o intersticiales de zinc, es de tipo n. Este semiconductor posee diversas propiedades favorables, incluyendo buena transparencia, alta movilidad de electrones, un amplio rango de energía donde no existen estados electrónicos (bandgap), y fuerte luminiscencia a temperatura ambiente.

Estas propiedades son importantes para aplicaciones emergentes como electrodos transparentes en dispositivos de cristal líquido, ventanas ahorradoras de energía o protectoras del calor, y electrónicos como transistores de película delgada y diodos emisores de luz (Özgür et al., 2005, p. 68).

En el ámbito ambiental, las nanopartículas de ZnO actúan como agentes antibacterianos y fotocatalizadores capaces de degradar contaminantes orgánicos y eliminar microorganismos. Su efectividad depende de factores como el tamaño de partícula, la morfología, la concentración, el pH del medio y el tiempo de exposición (Sirelkhatim et al., 2015).

Tabla 4

Composición típica del agua residual domestica bruta

Fuente. Adatado de, "Ingeniería de aguas residuales tratamiento". Metcalf y Eddy (1995)

CARACTERISTICAS DE LAS AGUAS RESIDUALES TIPICAS DOMESTICAS			
PARAMETROS (mg/lt.)	FUERTE	MEDIA	DEBIL
Sólidos en Total	1200	700	350
Disueltos en Total	850	500	250
Fijos	525	300	145
Volátiles	325	200	105
Suspendidos en total	360	200	100
Fijos	75	50	30
Volátiles	275	150	70
Solidos Sedimentables (ml/lt)	20	10	5
D.B.O. (5).20 Grados Centígrados	300	200	100
Carbono Inorgánicos Total (C.O.T)	300	200	100
Demanda Química de Oxigeno (D.Q.O)	1000	500	250
Nitrógeno total	85	40	20
Nitrógeno Orgánico	35	15	8
Amoniaco libre	50	25	12
Fosfato Total	20	10	6
Fosforo Orgánico	5	3	2
Fosforo Inorgánico	15	7	4
Cloruros	100	50	30
Alcalinidad (CaCO ₃)	200	100	60
	150	100	60

2.2.5.2 Propiedades del Óxido de Zinc.

2.2.5.2.1 Propiedades Físicas.

El óxido de zinc cristaliza en dos estructuras principales: wurtzita hexagonal y blenda de cinc cúbica. En condiciones normales, la estructura wurtzita es la más estable y, por lo tanto, la predominante. Sin embargo, la blenda de cinc puede estabilizarse en determinados sustratos cúbicos. En ambas estructuras, los iones de zinc y oxígeno adoptan una configuración tetraédrica, la más común en compuestos de Zn (II). A presiones superiores a los 10 GPa, el ZnO se transforma en una estructura de tipo sal de roca (Özgür et al., 2005, p. 3).

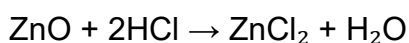
Klingshim (2007) señala que el ZnO, como otros materiales del grupo II-VI, presenta un enlace químico predominantemente iónico ($\text{Zn}^{2+} \text{O}^{2-}$) con radios correspondientes de 0,074 nm para el Zn^{2+} y 0,140 nm para el O^{2-} . Esta propiedad favorece la formación de la estructura wurtzita en lugar de la blenda de cinc (pp.9 -10).

Baruah, Najam y Dutta (2016) añaden que el ZnO presenta una fuerte piezoelectricidad. Debido a la polaridad de los enlaces Zn-O, sus superficies son atómicamente planas, estables y no presentan reconstrucción, lo que lo diferencia de otros materiales y sigue siendo un fenómeno no completamente explicado (p. 14).

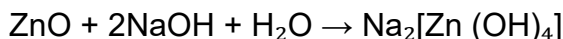
2.2.5.2.2 Propiedades Químicas.

El ZnO puro es un polvo blanco que en la naturaleza se encuentra en el mineral cincita, el cual puede contener impurezas como manganeso que le confieren tonalidades amarillas o rojizas (Klingshirn, 2007, pp. 782-803).

Este compuesto es un óxido anfótero, insoluble en agua, pero soluble en ácidos como el clorhídrico, según la reacción:



En presencia de bases, el ZnO genera zincatos solubles:



El ZnO también reacciona con ácidos grasos y aceites, formando carboxilatos como el estearato y el oleato de zinc. Cuando se mezcla con soluciones acuosas concentradas de cloruro de zinc, se obtienen hidroxiclорuros de zinc, empleados en la fabricación de cementos especiales (Nicholson & Parker, 1998, pp. 2251-2254). El principal producto de la reacción para la formación de cemento de fosfato de zinc es la hopeita ($\text{Zn}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) (Park, Silsbee & Roy, 1998a).

2.2.6 Nanotecnología.

Sahoo (citado en Sirelkhatim et al., 2015) menciona que la nanotecnología es un campo de investigación relevante en la ciencia de materiales, con aplicaciones innovadoras en sectores como textiles, procesamiento de alimentos, agricultura y medicina. La nanotecnología se considera como la síntesis, caracterización y exploración de materiales en la región nanométrica (1-100 nm), en este nivel se definen las propiedades y funciones de los sistemas vivos y antropogénicos (Yadao, citado en Miao et al., 2007).

Pal, Tak y Song (2007) sostienen que los materiales en la nanoescala exhiben propiedades fisicoquímicas y biológicas novedosas, así como fenómenos particulares asociados a su tamaño reducido (p. 1). Las nanopartículas (NPs) son estructuras a nivel atómico con dimensiones de 1 a 100 nm. Sus propiedades varían significativamente respecto a los materiales convencionales (Buzea et al., 2007, p.).

Rasmussen, Martínez y Louka (2010) subrayan que las NPs de ZnO, TiO_2 y plata poseen características que dependen de su tamaño, composición, cristalinidad y morfología. La reducción de tamaño altera sus propiedades mecánicas, químicas, estructurales y ópticas, permitiendo interacciones

singulares con biomoléculas celulares y facilitando su ingreso a estructuras celulares internas (pp. 1063-1077).

La síntesis de nanopartículas de óxido de zinc (ZnO) ha despertado gran interés en la investigación debido a su potencial como agente antibacteriano. Estas partículas exhiben propiedades antibacterianas y antifúngicas notables, así como una elevada actividad catalítica fotoquímica. Además, el ZnO presenta una significativa absorción óptica en las regiones UVA (315-400 nm) y UVB (280-315 nm), lo que resulta altamente beneficioso (Song et al., 2010, p. 3).

En este mismo contexto, Wahab et al. (2014) resaltan que diversas nanoestructuras, incluyendo nanocables, nanoplacas y nanorods, juegan un papel crucial en la actividad antibacteriana, ya que cada morfología responde a un mecanismo de acción específico. Esto ha motivado a numerosos investigadores a desarrollar nanoestructuras de ZnO con configuraciones óptimas para pruebas antibacterianas, logrando morfologías altamente compatibles con dicha actividad (pp. 267-276).

2.2.7 Nanoestructuras de óxido de zinc.

Según Baruah y Dutta (2009), el ZnO puede ser sintetizado en diversas morfologías como nanocables, nanobastones, tetrápodos, nanocintas, nanoflores y nanopartículas. Dichas nanoestructuras pueden obtenerse a través de múltiples métodos de síntesis, bajo condiciones específicas, incluyendo el método vapor-líquido-sólido (p. 10).

Por su parte, Xu y Wang (2011) señalan que los métodos acuosos permiten la producción de nanoestructuras en forma de barras de ZnO de manera económica, escalable y ecológica. Estos procesos se realizan a temperaturas relativamente bajas, lo que los hace compatibles con sustratos orgánicos flexibles. Además, no requieren catalizadores metálicos, lo que facilita su integración con tecnologías de silicio avanzadas. Existen diversos parámetros ajustables que permiten controlar con precisión la morfología y propiedades finales del producto, siendo los métodos químicos húmedos una técnica versátil y efectiva para la obtención de nanoestructuras de ZnO (pp. 1013-

1098). Fallahzadeh y Saghaei (2016) indican que la morfología de estas nanoestructuras puede ajustarse modificando factores como la concentración de zinc y el pH del precursor, la temperatura y la tasa de calentamiento en los tratamientos térmicos, o mediante procesos de tratamiento con vapor (pp. 2-4).

2.2.8 Actividad Antibacteriana.

Fu et al. (2005) describen que las bacterias poseen una estructura celular compuesta por una membrana citoplasmática, una pared celular y un citoplasma. La pared celular está formada predominantemente por una capa homogénea de peptidoglicano, constituida por aminoácidos y azúcares. Su función principal es mantener la presión osmótica del citoplasma y la morfología celular. En las bacterias grampositivas, la membrana citoplasmática está recubierta por múltiples capas de peptidoglicano (pp. 1-4).

Por otro lado, Wahab et al. (2010) explican que las bacterias gramnegativas poseen una pared celular más delgada (7-8 nm de grosor), compuesta por dos membranas: una externa y otra plasmática, separadas por una capa reducida de peptidoglicano. En este contexto, las nanopartículas de ZnO dentro de ciertos rangos de tamaño pueden atravesar la capa de peptidoglicano, lo que las hace altamente eficaces en la destrucción bacteriana (pp. 1675-1681).

Premanathan, Karthikeyan, Jeyasubramanian y Manivannan (2011) establecen que un agente antibacteriano puede ser clasificado como bactericida si elimina las bacterias, o bacteriostático si solo inhibe su crecimiento. Para evaluar su efectividad in vitro, se emplean distintos métodos como la difusión, la dilución en caldo o agar, y el método de micro titulación en placa (pp. 184-192).

Las suspensiones de nanopartículas de ZnO suelen prepararse en distintas concentraciones y caracterizarse mediante técnicas avanzadas como difracción de rayos X (DRX), microscopía electrónica de barrido de emisión de campo (FESEM), microscopía electrónica de transmisión (TEM) y

espectroscopia de dispersión de energía (EDX), entre otras. Estos análisis permiten correlacionar la respuesta antibacteriana con las propiedades del ZnO (Sirelkhatim et al., 2015, p. 224).

2.2.8.1 Mecanismos de acción antibacteriana de las nanopartículas de ZnO

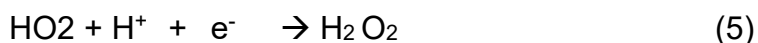
Zhang, Jiang, Ding, Povey y York (2007) mencionan que el análisis de los cambios morfológicos bacterianos inducidos por ZnO se ha realizado mediante SEM y FESEM, lo que ha permitido cuantificar distintos mecanismos de acción. Sin embargo, el mecanismo exacto de toxicidad aún es tema de debate, ya que se han propuesto diversas teorías, entre ellas la interacción directa de las nanopartículas con la pared celular bacteriana, lo que provoca su destrucción (pp. 479-489).

2.2.8.2 Generación de Especies Reactivas de Oxígeno (ROS):

Diversos estudios han demostrado que las nanopartículas de óxido de zinc poseen una potente actividad antibacteriana frente a una amplia gama de microorganismos, incluyendo bacterias grampositivas y gramnegativas. Los mecanismos de acción propuestos para explicar esta actividad son múltiples y pueden actuar de manera simultánea o sinérgica (Sirelkhatim et al., 2015).

Según Zhang, Lv, Li, Wang y Li (2009) destacan que la toxicidad de los ROS para las bacterias se atribuye a su alta reactividad y propiedad oxidante (pp. 380-386). Así mismo, se ha reportado que las suspensiones acuáticas de ZnO-NPs producen un aumento en el nivel de ROS. Numerosos estudios han considerado la generación de ROS como la principal causa de nanotoxicidad (Adams, Lyon & Álvarez, 2006, pp. 3527-3532). Los investigadores mencionados expresaron el ROS generado según las siguientes reacciones:





Xie, He, Irwin, Jin y Shi (2011) explican que los superóxidos y radicales hidroxilos no pueden atravesar la membrana celular debido a su carga negativa. No obstante, las moléculas de peróxido de hidrógeno (H_2O_2) sí pueden penetrarla, lo que genera daños irreversibles y conduce a la muerte celular (pp. 2325-2331).

2.2.8.3 Liberación de Iones de Zinc+.2

Yang, Liu, Yang, Zhang y Zhuge (2008) indican que los iones Zn^{2+} liberados pueden interferir en el transporte activo, afectar el metabolismo de los aminoácidos y alterar los sistemas enzimáticos. Se ha sugerido que la toxicidad de ZnO está relacionada con la disolución de las nanopartículas y la liberación de Zn^{2+} , lo que depende del tamaño de las partículas. Así, la ingeniería de nanoestructuras permite modificar su toxicidad manipulando la tasa de disolución (pp. 69-78).

2.2.9 Otros Mecanismos Probables.

Yamamoto, Komatsu, Sawai y Nakagawua (2004) afirman que la actividad antibacteriana del ZnO está influenciada por el tamaño de las partículas, la química superficial y la funcionalización. Estudios han determinado que un pH neutro (7.5) no afecta la actividad antibacteriana en ausencia de luz (pp. 847-851). Mientras tanto, Sawai et al. (1998) observaron que no se detecta actividad antibacteriana en un rango de pH de 5.5 a 8.0 (pp. 521-522). Finalmente, Stankovic, Dimitrijevic y Uskokovic (2012) demostraron que modificar el pH inicial de la solución de 8 a 12 cambia la morfología de las estructuras de microbarras a nanoesferas, lo que mejora su efecto bacteriostático (p. 62).

2.2.10 Análisis de turbidez y su relación con la medición del Crecimiento de *Escherichia coli*

2.2.10.1 Principios de la Espectrofotometría y Turbidimetría en *E. coli*

La evaluación del crecimiento bacteriano mediante turbidimetría se fundamenta en la capacidad de las células de *Escherichia coli* para dispersar la radiación electromagnética. Al emplear una longitud de onda de 600 nm (OD600), se minimiza la absorción de luz por parte de los componentes típicos de los medios de cultivo, permitiendo que la densidad óptica registrada sea una función directa de la concentración celular en suspensión (Serna Ramírez, 2025). Dado que el tamaño de las células de *E. coli* es comparable a la longitud de onda de 600 nm, estas no generan sombras obstructivas, lo que garantiza que la lectura de la turbidez refleje fielmente el incremento de la biomasa durante el proceso de incubación (Wang, 2024).

2.2.10.2 Cinética de Crecimiento y su Relación con la Densidad Óptica (OD600)

El seguimiento de la cinética de crecimiento de *E. coli* mediante el parámetro OD600 permite una caracterización precisa de las fases de desarrollo microbiano en tiempo real. Este método es ampliamente aceptado debido a que la tasa de crecimiento calculada a través de la densidad óptica muestra una equivalencia significativa con los métodos directos de recuento de unidades formadoras de colonias (UFC/mL), especialmente durante la fase logarítmica (Mira, 2022). De esta manera, el monitoreo sistemático a intervalos regulares de la OD600 facilita la construcción de curvas de crecimiento que son esenciales para evaluar el impacto de variables ambientales o inhibidores sobre el microorganismo (Hwang, 2023).

2.2.10.3 Validación y Estandarización del Método Turbidimétrico

A pesar de la eficiencia del método, la relación entre la turbidez y la densidad celular real puede variar según la instrumentación y las condiciones experimentales. Por ello, la literatura científica enfatiza la necesidad de calibrar el sistema para correlacionar los valores de OD600 con la

concentración bacteriana específica del estudio (Riverón-Rodríguez, 2012). En investigaciones con *E. coli*, la densidad óptica obtenida a 600 nm se utiliza frecuentemente para estandarizar el inóculo inicial, asegurando que los experimentos mantengan una reproducibilidad técnica adecuada (Limoës, 2018).

2.3 Marco Conceptual

Absorbancia: Magnitud física que expresa la cantidad de intensidad radiante que una sustancia retiene al ser atravesada por un haz de luz. En la presente investigación, se utiliza la densidad óptica a una longitud de onda de 600 nm (OD_{600}) como un parámetro indirecto para cuantificar la densidad de la población bacteriana y monitorear su evolución cinética (Harris, 2010).

Agua Residual Sintética Doméstica (ARSD): Solución acuosa formulada en laboratorio que emula las propiedades fisicoquímicas, la carga orgánica y el balance de nutrientes de los efluentes urbanos reales. Bajo el protocolo estandarizado OECD 303A, su empleo permite asegurar que los ensayos de toxicidad de nanopartículas sean reproducibles y controlados (OECD, 2001).

Análisis de Varianza (ANOVA): Técnica estadística inferencial utilizada para contrastar si existen diferencias significativas entre las medias de tres o más grupos experimentales (por ejemplo, diferentes concentraciones de NPs). Su aplicación permite determinar si el efecto observado es producto del tratamiento o del azar (Cai et al., 2025).

Biodisponibilidad: Grado y velocidad con que una forma específica de un metal (en este caso, el zinc) se encuentra disponible en el medio para interactuar con la membrana celular o ingresar al citoplasma bacteriano, ejerciendo así un efecto biológico medible (Wątył et al., 2016).

Biomasa: Cantidad total de materia orgánica viva presente en el sistema al concluir el periodo de incubación. En este estudio, se evalúa mediante la cuantificación del peso celular seco para determinar el impacto de las NPs de ZnO en el rendimiento del crecimiento de *E. coli* (Madigan et al., 2018).

Coeficiente de Correlación de Pearson: Índice estadístico que cuantifica la fuerza y la dirección de la relación lineal entre dos variables continuas. En este estudio, se emplea para asociar la concentración de nanopartículas con la tasa de inhibición bacteriana (Snousy et al., 2023).

Concentración Mínima Bactericida (CMB): Nivel más bajo de un agente antimicrobiano que logra la eliminación del 99.9% de una población bacteriana inicial bajo condiciones de ensayo específicas. Este parámetro es fundamental para establecer el carácter letal de las nanopartículas frente a los microorganismos (Noriega-Treviño et al., 2012).

Concentración Mínima Inhibitoria (CMI): Concentración más reducida de un agente que impide el crecimiento macroscópico de una cepa bacteriana tras un tiempo de exposición determinado. Se emplea habitualmente para comparar la efectividad de diferentes nanomateriales in vitro (Noriega-Treviño et al., 2012).

Contaminación bacteriana: Presencia indeseada de microorganismos patógenos o indicadores fecales (como coliformes o *E. coli*) en una matriz acuosa o ambiental, la cual se determina mediante técnicas de recuento y cultivo microbiológico.

Desinfección del agua: Procedimiento técnico orientado a la eliminación o inactivación de agentes biológicos patógenos mediante el uso de sustancias químicas o métodos físicos, asegurando que el recurso hídrico sea apto para su destino final (Noriega-Treviño et al., 2012).

Desviación Estándar: Medida de dispersión que indica cuánto se alejan los datos individuales respecto a la media aritmética. Un valor bajo sugiere

que los resultados de las réplicas experimentales son precisos y consistentes (Jackson et al., 2025).

Diseño Experimental: Estructura lógica que permite organizar las pruebas de laboratorio de manera que se minimice el error experimental y se maximice la validez de las conclusiones. Suele involucrar la definición de variables independientes, dependientes y de control (Pulido-Reyes, 2022).

Difracción de Rayos X (DRX): Técnica analítica que aprovecha la interferencia de la radiación X con la red atómica de un material sólido. Esencial para confirmar la fase cristalina (por ejemplo, wurzita en ZnO) y estimar el tamaño promedio de los cristallitos en el nanomaterial (Colonia, 2013).

Dispersión Dinámica de Luz (DLS): Método que analiza las fluctuaciones de intensidad de la luz causadas por el movimiento browniano de las partículas en suspensión. Se utiliza para determinar el diámetro hidrodinámico y evaluar la estabilidad coloidal o agregación de las NPs (Cuadros Moreno et al., 2014).

Efecto bactericida: Acción irreversible de un agente externo que deriva en la pérdida de viabilidad y muerte de las células bacterianas, reduciendo de forma definitiva la densidad poblacional del sistema (Noriega-Treviño et al., 2012).

Efecto bacteriostático: Capacidad de una sustancia para detener el crecimiento y la división celular bacteriana sin causar la muerte inmediata del organismo, permitiendo la reactivación del crecimiento si el agente es retirado (Noriega-Treviño et al., 2012).

Escherichia coli: Bacilo Gramnegativo ampliamente utilizado como organismo modelo en ecotoxicología. Su versatilidad y conocimiento genético permiten evaluar con precisión la respuesta biológica frente al estrés inducido por nanopartículas metálicas (Rihacek et al., 2023).

Espectroscopía UV-VIS: Técnica que registra la interacción de la luz ultravioleta y visible con los electrones de una muestra. En nanotecnología, es crucial para identificar el plasmón de superficie y estimar la concentración de suspensiones coloidales (Colonia, 2013).

Homeostasis: Mecanismo de regulación interna mediante el cual la bacteria mantiene condiciones estables (como la concentración de iones Zn^{2+}) a pesar de las fluctuaciones en el entorno exterior, utilizando sistemas de transporte y expulsión celular (Rihacek et al., 2023).

Hormesis: Respuesta biológica bifásica caracterizada por una estimulación del crecimiento o actividad fisiológica ante dosis bajas de un agente tóxico, seguida de una inhibición a dosis elevadas. Explica fenómenos de sobrecrecimiento bacteriano observados en concentraciones intermedias de Zn (Calabrese, 2008).

Microbicida: Agente físico o químico diseñado para eliminar una amplia gama de microorganismos, incluyendo bacterias, hongos y virus, en una matriz determinada (Noriega-Treviño et al., 2012).

Microscopio Electrónico de Barrido (MEB/SEM): Equipo que permite la observación de la topografía superficial de muestras mediante el barrido con un haz de electrones. Es fundamental para visualizar el daño morfológico en la pared celular de *E. coli* tras la exposición a NPs (Colonia, 2013).

Microscopio Electrónico de Transmisión (MET/TEM): Técnica de alta resolución que atraviesa muestras ultrafinas con electrones, permitiendo observar la ultraestructura interna de las células y medir con exactitud el tamaño de núcleo de las nanopartículas (Colonia, 2013).

Nanopartícula: Objeto material con dimensiones que oscilan entre 1 y 100 nanómetros. Debido a su tamaño reducido, poseen una alta relación área/volumen, lo que les confiere una reactividad química y propiedades

físicas singulares frente a su equivalente macroscópico (Noriega-Treviño et al., 2012).

Nanotecnología: Campo multidisciplinario que se ocupa del control y manipulación de la materia a escala nanométrica. Su aplicación en el tratamiento de aguas busca aprovechar las propiedades únicas de los nanomateriales para la remoción eficiente de contaminantes (Noriega-Treviño et al., 2012).

Purificación del agua: Serie de procesos fisicoquímicos y biológicos (filtración, adsorción, desinfección) aplicados para remover impurezas y contaminantes de una fuente hídrica, con el fin de alcanzar los estándares de calidad requeridos por la normativa (Noriega-Treviño et al., 2012).

P-valor (p-value): Probabilidad de que el resultado observado haya ocurrido por azar bajo la hipótesis nula. Generalmente, un valor de $p < 0.05$ se considera estadísticamente significativo, permitiendo rechazar la idea de que el efecto de las nanopartículas es aleatorio (Rodríguez Cisneros et al., 2023).

Significancia Estadística: Conclusión matemática que indica que las diferencias halladas entre los grupos de estudio (control vs. tratamiento) son lo suficientemente grandes como para no ser atribuidas a fluctuaciones accidentales (Rodríguez Cisneros et al., 2023).

Tween 20: Surfactante no iónico de uso común en nanotecnología para estabilizar suspensiones. Su función es reducir la energía superficial y prevenir la aglomeración de las NPs de ZnO, asegurando una distribución homogénea en el medio de cultivo (Hund-Rinke., 2021).

Zinc (Zn): Elemento metálico vital que actúa como cofactor en numerosos procesos enzimáticos bacterianos. Sin embargo, su exceso o su presencia en forma de nanopartículas puede generar estrés oxidativo, dañando proteínas y ácidos nucleicos celulares (Cai et al., 2025).

n. Microbicida

Sustancia o procedimiento cuya acción elimina microorganismos (bacterias, virus, hongos) en una matriz específica. El término se aplica tanto a agentes químicos como a procesos físicos (p. ej., radiación UV).

o. Microscopio electrónico de barrido (MEB)

Técnica de microscopía que explora la superficie de una muestra mediante el barrido con un haz de electrones y la detección de señales secundarias, permitiendo observar morfologías superficiales y la topografía de nanopartículas y células bacterianas tratadas (Colonia, 2013).

Capítulo III. METODOLOGÍA

3.1 Tipo y diseño de la investigación.

El presente estudio es un diseño experimental, tipo aplicado y con un enfoque cuantitativo. Se desarrolló bajo un diseño completamente aleatorizado, en el que se evaluó el efecto de diferentes concentraciones de nanopartículas de óxido de zinc (ZnO) en la inhibición del crecimiento de *Escherichia coli* en dos medios de cultivo: agua residual doméstica sintética y medio Mueller-Hinton. Este enfoque metodológico se enmarca dentro de la investigación aplicada, dado que busca utilizar los conocimientos científicos existentes para resolver un problema concreto relacionado con el control del crecimiento bacteriano en aguas residuales domésticas mediante el uso de nanopartículas de ZnO. Su propósito es generar soluciones efectivas y viables para mejorar la calidad del agua y contribuir a la salud pública.

El diseño adoptado fue experimental, ya que se manipularon de manera directa las variables independientes, específicamente la concentración de ZnO, con el fin de observar su efecto sobre la variable dependiente, que corresponde al crecimiento bacteriano de *Escherichia coli*, medido indirectamente a través de la turbidez y densidad óptica. Este tipo de diseño permite establecer relaciones de causa y efecto bajo condiciones controladas, lo cual aporta rigor científico y validez a los resultados (Montgomery, 2017).

El diseño experimental empleado fue completamente aleatorizado, garantizando una asignación equitativa y sin sesgos de las muestras a cada tratamiento. De esta forma se permitió un análisis comparativo confiable entre las diferentes concentraciones de nanopartículas de ZnO y el grupo control sin tratamiento. Asimismo, se controlaron variables externas como la temperatura y el tiempo de incubación, con el propósito

de asegurar que las variaciones observadas fueran atribuibles únicamente a la acción del ZnO.

3.1.1. Diseño experimental

El enfoque experimental tuvo un carácter cuantitativo, basado en la medición precisa de variables como la densidad óptica y la turbidez. Los datos obtenidos fueron analizados mediante herramientas estadísticas, permitiendo obtener conclusiones objetivas y generalizables sobre la eficacia antimicrobiana del ZnO. Se manipuló la concentración de ZnO para evaluar su efecto sobre el crecimiento bacteriano en distintos tiempos de exposición y medios de cultivo, empleando un proceso estadístico lógico y ordenado dentro de un procedimiento controlado (Montgomery, 2017).

El experimento siguió un diseño factorial multifactorial, el cual permitió evaluar el efecto de múltiples factores independientes, tales como el medio, la concentración de ZnO y el tiempo, así como sus posibles interacciones sobre las variables dependientes (densidad óptica y turbidez). Este tipo de diseño proporciona una comprensión más completa de cómo los factores influyen individualmente y en conjunto sobre la respuesta del sistema experimental (Montgomery, 2017).

3.1.1.1. Factores y Niveles:

- A1: Medio de cultivo (Mueller Hinton, Agua residual doméstica)
- A2: Concentración de nanopartículas de ZnO (0, 40, 80, 100, 200 ppm)
- A3: Tiempo (T0, T1, T2, ..., Tn)

3.1.1.2. Niveles:

- A1 tiene 2 niveles: A_1^1 (Mueller Hinton), A_1^2 (Agua residual doméstica)
- A2 tiene 5 niveles: A_2^0 (0 ppm), A_2^{40} (40 ppm), A_2^{80} (80 ppm), A_2^{100} (100 ppm), A_2^{200} (200 ppm)
- A3 tiene n+1 niveles: A_3^0 (T0), A_3^1 (T1), ..., A_3^n (Tn)

El modelo general para un diseño factorial múltiple puede expresarse como:

$$Y_{ijkl} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \gamma_k + \delta_l + (\alpha\beta)_{ij} + (\alpha\gamma)_{ik} + (\alpha\delta)_{il} + (\beta\gamma)_{jk} + (\beta\delta)_{jl} + (\gamma\delta)_{kl} + (\alpha\beta\gamma)_{ijk} + (\alpha\beta\delta)_{ijl} + (\alpha\gamma\delta)_{ikl} + (\beta\gamma\delta)_{jkl} + (\alpha\beta\gamma\delta)_{ijkl} + \epsilon_{ijkl}$$

Donde:

- Y_{ijkl} es la respuesta observada para la combinación de niveles i, j, k, l
- μ es el efecto global o media general.
- α_i es el efecto del nivel i del factor A1 (Medio de cultivo).
- β_j es el efecto del nivel j del factor A2 (Concentración de ZnO).
- γ_k es el efecto del nivel k del factor A3 (Tiempo).
- δ_l es el efecto del nivel l del factor A4 (Réplica).
- $(\alpha\beta)_{ij}, (\alpha\gamma)_{ik}, (\alpha\delta)_{il}, (\beta\gamma)_{jk}, (\beta\delta)_{jl}, (\gamma\delta)_{kl}$ son los efectos de interacción de dos factores.
- $(\alpha\beta\gamma)_{ijk}, (\alpha\beta\delta)_{ijl}, (\alpha\gamma\delta)_{ikl}, (\beta\gamma\delta)_{jkl}$ son los efectos de interacción de tres factores.
- $(\alpha\beta\gamma\delta)_{ijkl}$ es el efecto de interacción de cuatro factores
- ϵ_{ijkl} es el error experimental asociado con la combinación $ijkl$. (Montgomery, 2017).

donde cada término representa los efectos principales e interacciones de los factores, y ϵ_{ijkl} es el error experimental asociado a cada combinación (Montgomery, 2017).

En síntesis, este diseño factorial permitió analizar de manera integral la influencia del ZnO sobre el crecimiento bacteriano, optimizando la interpretación de resultados y fortaleciendo la validez estadística del estudio.

3.1.2 Etapas del Diseño metodológico.

El desarrollo experimental del presente estudio se llevó a cabo en dos etapas principales, con el propósito de asegurar la correcta caracterización del material y la evaluación controlada del efecto antimicrobiano del óxido de zinc (ZnO) en agua residual doméstica sintética.

3.1.2.1 Caracterización estructural y morfológico de nanopartículas de ZnO mediante DRX y SEM

La caracterización fisicoquímica de nanopartículas de óxido de zinc (ZnO) es esencial para explicar su desempeño como agente antimicrobiano en medios acuosos contaminados con microorganismos como *Escherichia coli* (Nan, 2024; Abu-Gharbia, 2025; Pangprasit et al., 2025).

Los datos provinieron del informe analítico (IL-OTSM-280-2025 Rev.0) de los resultados de difractometría de rayos X (DRX) y micrografías SEM, entregado por el laboratorio (FA INGENIEROS S.A.C.). El DRX fue registrado con radiación Co K α 1 ($\lambda = 1.78897 \text{ \AA}$) (Véase anexo II).

Difractometría de rayos X (DRX)

El patrón difractométrico reportado por el laboratorio (véase figura 2) corresponde a la fase **zincita** (ZnO) en estructura cristalográfica hexagonal tipo *wurtzita*, con un porcentaje aproximado del 92.878 %; las fases secundarias identificadas fueron **auricalcita** (6.957 %) y **hematita** (0.165 %), lo cual es coherente con la síntesis de ZnO con alta cristalinidad y leve incorporación de impurezas (Ismail, 2018).

La presencia de picos agudos indica dominios cristalinos bien definidos, lo que se correlaciona positivamente con la capacidad de generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) y de liberación controlada de Zn²⁺, esenciales para la inactivación bacteriana (Nan, 2024; Elabbasy, 2025).

El tamaño de cristalito determinado a partir de los datos de DRX fue consistente con el tamaño promedio de 30 nm especificado por el proveedor.

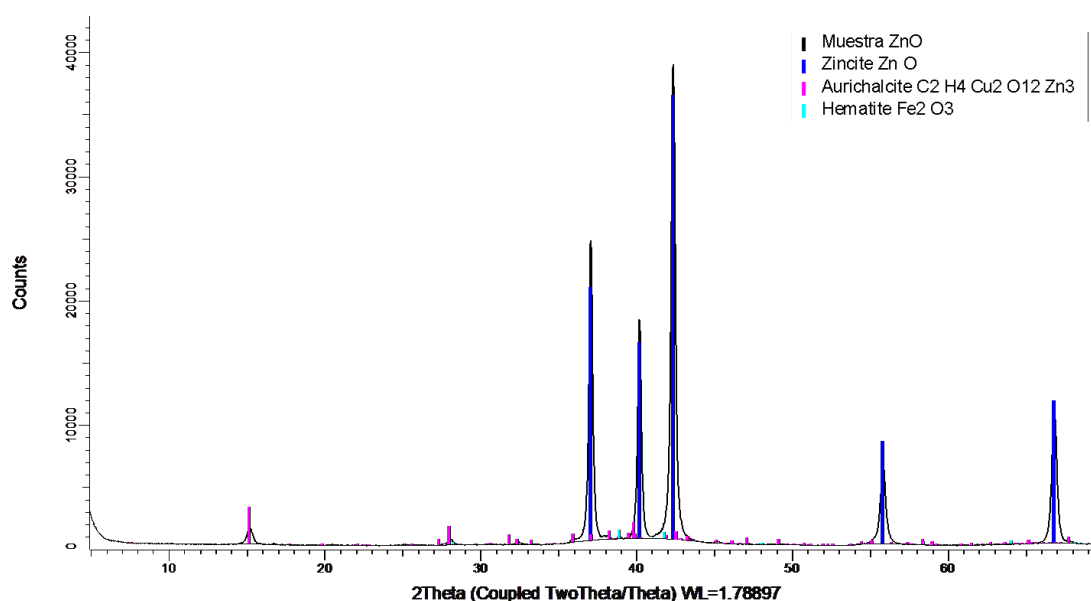


Figura 2. Difractograma de la muestra de ZnO. Fuente. Adaptado de “FA Ingenieros S.A.C.” (2025).

Microscopía electrónica de barrido (SEM-EDS)

Las micrografías SEM ilustran la morfología de las nanopartículas se observa la tendencia a la **agregación/aglomeración** de las partículas, con morfologías irregulares y superficies rugosas (véase figura 3a). La tendencia a la aglomeración es característica de nanopartículas con dominios cristalinos nanométricos (véase figura 3b), y puede influir tanto en la interacción física con bacterias como en la liberación de Zn^{2+} (Pangprasit et al., 2025; Abu-Gharbia, 2025).

Esta observación morfológica es de vital importancia, ya que la **aglomeración** a concentraciones elevadas se identifica como un

factor limitante en la eficacia antimicrobiana, tal como se discute en el análisis de los resultados del medio MH y ARS (Capítulo IV).

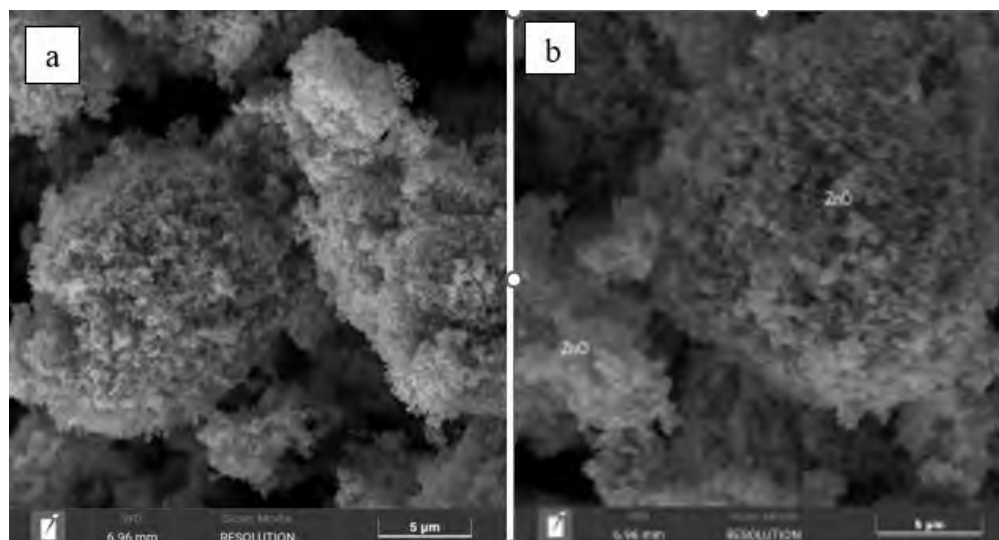


Figura 3. Micrografías SEM de la muestra de ZnO (detalle de morfología (a) y aglomerados (b)). Fuente. Adaptado de “FA Ingenieros S.A.C.” (2025)

La presencia de Zn y O como elementos mayoritarios se confirmó por EDS; las señales de Fe y carbonatos concuerdan con las fases minoritarias detectadas por DRX. Estas fases secundarias pueden influir en la solubilidad y comportamiento en medio acuoso,

3.1.2.2 Evaluación de agua doméstica sintética con carga microbiana.

En esta fase se trabajó con muestras de agua doméstica sintética preparadas en laboratorio y contaminadas con carga microbiana de *Escherichia coli*. Los parámetros experimentales se definieron con base en los resultados obtenidos en la etapa de caracterización, aplicando las

concentraciones establecidas de ZnO (véase tabla 4). Los datos obtenidos se registraron, tabularon y analizaron estadísticamente para determinar la eficacia antimicrobiana del ZnO bajo las distintas condiciones experimentales.

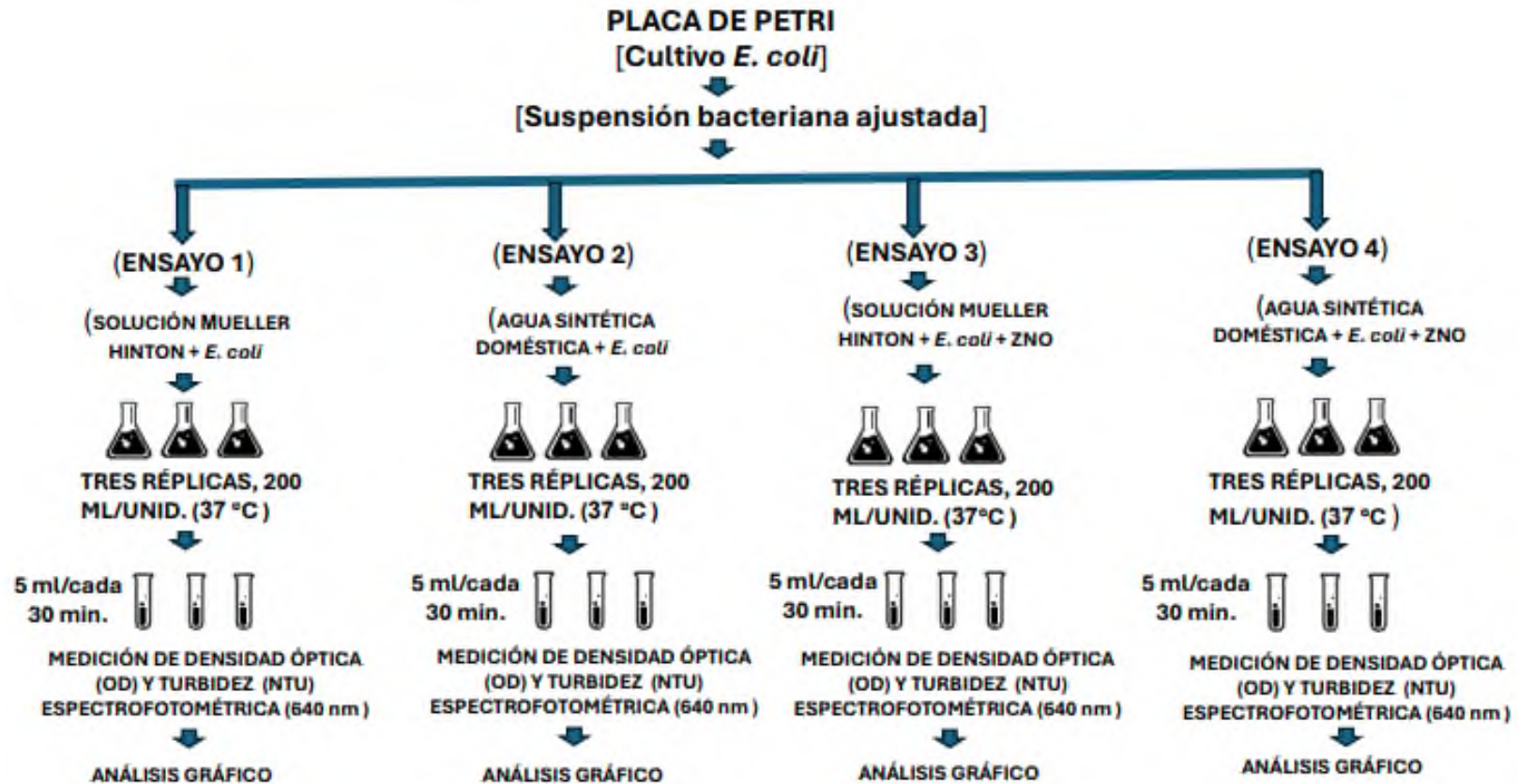


Figura 4. *Esquema del experimento.* Fuente. Los datos son de elaboración propia para esta investigación.

3.2. Variables de investigación

En esta investigación se identificaron y operacionalizaron las siguientes variables de estudio, de acuerdo con la naturaleza experimental del trabajo (véase tabla 5).

3.2.1 Variable independiente (VI): **Concentración de nanopartículas de óxido de zinc (ZnO)**

Esta variable corresponde a la concentración de nanopartículas de óxido de zinc (ZnO), expresada en miligramos por litro (mg/L). Se evaluaron cinco niveles de concentración: 0, 40, 80, 100 y 200 mg/L. Esta es la variable que se manipula directamente con el propósito de determinar su efecto sobre el crecimiento bacteriano de *Escherichia coli*.

Definición conceptual

Cantidad de nanopartículas de óxido de zinc aplicadas a las muestras de agua residual doméstica inoculadas con *Escherichia coli*. Las nanopartículas de ZnO son materiales con tamaño entre 1 y 100 nm, que presentan múltiples propiedades físicas y químicas derivadas de su estructura y dimensión nanométrica, haciéndolas relevantes en diversos campos científicos (Raghunath & Perumal, 2017).

Definición operacional

Se define como la cantidad de nanopartículas de ZnO añadidas por litro de medio (agua residual sintética o Mueller-Hinton) durante cada ensayo. Su medición se realiza mediante la preparación de soluciones madre y la posterior dilución hasta las concentraciones deseadas, expresadas en mg/L o ppm.

Dimensión: Concentración aplicada

Subdimensión: Valores experimentales

Indicador: ppm o mg/L de ZnO

Unidad de medida: ppm o mg/L

Escala de medición: Razón

3.2.2 Variable dependiente (VD): **Crecimiento de *Escherichia coli***

Esta variable depende de la acción de las nanopartículas de ZnO. Se mide para evaluar el efecto antimicrobiano del material a través de la reducción en la turbidez y la densidad óptica del medio de cultivo.

Definición conceptual

Incremento o disminución de una población bacteriana en la muestra de agua residual doméstica, estimado indirectamente mediante la dispersión de luz y la absorbancia. Representa el aumento o inhibición de la biomasa microbiana o del material orgánico formado por un número determinado de individuos (Hogg, 2013).

Definición operacional

Se determinará la turbidez (en NTU) y la densidad óptica (DO) a intervalos de 30 minutos, en tres réplicas por tratamiento, hasta completar el tiempo de exposición establecido.

- **Densidad óptica (OD₆₀₀):** medida con un espectrofotómetro UV-Vis a una longitud de onda de 600 nm, para estimar la concentración celular.
- **Turbidez (NTU):** medida con un turbidímetro, reflejando la dispersión de la luz causada por partículas bacterianas suspendidas.

Dimensiones: Densidad óptica y Turbidez.

Subdimensión: Valores experimentales

Indicadores: OD600 y NTU.

Unidades de medida: UFC/mL y NTU.

Escala de medición: Razón

3.2.3 Variables de control

Para garantizar la reproducibilidad de los resultados y minimizar la influencia de factores externos, se controlaron los siguientes parámetros experimentales:

- Temperatura: 25 ± 2 °C (ambiente controlado).
- pH inicial: 7.0 ± 0.2 .

- Volumen de trabajo: 250 mL en matraces de 250 mL.
- Tiempo de contacto: variable dependiente de la corrida experimental.
- Agitación constante para evitar la sedimentación de partículas.

3.2.4 Matriz de operacionalización de variables

Tabla 5

Matriz de Operacionalización de Variables

Fuente. Los datos son de elaboración propia para esta investigación

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Dimensión	Subdimensión	Indicadores	Técnicas/ Instrumentos
Variable independiente (VI): Concentración de nanopartículas de ZnO (ppm o mg/L)	Cantidad de nanopartículas de óxido de zinc aplicada a las muestras de agua residual doméstica inoculada con Escherichia coli.	Se medirá como la concentración nominal de nanopartículas de ZnO disueltas y homogeneizadas en la muestra, expresada en mg/L o ppm.	Concentración aplicada	Valores experimentales definidos para cada tratamiento.	ppm de ZnO aplicados en cada tratamiento.	Preparación de soluciones con ZnO y homogenización en muestras; registro de la concentración aplicada.
Variable dependiente (VD): Crecimiento de Escherichia coli (evaluado por turbidez y densidad óptica)	Aumento en la población bacteriana en la muestra de agua residual doméstica, estimado indirectamente por la dispersión de luz y la absorbancia.	Se determinará la turbidez (en NTU) y la densidad óptica (DO) a intervalos de 30 minutos, en tres réplicas por tratamiento, hasta completar el tiempo de exposición establecido.	Densidad óptica y Turbidez	Turbidez (NTU) y Densidad Óptica.	Valores de OD600 y NTU.	Medición directa con turbidímetro y espectrofotómetro; unidades de medida de NTU y UFC/mL

3.3 Unidad de Análisis

La unidad de análisis de la investigación estuvo constituida por el agua residual sintética inoculada con la cepa pura de *Escherichia coli* ATCC 11229. Tanto el agua residual sintética como el medio Mueller-Hinton, contenidos en matraces de 250 mL, fueron expuestos a diferentes concentraciones de nanopartículas de óxido de zinc (ZnO). Estas muestras representan el sistema experimental sobre el cual se evaluó la viabilidad bacteriana bajo la acción del ZnO. La caracterización de las nanopartículas y la preparación de las muestras se realizaron en el Laboratorio de Nanotecnología e Innovación Tecnológica del Departamento Académico de Química Inorgánica, Facultad de Química e Ingeniería Química de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Las diferentes concentraciones de ZnO constituyeron una parte esencial del diseño experimental, permitiendo determinar la relación entre la dosis aplicada y la respuesta microbiana en muestras de agua sintética doméstica.

3.4. Población y muestra

3.4.1. Población

La población de estudio estuvo conformada por aguas residuales domésticas contaminadas con ***Escherichia coli*** ATCC 11229, así como por cultivos bacterianos obtenidos en condiciones controladas de laboratorio. Para garantizar un control experimental riguroso y aislar el efecto de las nanopartículas de óxido de zinc (ZnO) sobre el crecimiento bacteriano, se utilizó agua residual sintética. Esto permitió simular las características del agua residual doméstica real y evaluar de manera precisa la acción antimicrobiana del ZnO, asegurando resultados confiables y reproducibles (Kargol et al., 2023).

3.4.2. Muestra

La muestra experimental consistió en cultivos de *E. coli* preparados en matraces de 250 mL, con agua desionizada estéril, y en medios de cultivo Mueller-Hinton y agua residual sintética (véase figura 5). Se evaluaron cuatro concentraciones de ZnO (40, 80, 100 y 200 ppm), y se realizaron mediciones cada 30 minutos durante varias horas para determinar su efecto sobre el crecimiento bacteriano y la turbidez del agua. Cada combinación de concentración y tiempo se trabajó por triplicado, asegurando un tamaño de muestra adecuado para obtener resultados estadísticamente significativos y confiables. Cada réplica estuvo representada por un volumen de 200–250 mL, permitiendo un diseño experimental robusto y preciso.(véase figura 4).

3.4.3. Selección de Muestra

La población de estudio en esta investigación estuvo conformada por agua residual doméstica contaminada con ***Escherichia coli***, dada la importancia de desarrollar métodos efectivos para el tratamiento de aguas residuales, lo cual resulta fundamental para la salud pública y la protección del medio ambiente (Vargas Malla et al., 2017).

Para los fines del estudio, se utilizó agua sintética doméstica en lugar de muestras de agua residual real, con el objetivo de controlar de manera precisa las condiciones experimentales y eliminar variables que podrían interferir con los resultados (Kargol et al., 2023). Estas aguas sintéticas fueron diseñadas para imitar las propiedades del agua residual doméstica, pero libres de patógenos, asegurando un ambiente seguro y reproducible para la experimentación (Julcani Curo et al., 2023).

Se evaluaron cuatro concentraciones de ZnO: 40, 80, 100 y 200 ppm, seleccionadas en base a la literatura, que indica que este rango es adecuado para determinar la eficacia antimicrobiana de las nanopartículas. Estudios previos reportaron que concentraciones de ZnO

entre 50 y 250 ppm inhiben de manera efectiva el crecimiento de *E. coli* (Sirelkhatim et al., 2015; Raghupathi et al., 2011).

El experimento se realizó con tres réplicas por cada concentración de ZnO (Véase figura 5), asegurando la reproducibilidad y confiabilidad de los resultados. Además, se consideraron estrictas medidas de seguridad durante la manipulación de las nanopartículas y cultivos bacterianos, mediante el uso de equipo de protección personal y la disposición adecuada de los residuos.



Figura 5. Distribución de matraces por triplicado para los ensayos para la evaluación de la actividad antimicrobiana

Nota. Izquierda, caldo Mueller-Hinton sin inocular; derecha, agua sintética doméstica sin inocular, ambos fueron cubiertos rápidamente con aluminio para conservar sus propiedades. Los datos son de elaboración propia para esta investigación.

3.5. Técnicas e instrumentos de recolección de Datos

3.5.1. Técnicas de investigación

Para la recolección de los datos, se seguirán los siguientes procedimientos:

Preparación del laboratorio.

Se aseguró de que el laboratorio esté limpio y organizado, así mismo que todos los equipos necesarios (por ejemplo, espectrofotómetro, incubadora, pipetas etc.) estén calibrados y en buen estado de funcionamiento.

Preparación del agua residual doméstica sintética

La formulación del agua residual doméstica sintética se realizó adaptando el método descrito por la OECD (2001). Se emplearon glucosa, cloruro de amonio (NH_4Cl) y fosfato dipotásico (K_2HPO_4) como fuentes de carbono, nitrógeno y fósforo, respectivamente, manteniendo la relación en masa C:N:P = 100:5:1. (véase tabla 6)

Cálculo de la relación C:N:P

Para verificar la proporción, se calcularon las masas aportadas por cada compuesto según su composición molecular y las cantidades añadidas en la formulación (10 mL de cada solución madre por litro).

1. Carbono (C) aportado por glucosa

Solución madre de glucosa: 50 g/L = 50,000 mg/L.

Volumen añadido por litro: 10 mL = 0.010 L.

Masa de glucosa añadida: 50,000 mg/L $\times$ 0.010 L = 500 mg.

Fracción másica de carbono: 72.06 / 180.16 = 0.3999.

Masa de carbono aportada: 500 mg $\times$ 0.3999 = **199.95 mg $\approx$ 200 mg C.**

2. Nitrógeno (N) aportado por NH_4Cl

Solución madre: 3.8 g/L = 3,800 mg/L.

Masa añadida: 3,800 $\times$ 0.010 = 38 mg NH_4Cl .

Fracción másica: $14.01 / 53.49 = 0.2618$.

Masa de N aportada: $38 \times 0.2618 = \mathbf{9.95 \text{ mg N}}$.

3. Fósforo (P) aportado por K_2HPO_4

Solución madre: $1.1 \text{ g/L} = 1,100 \text{ mg/L}$.

Masa añadida: $1,100 \times 0.010 = 11 \text{ mg K}_2\text{HPO}_4$.

Fracción másica: $31 / 174.18 = 0.1779$.

Masa de P aportada: $11 \times 0.1779 = \mathbf{1.96 \text{ mg P}}$.

Relación final: C = 200 mg/L; N = 10 mg/L; P = 2 mg/L

Dividiendo todo entre 2: C = 100, N = 5, P = 1

Relación C:N:P = 100:5:1

Tabla 6

Composición del agua residual doméstica sintética.

Reactivo	Formula química	Solución madre (g/L)	Volumen añadido (mL/L)	Concentración final (mg/L)	Función
Glucosa	$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$	50	10	500	Fuente de carbono
Cloruro de amonio	NH_4Cl	3.8	10	38	Fuente de nitrógeno
Fosfato dipotásico	K_2HPO_4	1.1	10	11	Fuente de fósforo
Bicarbonato de sodio	NaHCO_3	1.0	5	5	Regulador de pH

Aceite vegetal	—	—	11 - 22 μL	10	Simulación de grasas
Tween 20	—	—	4.5 - 9 μL	5	Emulsionante
Agua desionizada estéril	—	—	—	—	Medio base

Fuente. Elaboración propia adaptada de la OECD (2001). Test No. 303: “Simulation Test - Aerobic Sewage Treatment”. Los volúmenes en μL están estimados considerando una densidad aproximada de 0,91 g/mL para aceite vegetal y 1,1 g/mL para tween 20. Los datos son de elaboración propia para esta investigación.



Figura 6.

Preparación de agua sintética en cabina de flujo laminar. *Nota.* izquierda, Preparación del agua sintética doméstica, con 10-20 mg/l. de aceite y 5-10 mg/L. de Tween 20, en 1L de ASD; derecha, homogenización de ASD usando Mezclador vortex 622.03.001 ISOLAB a 3000 RPM. Los datos son de elaboración propia para esta investigación.

Preparación de las nanopartículas de ZnO

Las nanopartículas de óxido de zinc (ZnO) se adquirieron de grado analítico, con un tamaño promedio de partícula de 30 nm. Se prepararon suspensiones madre a una concentración de 1000 mg/L en agua

desionizada estéril, utilizando un vórtex durante 10 minutos a 3000 rpm durante intervalos de 2 min para lograr una dispersión homogénea (véanse figura 6 y 7). A partir de esta solución se prepararon las concentraciones experimentales de 40, 80, 100 y 200 mg/L.

Inmediatamente después de hidratar el compuesto fotosensible, se cubrió totalmente el frasco en papel aluminio para evitar la degradación de las nanopartículas con la luz ambiental. Luego los stocks se homogeneizaron por 10 min con vórtex en intervalos de 2 min para minimizar la aglomeración de nanopartículas entre sí.

Finalmente, una vez alcanzada la fase logarítmica de los matraces inoculados con *E. coli* ATCC 11229 (volumen final 250 mL), se retiró previamente el volumen de medio equivalente al volumen de stock a adicionar, siendo los volúmenes: 40 ppm, 10 ml; 80 ppm, 20 ml; 100 ppm, 25 ml; y 200 ppm, 50 ml, por triplicado.



Figuras 7.

Preparación del agua doméstica residual. *Nota. Imagen superior izquierda y derecha presenta coloración transparente y ligeramente turbia. En la imagen central inferior, se tomó una alícuota del volumen final, para fines representativos, quedando a una concentración de 1000 ppm. Inmediatamente se envolvió en papel aluminio para evitar la degradación de componentes.*

Preparación y mantenimiento de la cepa bacteriana

Se utilizó la cepa de *Escherichia coli* ATCC 11229, criopreservada para su mantenimiento a una temperatura de -20°C (véase figura 8). Las bacterias fueron reactivadas mediante su inoculación de 50 μl , en 5 mL de caldo TSB (1%) (Tryptic Soy Broth), y se incubó a una temperatura

de 37°C durante 18 horas (Bergey & Holt, 1994). y posteriormente sembradas en placas con medios selectivos y diferenciales como el **Agar Eosina Azul de Metileno (EMB)** y el **Agar MacConkey** a fin de verificar su pureza.(Koneman et al., 1997). Las colonias se incubaron en condiciones aeróbicas a 37 °C durante 18 horas (Madigan et al., 2015).

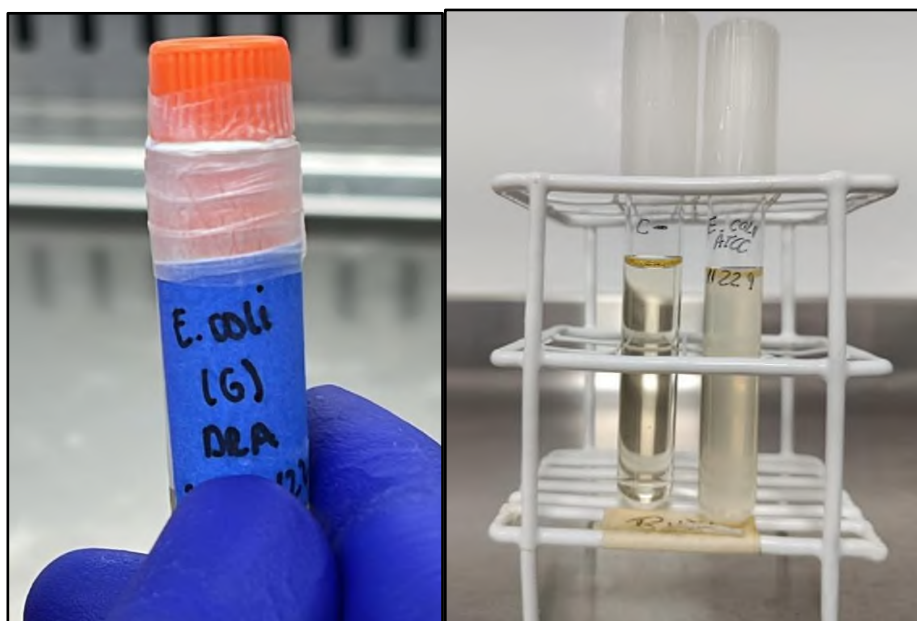


Figura 8.

Reactivación de la cepa bacteriana ATCC 11229. *Nota. A la izquierda se observa el criovial de la E. coli ATCC 11229. A la derecha se puede observar la reactivación de la cepa Escherichia coli ATCC 11229 y su control negativo. Fuente. Los datos son de elaboración propia para esta investigación.*

Verificación de la fase logarítmica de crecimiento de E. coli ATCC 11229

Previo al enfrentamiento de nanopartículas, se verificó que las suspensiones bacterianas de *E. coli* ATCC 11229 se encontraran en fase logarítmica tanto en Caldo Mueller-Hinton (MH) como en Agua Sintética Doméstica (ASD). Para ello, los cultivos fueron inoculados al 1% por triplicado en matraces de 250 ml; tras la homogeneización, se

transfirieron 200 μ l de las tres réplicas a una microplaca para realizar la primera lectura de crecimiento a 600 nm (densidad óptica a 600nm o DO_{600nm}) en lector Epoch (BioTek) (véase figura 9), en paralelo, se dispensaron 5 ml del triplicado para realizar la medición por turbidimetría (NTU). Posterior a las lecturas, los cultivos se llevaron a incubación a 37°C y se continuó con mediciones de DO_{600} y NTU cada 30 min, durante 24 horas. Se incluyó como blanco al caldo Mueller Hinton (MH) y Agua residual Sintética Doméstica (ASD), ambas sin inóculo.

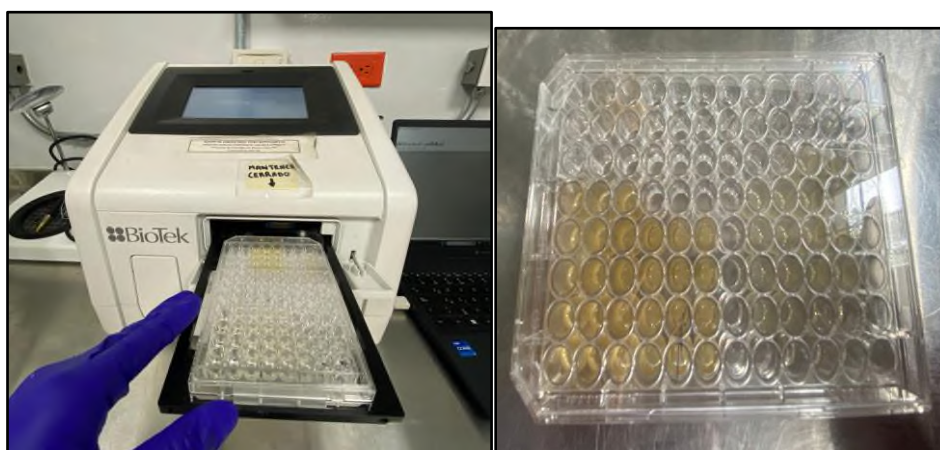


Figura 9. Lectura de la microplaca. *Nota. Izquierda, medición de absorbancia (OD) en equipo BioTek Epoch 2 Microplate Spectrophotometer; derecha, microplaca de 96 pocillos con cultivo. Fuente. Los datos son de elaboración propia para esta investigación.*

Evaluación de la actividad antimicrobiana frente a nanopartículas de ZnO

Cada ensayo fue evaluado en matraces de 250 ml por triplicado, e incubados a una temperatura de 37°C. Desde el tiempo de inoculación (T_0) se realizaron mediciones de densidad óptica (DO) y turbidez (NTU) cada 30 min.

Ensayo 1: Caldo Mueller Hinton + E. coli ATCC 11229

Se prepararon tres matraces con 250 ml de Caldo Mueller Hinton por unidad y se agregaron 2.5 ml de cultivo fresco a cada matraz, se colocó a incubar a 37 °C, y se realizaron las mediciones cada media hora hasta llegar a fase logarítmica (véase figura 10). Posteriormente, se colocó a temperatura ambiente y continuaron las mediciones hasta llegar al último punto.

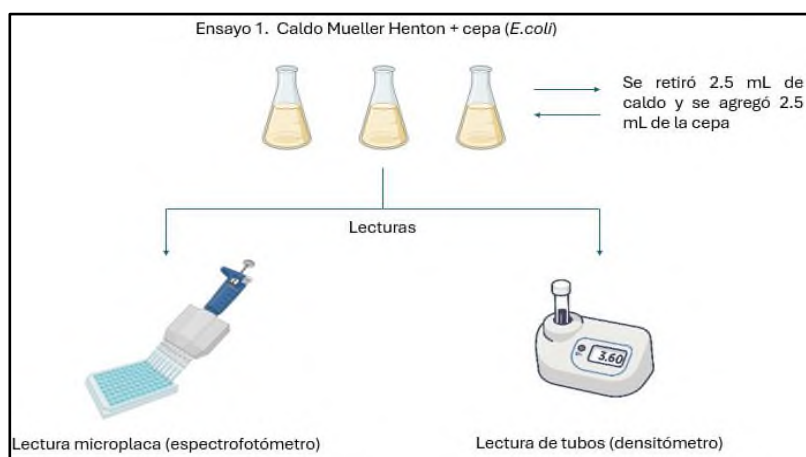


Figura 10. Ensayo 1. Caldo Mueller Hinton + E. coli ATCC 11229. Fuente. Los datos son de elaboración propia para esta investigación.

Ensayo 2: Agua sintética doméstica + E. coli ATCC 11229

Se prepararon tres matraces con 250 ml de agua sintética doméstica por unidad y se agregaron 2.5 ml de cultivo fresco a cada matraz, se colocó a incubar a 37 °C en agitación, y se realizaron las mediciones cada media hora durante 24 horas (véase figura 11). Posteriormente, se colocó a temperatura ambiente y se continuaron las mediciones hasta llegar al último punto.

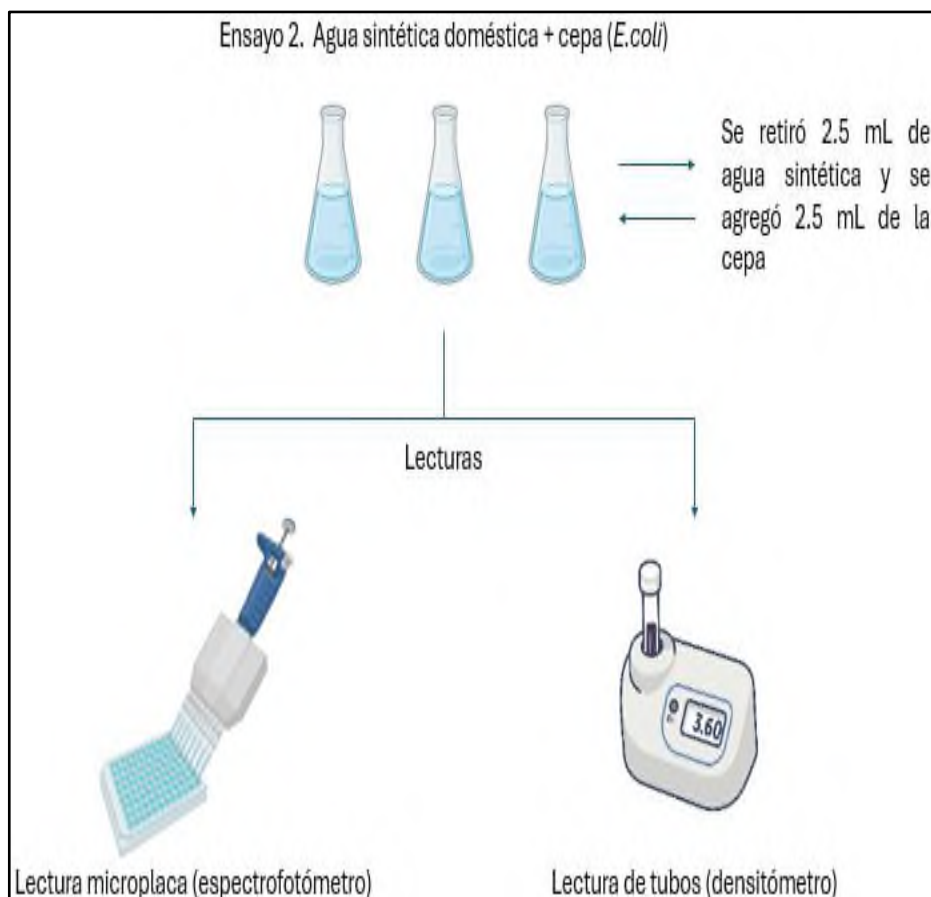


Figura 11. Ensayo 2 – Agua doméstica sintética + *E. coli* ATCC 11229. Fuente. Los datos son de elaboración propia para esta investigación.

Ensayo 3: Caldo Mueller Hinton + *E. coli* ATCC 11229 + nanopartículas de ZnO

Se prepararon tres matraces, cada uno con 250 ml de Caldo Mueller Hinton por unidad y se agregaron 2.5 ml de cultivo fresco a cada matraz. Los matraces se incubaron a 37°C en agitación, y se realizaron las mediciones de densidad óptica y de turbidez cada media hora hasta que alcanzaron su fase logarítmica (véase figura 12). Posteriormente, se agregaron diferentes concentraciones de nanopartículas (0 ppm, 40 ppm, 80 ppm, 100 ppm y 200 ppm) a cada matraz, y se incubó a temperatura ambiente y sin agitación, continuando mediciones hasta llegar al último punto.

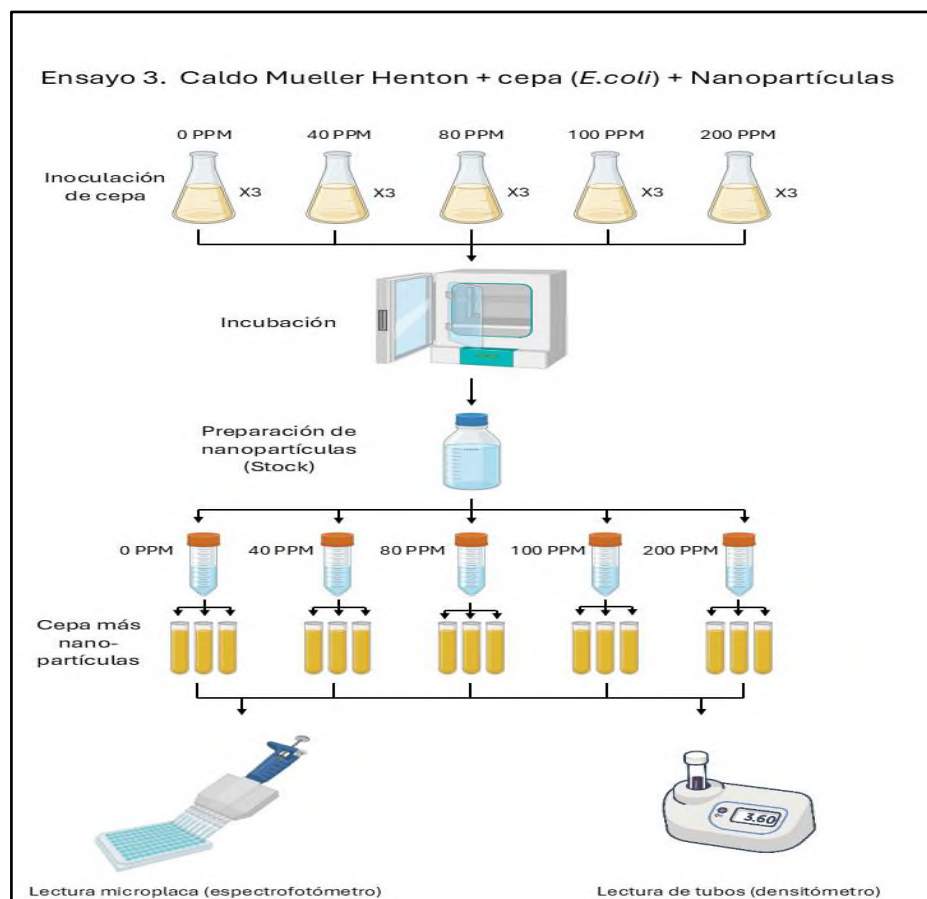


Figura 12. Ensayo 3 – Caldo Mueller Hinton + *E. coli* ATCC 11229 + Diferentes concentraciones de nanopartículas de ZnO (0 ppm, 40 ppm, 80 ppm, 100 ppm y 200 ppm). Fuente. Los datos son de elaboración propia para esta investigación.

Ensayo 4: Agua sintética doméstica + *E. coli* ATCC 11229 + nanopartículas de ZnO

Se prepararon tres matraces, cada uno con 250 ml de agua sintética doméstica por unidad y se agregaron 2 ml de cultivo fresco a cada matraz. Los matraces se incubaron a 37°C en agitación, y se realizaron las mediciones de densidad óptica y de turbidez cada media hora hasta que alcanzaron su fase logarítmica (véase figura 13). Posteriormente, se agregaron diferentes concentraciones de nanopartículas (0 ppm, 40 ppm, 80

ppm, 100 ppm y 200 ppm) a cada matraz, y se incubó a temperatura ambiente, quitando la agitación; posteriormente se continuaron con las mediciones hasta llegar al último punto.

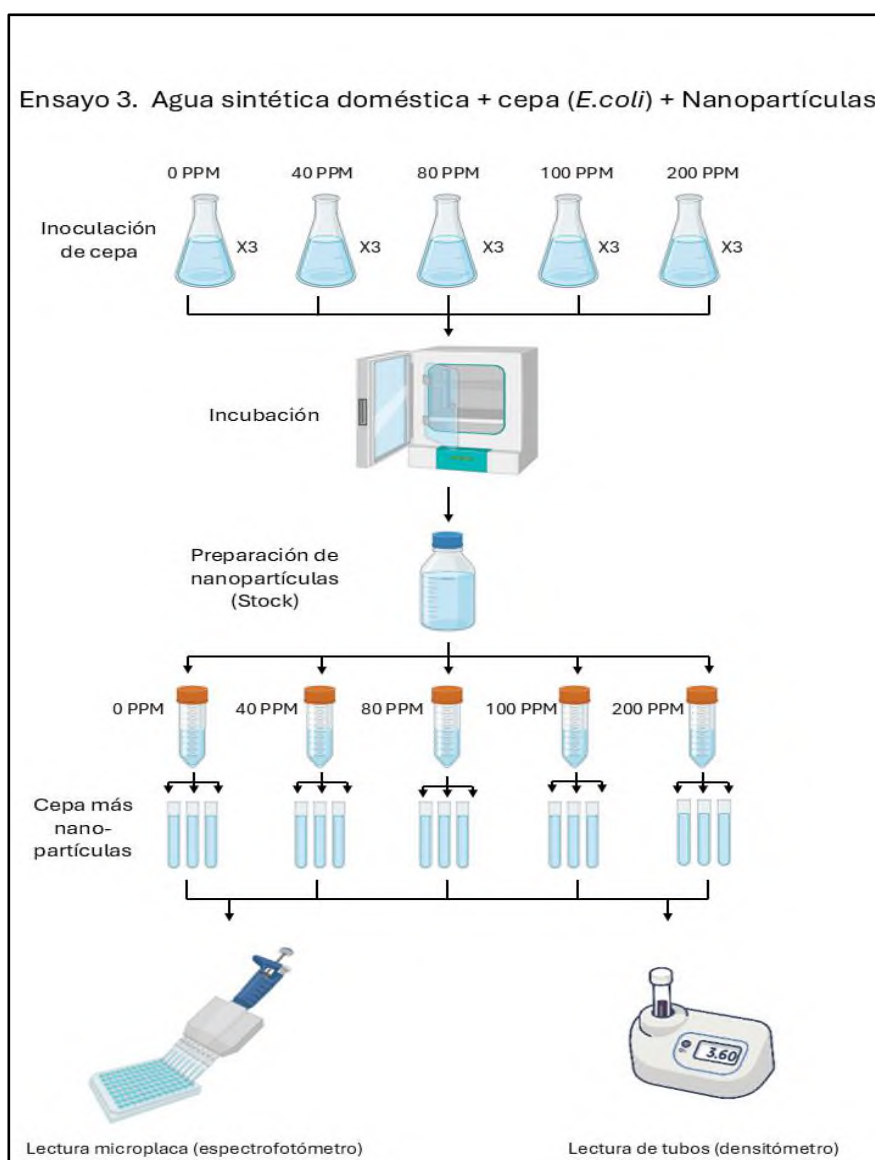


Figura 13. Ensayo 4 - Agua Sintética Doméstica + *E. coli* ATCC 11229 + Diferentes concentraciones de nano partículas de ZnO (0 ppm, 40 ppm, 80 ppm, 100 y 200 ppm).

Fuente. Los datos son de elaboración propia para esta investigación.

Cultivo en medio sólido

La *E. coli* ATCC 11229 se cultivó en dos diferentes medios, donde se visualizaron colonias puras y típicas de esta bacteria, de forma esférica, ligeramente opacas, elevadas, con un diámetro aproximado de 1.1 – 4 µm, colonias grandes (Scheutz, & Strockbine, 2005). Esta bacteria Gram negativa, en Agar MacConkey (véase figura 14) se visualizó con colonias amplias, con elevación convexa, húmedas de coloración rosada, brillantes y con borde entero. Por otro lado, en el agar EMB (véase figura 14), las colonias presentaron un brillo verde metálico, debido a la fermentación de lactosa, siendo uniforme, se da conformidad a la pureza de la cepa en estudio.

Figuras 14.

Crecimiento de la cepa *E. coli* ATCC 11229



Figuras 14.

Crecimiento de la cepa *E. coli* ATCC 11229. Nota. Crecimiento de la cepa *E. coli* ATCC 11229 sembrada en dos medios de cultivo selectivos y diferenciales: izquierda, medio Agar MacConkey; derecha, medio Agar Eosina Azul de Metileno (EMB). Fuente. Los datos son de elaboración propia para esta investigación.

3.5.2 Instrumentos de investigación

- Medios de cultivo Agar Mueller Hinton y Caldo Mueller Hinton
- Vasos de precipitación
- Tubos de ensayo
- Matraz Erlenmeyer
- Varilla
- Buretas
- Placas Petri
- Pipeta de Pasteur
- Asa de siembra
- Papel aluminio
- Papel Kraft
- Mascara de seguridad
- Mechero Bunsen
- micropipetas

Equipos e instrumento

- Espectrofotómetro UV-Vis (para OD₆₀₀)
- Autoclave modelo YXQ-280MD de 18 litros, con una temperatura de esterilizador de 121°C.
- Sonicador marca LAB COMPANION UCS-10, 10L. de capacidad.
- Incubadora
- Campana de siembra
- Balanza analítica
- Microondas
- Vortex
- turbidímetro micropipetas

3.5.2.1 Matriz de instrumentos

Tabla7

Matriz de elaboración de instrumentos de investigación

Fuente. Los datos son de elaboración propia para esta investigación.

Variable	Indicador	Técnica	Instrumento	Unidad de medida
Concentración de ZnO	mg/L	Dosificación	Micropipeta	mg/L
Crecimiento bacteriano	Densidad óptica (OD ₆₀₀)	Medición espectrofotométrica	Espectrofotómetro UV-Vis	Absorbancia
	Turbidez	Medición nefelométrica	Turbidímetro	NTU
Tiempo de exposición	min	Cronometraje	Cronómetro	min
Temperatura (Control)	Grados Celsius	Termometría	Termómetro digital	°C
pH (Control)	Potencial de hidrógeno	Potenciometría	pH-metro digital	Unidad de pH
Condiciones del ARS (Control)	Composición química	Preparación estandarizada	Balanza analítica y agitación	mg/L (Nutrientes)

3.6. Análisis e Interpretación de la Información

Los datos obtenidos experimentalmente, incluyendo densidad óptica (mg/L) y turbidez (NTU), se registraron en tablas (véase el anexo C) para cada intervalo de tiempo y concentración de ZnO. Se calcularon promedios, desviaciones estándar y porcentajes de inhibición para cada tratamiento, (véase el anexo D) y los resultados se representaron gráficamente mediante curvas de crecimiento y comparaciones entre tratamientos, lo que permitió visualizar claramente las tendencias de inhibición bacteriana.

Para evaluar la significancia de los efectos de las distintas concentraciones de ZnO, se aplicó un Análisis de Varianza (ANOVA) de un solo factor (véase el anexo D). Además, se examinó la relación entre la concentración de ZnO y el grado de inhibición bacteriana mediante el coeficiente de correlación de Pearson, considerando su aplicabilidad para variables en escala de razón y cumpliendo los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianza. Se estableció un nivel de significancia estadística de $p = 0.05$, considerando cualquier diferencia o correlación que superara este umbral como estadísticamente significativa.

El análisis e interpretación de la información se realizó integrando los resultados experimentales y estadísticos, evaluando la reducción de densidad óptica y turbidez en presencia de ZnO. Esto permitió establecer tendencias de inhibición bacteriana según las concentraciones evaluadas y determinar la dosis más efectiva para la eliminación de *E. coli* tanto en el medio Mueller-Hinton como en el agua residual doméstica sintética. La combinación de análisis descriptivo, inferencial y gráfico aseguró la confiabilidad de los resultados y facilitó la identificación de patrones consistentes en la respuesta bacteriana frente a las nanopartículas de ZnO.

Capítulo IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Presentación de resultados.

4.1.1 Análisis de la Biomasa y el Medio de Ensayo (ARSD)

Los resultados obtenidos en el medio de Agua Residual Sintética Doméstica (ARSD), cuya composición se presentó en la Tabla 6 (Capítulo III, pág. 57) demuestran que la complejidad de la matriz es el factor determinante en la respuesta biológica. Esta matriz se basa en la normativa **OECD 303A (2001)**, la cual incluye originalmente el fosfato dipotásico (K_2HPO_4) como agente buffer y fuente de fósforo. Sin embargo, para los fines de esta investigación, se realizó una modificación justificada mediante la adición de Tween 20 y aceite vegetal. Mientras que la OECD provee la base nutricional y el equilibrio de pH a través de los fosfatos, el Tween 20 se integró como un agente tensoactivo necesario para estabilizar las nanopartículas y emulsionar las grasas, adaptando la norma a un escenario de nanomateriales.

4.1.2. Resultados Biológicos (Tablas)

Tabla 8

Concentración de biomasa de E. coli en medio Mueller Hinton(MH)

Concentración (ppm)	Biomasa Inicial (g/L)	Biomasa Final (g/L)	Cambio %
Blanco (0 ppm)	0.2580	0.2215	-14.15%
40 ppm	0.2580	0.2215	-14.15%
80 ppm	0.2740	0.1965	-28.28%
100 ppm	0.2740	0.2340	-14.60%
200 ppm	0.2690	0.2515	-6.51%

Tabla 9

Concentración de biomasa final de E. coli en Medio Agua Residual Sintética (ARSD)

Concentración (ppm)	Biomasa Inicial (g/L)	Biomasa Final (g/L)	Cambio %
Blanco (0 ppm)	0.1340	0.2300	+71.64%
40 ppm	0.1310	0.2220	+69.47%
80 ppm	0.1390	0.2270	+63.31%
100 ppm	0.1380	0.2340	+69.57%
200 ppm	0.1380	0.5200	+276.8%

4.1.3. Caracterización Estructural y Morfológica de Nanopartículas de ZnO

La caracterización inicial de las nanopartículas de óxido de zinc (ZnO) se realizó mediante Difracción de Rayos X (DRX) y Microscopía Electrónica de Barrido (SEM), (véase anexo II).

DRX: El análisis confirmó que la fase cristalina predominante corresponde a la zincita (ZnO) con estructura hexagonal tipo wurtzita (92.878 %), lo cual se asocia con una alta cristalinidad. Las fases secundarias minoritarias (auricalcita y hematita) pueden influir en el comportamiento de las nanopartículas en el medio acuoso (véase anexo II).

SEM: Las micrografías revelaron la tendencia de las nanopartículas a formar aglomerados irregulares con superficies rugosas (véase anexo II). Este fenómeno es común en nanopartículas en medios acuosos y es un factor clave en su interacción con las células bacterianas y la liberación de iones Zn^{2+} (Pangprasit et al., 2025; Abu-Gharbia, 2025).

4.1.4. Efecto del ZnO en la Producción de Biomasa de *E. coli*

Los resultados se presentan en términos de Densidad Óptica (DO_{600}) y Turbidez (NTU), que son medidas indirectas de la biomasa de *E. coli*. El tiempo de exposición final evaluado fue de 720 minutos (12 horas).

A. Ensayo en Caldo Mueller Hinton (MH) (Ensayo 3)

Tabla 10

Resumen de los resultados de la biomasa de *E. coli* expresada en DO_{600} al tiempo final de 720 minutos en el medio MH

Concentración de ZnO (ppm)	DO_{600} Promedio (720 min)	Disminución de Biomasa (respecto a 0 ppm)
0 (Control)	0.527	0.00%
40 ppm	0.443	15.94%
80 ppm	0.393	25.43%
100 ppm	0.468	11.20%
200 ppm	0.503	4.55%

Nota: Véase detalles más completos en el anexo III. *Fuente.* Los datos son de elaboración propia para esta investigación.

Nota Importante del Ensayo 3: El grupo control (0 ppm) en MH mostró una DO_{600} final de 0.527. La mayor disminución de biomasa se observó en la concentración de 80 ppm ($DO_{600} = 0.393$), alcanzando un 25.43 % de disminución respecto al control (véase la tabla 10). Es notable que

concentraciones más altas (100 y 200 ppm) no siguieron la tendencia de mayor inhibición, lo cual podría atribuirse a efectos de agregación de las nanopartículas en un medio más complejo como el MH, reduciendo la superficie de contacto efectiva (Pangprasit et al., 2025; Abu-Gharbia, 2025).

B. Ensayo en Agua Sintética Doméstica (ASD) (Ensayo 4)

Tabla 11
Resumen de los resultados de la biomasa de *E. coli* expresada en DO₆₀₀ al tiempo final de 720 minutos en el medio ASD.

Concentración de ZnO (ppm)	DO ₆₀₀ Promedio (720 min)	Disminución de Biomasa (respecto a 0 ppm)
0 (Control)	0.460	0.00%
40 ppm	0.443	3.70%
80 ppm	0.455	1.09%
100 ppm	0.468	-1.74%
200 ppm	1.041	-126.30%

Nota: Véase detalles más completos en el anexo III. *Fuente. Los datos son de elaboración propia para esta investigación.*

Nota Importante del Ensayo 4: Contrario a la hipótesis, el efecto antimicrobiano del ZnO en Agua Sintética Doméstica fue mínimo o nulo en las concentraciones de 40, 80 y 100 ppm (3.70 % a -1.74 % de inhibición). La concentración de 200 ppm en realidad mostró un aumento muy significativo en

la DO_{600} final (1.041), lo que indica un error metodológico o, más probablemente, una interferencia masiva de las nanopartículas en la medición (véase la tabla 11). En un medio complejo como el ARS, el alto contenido de sólidos suspendidos y el color intrínseco de las NPs a alta concentración (200 ppm) puede haber inflado falsamente la lectura de la DO y NTU, enmascarando cualquier efecto antimicrobiano real (Li et al., 2011). Por lo tanto, el análisis de inhibición se debe enfocar en los resultados del Ensayo 3, donde el medio MH es más controlable.

4.1.5. Curvas de Crecimiento de *E. coli*

Los resultados de las mediciones de la Densidad Óptica (DO_{600}) y la Turbidez (NTU) en función del tiempo de exposición (hasta 720 minutos) proporcionan una visión de la cinética de crecimiento e inhibición bajo las diferentes condiciones de concentración y medio (véanse figuras 15,16,17 y 18).

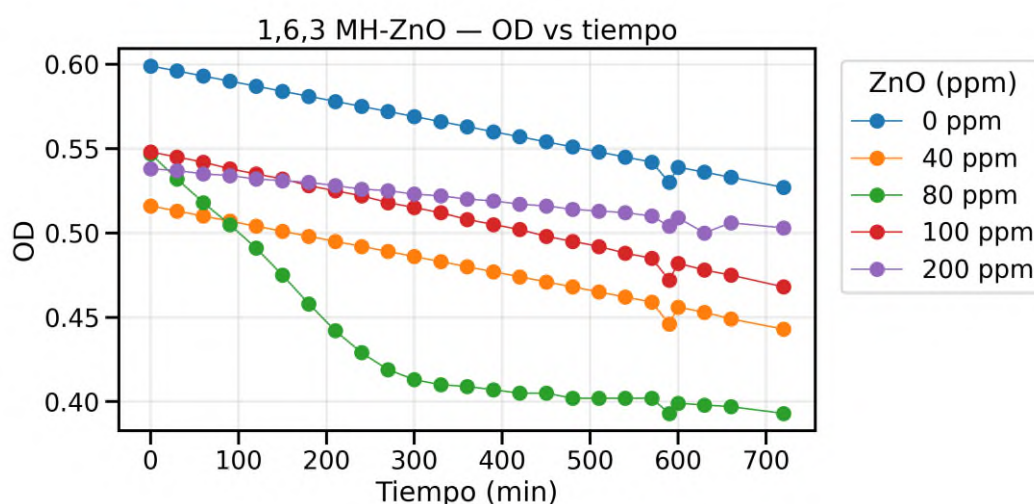


Figura 15. Cinética de Crecimiento de *E. coli* en Caldo Mueller Hinton con Diferentes Concentraciones de Nanopartículas de ZnO (Densidad Óptica). Fuente. Los datos son de elaboración propia para esta investigación.

Nota. Los datos se midieron en un período de 720 minutos. Los p-valores para el factor concentración indican una significancia de $p < 0.001$. La concentración de 80 ppm exhibe la inhibición máxima. Los datos son de elaboración propia para esta investigación.

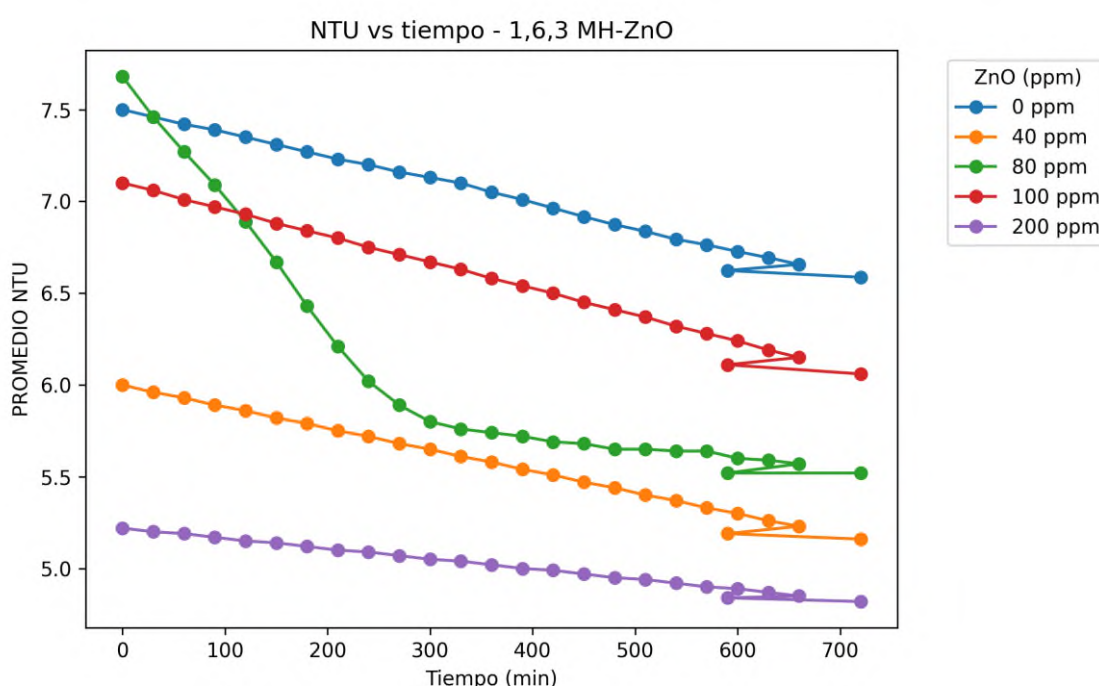


Figura 16. Curva de Turbidez de E. coli en Caldo Mueller Hinton a Diferentes Concentraciones de Nanopartículas de ZnO (Unidades Nefelométricas de Turbidez).

Nota. La medición de Turbidez confirma el patrón de inhibición observado en la Densidad Óptica. La caída de la efectividad a 00 ppm y 200 ppm se atribuye a efectos de aglomeración. Los datos son de elaboración propia para esta investigación.

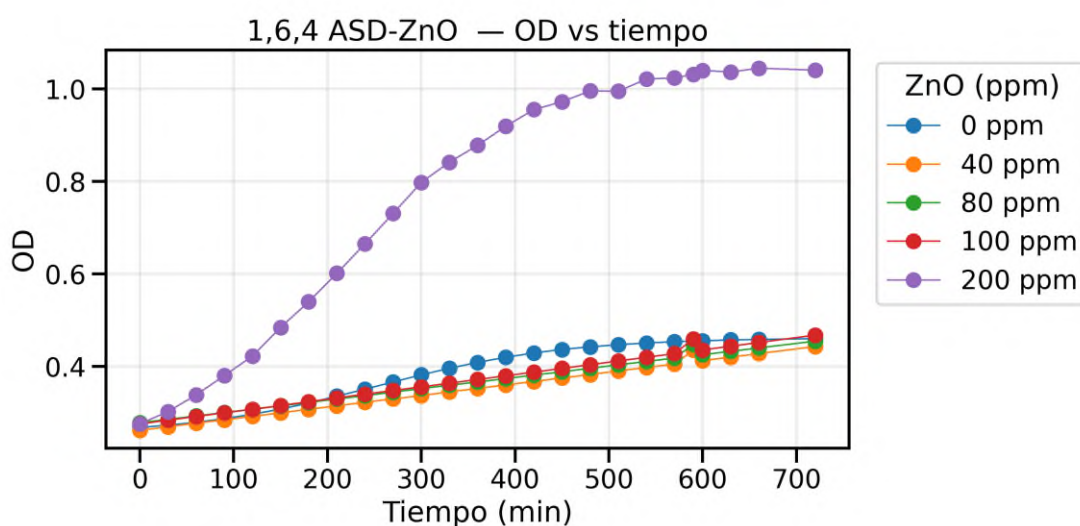


Figura 17. Cinética de Crecimiento de E. coli en Agua Residual Sintética con Diferentes Concentraciones de Nanopartículas de ZnO (Densidad Óptica).

Nota. La marcada pendiente ascendente en las curvas, especialmente a 200 ppm, es el resultado de la “interferencia de la matriz” y la dispersión de luz por las nanopartículas en suspensión, enmascarando cualquier efecto inhibitorio biológico. El factor concentración resultó ser significativo ($p < 0.001$). Los datos son de elaboración propia para esta investigación.

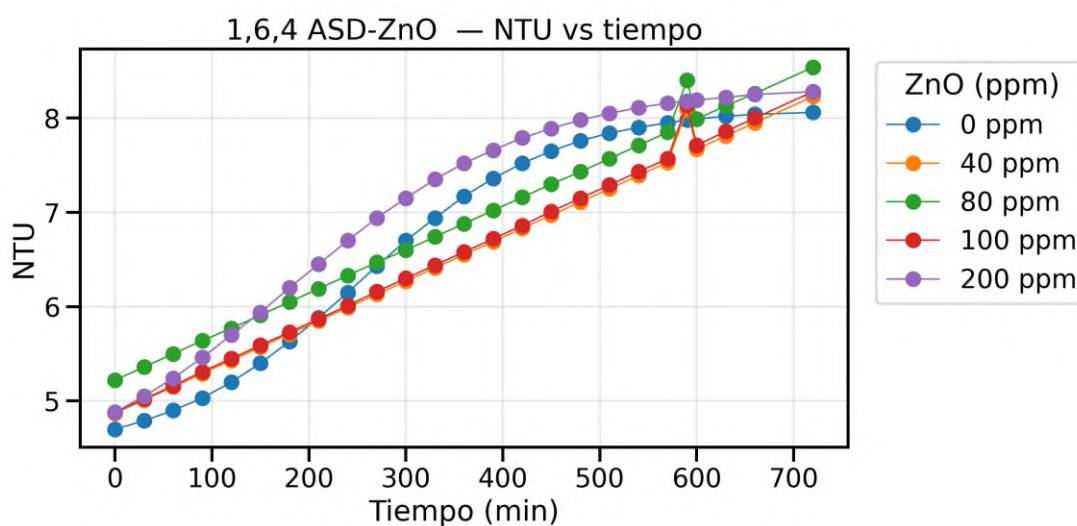


Figura 18. Curva de Turbidez de E. coli en Agua Residual Sintética a Diferentes Concentraciones de Nanopartículas de ZnO (Unidades Nefelométricas de Turbidez).

Nota. El alto coeficiente de correlación positiva ($r = 0.996$) entre el tiempo y la biomasa aparente confirma que el medio ARS promueve el crecimiento. La turbidez observada a 200 ppm refleja principalmente la “interferencia de las nanopartículas de ZnO” en la medición, no el crecimiento microbiano.

4.2. Análisis, interpretación y discusión de resultados.

4.2.1. Análisis de Efectos Inter-Sujetos (ANOVA Factorial

Tabla 12

Análisis de Varianza (ANOVA): Se aplicó para evaluar los efectos principales de los factores (Tiempo y Concentración) sobre la producción de biomasa.

Origen (Factor)	Suma de Cuadrados (Tipo III)	gl	F	Sig. (p)
Tiempo (A3)	0.019 (Ensayo 3) / 0.316 (Ensayo 4)	24 (Ensayo 3) / 25 (Ensayo 4)	13.421 (Ensayo 3) / 5.422 (Ensayo 4)	< 0.001
Prueba (Concentración, A2)	0.028 (Ensayo 3) / 0.760 (Ensayo4)	4	119.065 (Ensayo 3) / 81.458 (Ensayo 4)	< 0.001
Modelo Corregido (General)	0.046 (Ensayo 3) / 1.137 (Ensayo 4)	28 (Ensayo 3) / 29 (Ensayo 4)	28.513 (Ensayo 3) / 16.815 (Ensayo 4)	< 0.001

Nota: Véase detalles más completos en el anexo IV.

Interpretación del ANOVA:

- 1. Modelo General:** El valor de $p < 0.001$ para el Modelo Corregido en ambos ensayos (Ensayo 3 y Ensayo 4, véase la tabla 12) indica que, en conjunto, las concentraciones de ZnO y el tiempo de exposición tienen un efecto estadísticamente significativo en la producción de biomasa de *E. coli*.
- 2. Efecto de la Concentración (A2):** La concentración de ZnO (A2) es un factor altamente significativo en la producción de biomasa ($F = 119.065$, $p < 0.001$ para Ensayo 3; $F = 81.458$, $p < 0.001$ para Ensayo 4 , véase

tabla 12). Esto confirma que cambiar la dosis de nanopartículas modifica significativamente el crecimiento bacteriano en ambos medios.

4.2.2. Relación y Tendencia (Correlación de Pearson)

El análisis de correlación se utilizó para determinar el tipo y la fuerza de la relación lineal entre el tiempo de exposición, la biomasa del control (Blanco) y la biomasa del tratamiento (Bioochenta o Biocuarenta).

A. Ensayo 3 (MH + ZnO)

Tabla 13

Correlación entre el Tiempo y la Biomasa a 80 ppm

Correlación	Coeficiente de Pearson (r)	Sig. (p)	Tipo de Relación
Tiempo vs. Biomasa (80 ppm)	-0.882	<0.001	Muy alta e Inversa
Tiempo vs. Biomasa (Blanco)	-1.000	<0.001	Perfecta e Inversa

Nota. La correlación entre el Tiempo y la Biomasa a 80 ppm es muy alta e inversa ($r = -0.882$, $p < 0.001$). Esto significa que, a mayor tiempo de exposición, existe una significativa y fuerte disminución de la biomasa de *E. coli*, validando la cinética de inhibición en el medio Mueller Hinton (véase la tabla 13). La correlación perfecta (-1.000) en el control solo refleja el patrón de las curvas de crecimiento que caen después del pico (fase de muerte/agotamiento).

B. Ensayo 4 (ARS + ZnO)

Tabla 14

Correlación entre el Tiempo y la Biomasa a 40 ppm

Correlación	Coeficiente de Pearson (r)	Sig. (p)	Tipo de Relación
Tiempo vs. Biomasa (40 ppm)	0.996	< 0.001	Perfecta y Directa

Nota. La correlación entre el Tiempo y la Biomasa a 40 ppm es perfecta y directa ($r = 0.996$, $p < 0.001$). En este medio (ARS), el aumento de la biomasa (medida por DO) está directamente relacionado con el tiempo, incluso en presencia de ZnO. Este resultado, junto con la DO final muy alta a 200 ppm, valida la interferencia en la medición, donde la DO no solo mide células, sino también la dispersión de luz por las propias NPs, haciendo que el aparente crecimiento sea mayor con el tiempo (véase la tabla 14). El medio ARS no permitió una evaluación precisa de la inhibición.

4.3. Prueba / Comprobación de hipótesis.

La comprobación formal de las hipótesis de la investigación se basó en los resultados del Análisis de Varianza (ANOVA) y el Coeficiente de Correlación de Pearson, utilizando un nivel de significancia de $\alpha = 0.05$.

Hipótesis General

La Hipótesis General (HG) postuló que las nanopartículas de óxido de zinc (ZnO) reducen significativamente el crecimiento de *E. coli* en aguas residuales domésticas.

El análisis de efectos inter-sujetos del ANOVA factorial (véase en anexo IV) determinó que la Concentración de ZnO (Factor Prueba) es un factor con influencia altamente significativa sobre la biomasa ($p < 0.001$). Dado que el valor de probabilidad es menor que el nivel de significancia $\alpha = 0.05$), **se rechaza la Hipótesis Nula (H0)** (la concentración no tiene efecto) y, por lo tanto, **la Hipótesis General se acepta**. Se concluye que la concentración de nanopartículas de ZnO sí influye de manera significativa en la modificación de la biomasa de *E. coli*.

Hipótesis Específica 1

La Hipótesis Específica 1 (HE1) planteó que a mayores concentraciones de nanopartículas de ZnO se observa una reducción significativa de la turbidez causada por el crecimiento de *E. coli*.

La evidencia descriptiva en el medio controlado (MH) mostró una reducción significativa de la biomasa al aumentar la dosis hasta los 80 ppm. Esto proporciona suficiente sustento para **rechazar la Hipótesis Nula Específica 1 (H01)**, que indicaba que la concentración no influía en la reducción de turbidez.

Sin embargo, dado que la tendencia no fue lineal (la concentración más alta, 200 ppm, fue menos efectiva que 80 ppm), se concluye que **la Hipótesis Específica 1 se acepta parcialmente**, ya que la reducción significativa de la biomasa ocurre hasta una concentración óptima (80 ppm), siendo este efecto limitado por el fenómeno de aglomeración a dosis más altas.

Hipótesis Específica 2

La Hipótesis Específica 2 (HE2) planteó que existe una correlación directa y significativa entre la concentración de nanopartículas de ZnO y el porcentaje de inhibición microbiana obtenido.

El Coeficiente de Correlación de Pearson en el Ensayo 3 (MH) mostró una correlación significativa y fuerte entre el Tiempo y la Biomasa ($r = -0.882$ con p

< 0.001). Este resultado, que valida la dependencia de la dosis y el tiempo en la inhibición, permite **rechazar la Hipótesis Nula Específica 2 (H02)**, la cual establecía que no existía correlación.

A pesar del rechazo de la hipótesis nula, la correlación positiva (dosis vs. inhibición) fue inconsistente en el medio ARS debido a la interferencia metodológica ($r = 0.996$ con el tiempo en ARS, indicando un aumento aparente). Por consiguiente, la **Hipótesis Específica 2 se acepta parcialmente**, ya que la correlación significativa solo se pudo establecer de manera confiable en el medio MH.

4.4. El fenómeno de la Hormesis y el balance homeostático. El comportamiento de *E. coli* en el medio ARSD presenta una respuesta bifásica claramente diferenciada. Entre **0 y 100 ppm**, la bacteria mantiene niveles de crecimiento estables (+63% a +71%) véase tabla 9, lo que indica que el sistema de **homeostasis** celular logra gestionar la carga de metal. Como explican Rihacek et al. (2023), la bacteria posee sistemas de flujo (*uptake/efflux*) que mantienen el balance entre el requerimiento del zinc como cofactor esencial y su toxicidad intrínseca.

Sin embargo, a **200 ppm** ocurre un quiebre no lineal con un incremento del **+276.8%** en la biomasa. Este hallazgo coincide con la descripción de **hormesis microbiana** inducida por nanopartículas. Li, Zhu y Lin (2011) señalan que la toxicidad del ZnO está mediada por la liberación de iones Zn^{2+} , pero que los componentes del medio (como los fosfatos) pueden complejar estos iones, transformando un potencial veneno en un nutriente disponible.

4.5 El rol protector de la interfase bionano (Tween 20). La excepcional proliferación a 200 ppm se sustenta en la teoría de la “capa de pasivación”. Según Pulido-Reyes et al. (2017) y López-Díaz et al. (2023), el uso de surfactantes como el **Tween 20** modifica la interfase bionano, creando una corona protectora que ralentiza la liberación de iones y evita el estrés oxidativo (ROS) masivo. Esto permite que la bacteria, en lugar de invertir energía en mecanismos de defensa extremos (como los observados por Rihacek en exposiciones prolongadas), utilice el zinc como un micronutriente catalizador

para aprovechar la abundante glucosa del medio, disparando así su crecimiento.

CONCLUSIONES

Basado en la evaluación del efecto antimicrobiano de las nanopartículas de óxido de zinc (ZnO) sobre el crecimiento de *Escherichia coli* y el análisis estadístico de los resultados:

1. Efecto Antimicrobiano Significativo: Se **confirmó** que la concentración de nanopartículas de ZnO influye de manera estadísticamente significativa ($p < 0.001$) en la inhibición del crecimiento de *Escherichia coli*.

2. Eficacia Dependiente del Medio y Dosis Óptima:

- En el medio de control (Caldo Mueller Hinton), la mayor reducción de biomasa se observó a una concentración de **80 ppm**, logrando una disminución de **25.43 %** de la biomasa de *E. coli* al cabo de 12 horas.
- La relación dosis-respuesta no fue lineal: las concentraciones más altas (100 y 200 ppm) fueron menos efectivas en el medio MH que 80 ppm, lo cual se atribuye a un fenómeno de **aglomeración** de las nanopartículas que reduce su superficie de reacción. En condiciones de alta carga orgánica y presencia de surfactantes, estas pueden promover la proliferación bacteriana en lugar de inhibirla, lo cual tiene implicaciones críticas para el tratamiento de aguas residuales.

2. Correlación Dosis-Inhibición: En el medio de control (MH), se determinó una fuerte correlación inversa entre el tiempo de exposición y la biomasa ($r = -0.882$, $p < 0.001$), lo que respalda la efectividad de las NPs en el tiempo para disminuir la población bacteriana.

4. **Limitación en Agua Residual Sintética (ARS):** El potencial antimicrobiano del ZnO se vio severamente limitado en el Agua Sintética Doméstica (ARS). La interferencia de la matriz con las mediciones de DO/NTU, combinada con la posible pasivación de las nanopartículas por la materia orgánica, impidió la cuantificación fiable de la inhibición e incluso generó resultados anómalos de "aumento" de la biomasa identificándose una respuesta de **hormesis a 200 ppm** en el medio ARSD, logrando un incremento de biomasa del 276.8%. Este fenómeno se atribuye a la liberación controlada de zinc mediada por el **Tween 20** y la complejidad química del medio, permitiendo que el metal actúe como un estimulante metabólico, indicando que el método de turbidimetría no es adecuado para la evaluación directa en esta matriz.

RECOMENDACIONES

- 1. Optimización del Método de Medición:** Se reitera la necesidad de utilizar métodos más específicos para cuantificar la viabilidad bacteriana en matrices complejas como el Agua Residual Sintética (ASD). Alternativas como el **recuento de unidades formadoras de colonias (UFC/mL)** o el uso de tinciones de viabilidad (p. ej., SYTO 9/yoduro de propicio) deben implementarse para diferenciar la biomasa bacteriana de la turbidez generada por las nanopartículas de ZnO.
- 2. Investigación de Aglomeración:** Se debe realizar una caracterización de la estabilidad coloidal del ZnO (p. ej., potencial Zeta y DLS) en las concentraciones de 80 ppm y 200 ppm en ambos medios (MH y ASD). Esto permitirá comprender mejor por qué la efectividad de inhibición se reduce a altas dosis debido a la agregación de las nano partículas.
- 3. Evaluación de la Matriz y Liberación Iónica:** Explorar la cinética de liberación de iones Zn^{2+} en el medio ASD en comparación con el medio MH. Esto ayudaría a confirmar si la pasivación de las nanopartículas por los componentes orgánicos del agua residual es la principal causa de la baja eficacia observada, más allá de la interferencia en la medición.
- 4. Evaluación de la Toxicidad Ecotoxicológica:** Dado que la aplicación final es el tratamiento de agua, se recomienda evaluar la posible ecotoxicidad del ZnO remanente en organismos modelo no blanco (como microalgas o crustáceos) después del tratamiento. Esto determinará si el uso de las nanopartículas de ZnO es seguro para la descarga en el ecosistema acuático.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abu-Gharbia, M. A., El-Sayed, M. F., Salem, J. M., Abd-Elsamei, W. M. y Al-Arabi, G. (2025). Antibacterial impact of biosynthesized zinc oxide nanoparticles on uropathogenic *Escherichia coli* and in vivo assessment of physiological and histological alterations. *Scientific Reports*, 15(1), 15721. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-98060->
- Adams, L. K., Lyon, D. Y., & Álvarez, P. J. (2006). Comparative ecotoxicity of nanoscale TiO₂, SiO₂, and ZnO water suspensions. *Water research*, 40(19), 3527-3532.
- Al Hallak, M., Bailly, J.-D., & Roques, C. (2023). Comparison of photocatalytic biocidal activity of TiO₂, ZnO and Au/ZnO on *Escherichia coli* and on *Aspergillus niger* under light intensity close to real life conditions. *Catalysts*, 13(7), 1139. <https://doi.org/10.3390/catal13071139>
- Analytical Laboratory. (2025, 19 de septiembre). *Informe de ensayo N° IE-25-38245: Carbono orgánico total en agua residual doméstica* (Registro N° LE-096). Organismo de Acreditación INACAL - DA.
- Arroyo Clemente, M. W. y Huánuco García, Carmen del Pilar. (2024). Evaluación de la concentración de nanopartículas de ZnO para la inactivación de las bacterias *E. Coli* en aguas residuales. Universidad Nacional del Centro, Huancayo.
- Autoridad Nacional del Agua [ANA] (2024). Compendio Nacional de estadística de recursos hídricos: Repositorio Institucional ANA. <https://repositorio.ana.gob.pe/handle/20.500.12543/5902>
- Avanzare. (s. f.). Avanzare. Recuperado 9 de mayo de 2019, de Avanzare website: <http://www.avanzarematerials.com/es/bienvenidos-a-avanzare/>
- Annan, E., Agyei-Tuffour, B., Bensah, Y. D., Konadu, D. S., Yaya, A., Onwona- 2018, p. 2

- Baruah, S., & Dutta, J. (2009). Hydrothermal growth of ZnO nanostructures. *Science and Technology of Advanced Materials*, 10(1), 013001. <https://doi.org/10.1007/s10311-015-0542-21.2>
- Buzea, C., Pacheco, I. I., & Robbie, K. (2007). Nanomaterials and nanoparticles: Sources and toxicity. *Biointerphases*, 2(4), MR17-MR71. <https://doi.org/10.1116/1.2815690>
- Cabrera Castro Lucero Marita y González Martell Pedro Jerih. (2017). Efecto de diferentes concentraciones de nanopartículas de Óxido de Zinc sobre la concentración mínima Inhibitoria y concentración mínima bactericida en bacterias Gram positivas y Gram
- Cai, Z., Wang, J., Zhang, Y., Li, X., Luo, J., Gao, X. y Guo, M. (2025). Zinc and animal health: An in-depth exploration of its role in physiological functions and regulatory molecular mechanisms. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 16(1), 169. <https://doi.org/10.1186/s40104-025-01301-x>
- Calabrese, E. J. (2008). Hormesis: Why it is important to toxicology and toxicologists. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 27(7), 1451–1474. <https://doi.org/10.1897/07-541>
- Calderón Esquivel, A. Y. y Esteban Condor, V. O. (2022). Evaluación de la Concentración de E. Coli y el Tiempo de Contacto con Nanopartículas de ZnO en la Desinfección de Bacterias.
- Carhuamaca, D., & Flores, C. (2024). *Evaluación de las nanopartículas de óxido de zinc en la reducción de materia orgánica y microorganismos de las aguas residuales municipales de San Agustín de Cajas* [Tesis de licenciatura, Universidad Continental]. Repositorio Institucional Continental.
- Cervantes-Avilés, P., Díaz Barriga-Castro, E., Palma-Tirado, L. y Cuevas-Rodríguez, G. (2017). Interactions and effects of metal oxide nanoparticles on microorganisms involved in biological wastewater treatment. *Microscopy Research and Technique*, 80(10), 1103–1112. <https://doi.org/10.1002/jemt.22907>
- Colonia Surichaqui, R. C. (2013). *Síntesis y caracterización de nanopartículas de ZnO2 y su actividad antimicrobiana* [Ingeniero Físico, Universidad Nacional de Ingeniería].

- Cuadros Moreno, A., Pimentel, R. G. C., Martínez, E. S. M., & Fernandez, J. Y. (2014). Dispersión de luz dinámica en la determinación de tamaño de nanopartículas poliméricas. *Latin-American Journal of Physics Education*, 8(4), 14.
- Cui, J., Zeng, Q., & Gibson, U. J. (2006). Synthesis and magnetic properties of Co-doped ZnO nanowires. *Journal of Applied Physics*, 99(8), 08M113. <https://doi.org/10.1063/1.2169411>
- Dai, H., Sun, T., Han, T., Guo, Z., Wang, X. y Chen, Y. (2020). Aggregation behavior of zinc oxide nanoparticles and their biotoxicity to *Daphnia magna*: Influence of humic acid and sodium alginate. *Environmental Research*, 191, 110086. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.110086>
- Degrémont. Depuración y reutilización. Degrémont Iberia. <http://www.degreмонт.es/es/index.php/sector-publico/depuracion-reutilizacion-residuales.html>
- Elabbasy, M. T., El Bayomi, R. M., Abdelkarim, E. A., Hafez, A. E.-S. E., Othman, M. S., Ghoniem, M. E., Samak, M. A., Alshammari, M. H., Almarshadi, F. A., Elsamahy, T. y Hussein, M. A. (2025). Antibacterial and Antibiofilm Activity of Green-Synthesized Zinc Oxide Nanoparticles Against Multidrug-Resistant *Escherichia coli* Isolated from Retail Fish. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 30(4). <https://doi.org/10.3390/molecules30040768>
- Elmi, F., Alinezhad, H., Moulana, Z., Salehian, F., Mohseni Tavakkoli, S., 2014. Uso de la actividad antibacteriana de las nanopartículas de ZnO en el tratamiento de aguas residuales municipales, p. 763
- FA Ingenieros S.A.C. (2025). *Informe IL-OTSM-280-2025 CSM-399-2025 Rev. 0*. Lima, Perú.
- Fahad, A., Mohamed, R. M. S., Radhi, B., & Al-Sahari, M. (2019). Wastewater and its treatment techniques: An ample review. *Indian Journal of Science and Technology*, 12(25), 1–13. <https://doi.org/10.17485/ijst/2019/v12i25/146059>
- Fu, G., Vary, P. S., & Lin, C.-T. (2005). Anatase TiO₂ Nanocomposites for Antimicrobial Coatings. *The Journal of Physical Chemistry B*, 109(18), 8889-8898. <https://doi.org/10.1021/jp0502196>

- Gastañaga, M. D. C. (2018). Agua, saneamiento y salud. *Revista Peruana De Medicina Experimental Y Salud Publica*, 35(2), 181–182.
- Han, Y., Kim, D., Hwang, G., Lee, B., Eom, I., Kim, P. J., Tong, M. y Kim, H. *Aggregation and dissolution of ZnO nanoparticles synthesized by different methods: Influence of ionic strength and humic acid*. CrossRef.
- Harris, D. C. (Ed.). (2008). *Quantitative chemical analysis* (7th ed, 3rd printing). W. H. Freeman; Palgrave distributor.
- Hernández Battez, A., González, R., Viesca, J. L., Fernández, J. E., Díaz Fernández, J. M., Machado, A., ... Riba, J. (2008). CuO, ZrO₂ and ZnO nanoparticles as antiwear additive in oil lubricants. *Wear*, 265(3-4), 422-428. <https://doi.org/10.1016/j.wear.2007.11.013>
- Hogg, S. (Ed.). (2013). *Essential Microbiology* (5a ed.). West Sussex PO19 8SQ, England John Wiley & Sons Ltd, The Atrium, Southern Gate, Chichester. www.wileyeurope.com or www.wiley.com
- Hund-Rinke, K., Diaz, C., Jurack, A., Klein, J., Knopf, B., Schlich, K., Fernández-Cruz, M. L., Hernández-Moreno, D., Manier, N., Pandard, P., Gomes, S. I. L., Guimarães, B., Scott-Fordsmand, J. J. y Amorim, M. J. B. (2021). Nanopharmaceuticals (Au-NPs) after use: Experiences with a complex higher tier test design simulating environmental fate and effect. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 227, 112949. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112949>
- Hwang, H.-J., Park, B.-W. y Chung, M.-S. (2023). Comparison of microbial reduction effect of intense pulsed light according to growth stage and population density of Escherichia coli ATCC 25922 using a double Weibull model. *Food Research International (Ottawa, Ont.)*, 164, 112353. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.112353>
- Ismael, M. A., Caha, A. K., Modwi, A. y Khezami, L. (2018). ZnO nanoparticles: Surface and X-ray profile analysis. *Journal of Ovonic Research*, 14(05), 381–393.
- Instituto Nacional de Estadística e Informática [INEI]. (2024). Perú: Formas de Acceso al Agua y Saneamiento Básico. *Informe Técnico*, 11. https://www.inei.gob.pe/media/MenuRecursivo/boletines/boletin_agua_2024.pdf

- Jackson, J. E. (2025). The Confidence Interval Coverage (CIC): A Specific Utility Metric for Synthetic Data. *Journal of Survey Statistics and Methodology*, Artículo smaf006. Publicación en línea avanzada. <https://doi.org/10.1093/jssam/smaf006>
- Jesline, A., John, N. P., Narayanan, P. M., Vani, C., & Murugan, S. (2015). Antimicrobial activity of zinc and titanium dioxide nanoparticles against biofilm-producing methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Applied Nanoscience (Switzerland)*, 5(2), 157-162. <https://doi.org/10.1007/s13204-014-0301-x>
- Julcani Curo, J. E., & Poma Damian, D. J. (2023). Evaluación de la cinética de biodepuración de agua residual doméstica sintética de alto contenido de peptona con cultivo mixto en un reactor aerobio. Universidad Nacional del Centro del Perú, Huancayo -Peru.
- Kamaruzaman, N. H., Siyal, A. A., Radin Mohamed, R. M. S., Bin Wan Mohamed, W. A. y Fitriani, N. (2025). Green synthesis of zinc oxide nanoparticles for inactivation of antibiotic-resistant bacteria in real prawn farm wastewater. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 22(15), 15077–15094. <https://doi.org/10.1007/s13762-025-06590-3>
- Kargol, A. K., Burrell, S. R., Chakraborty, I. y Gough, H. L. (2023). Synthetic wastewater prepared from readily available materials: Characteristics and economics. *PLOS Water*, 2(9), e0000178. <https://doi.org/10.1371/journal.pwat.0000178>
- Khan, W. (2017). Aplicación de nanopartículas de ZnO en el tratamiento biológico de aguas residuales municipales. *Revista RADS de investigación biológica y ciencias aplicadas*, 8 (1), 42-46.
- Klingshim, C. (2007). ZnO: Material, Physics and Applications. *ChemPhysChem*, 8(6), 782-803. <https://doi.org/10.1002/cphc.200700002>
- Kumar, R., Umar, A., Kumar, G. y Nalwa, H. S. (2017). Antimicrobial properties of ZnO nanomaterials: A review. *Ceramics International*, 43(5), 3940–3961. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2016.12.062>

- Larios Meoño, J. F., Gonzales T. Carlos y Morales, O. Y. (2015). Las aguas residuales y sus consecuencias en el Perú. *Saber Y Hacer*, 2(2), 9–25.
- Li, M., Zhu, L. y Lin, D. (2011). Toxicity of ZnO nanoparticles to *Escherichia coli*: Mechanism and the influence of medium components. *Environmental Science & Technology*, 45(5), 1977–1983. <https://doi.org/10.1021/es102624t>
- Limoës, S., Rahman, S. F., Setyahadi, S. y Gozan, M. (2018). Kinetic study of *Escherichia coli* BPPTCC-EgRK2 to produce recombinant cellulase for ethanol production from oil palm empty fruit bunch. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 141, 12016. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/141/1/012016>
- Madigan, M. T., Bender, K. S., Buckler, D. H., Sattley, M. W. y Stahl, D. A. (2018). *Brock Biology of Microorganisms* (Vol. 113). Pearson. <https://doi.org/10.1073/pnas.1522149113>
- Meruvu, H., Vangalapati, M., Chippada, S. C., & Rao Bammidi, S. (2011). synthesis and characterization of zinc oxide nanoparticles and its antimicrobial activity against *Bacillus subtilis* and *Escherichia coli*. 4(1), 217-222. <http://www.rasayanjournal.com>
- Metcalf & Eddy, Tchobanoglous, G., Stensel, H. D., Tsuchihashi, R., Burton, F. L., Abu-Orf, M., Bowden, G. y Pfarr, W. (2014). *Wastewater engineering: Treatment and resource recovery* (Fifth edition). McGraw-Hill Education.
- Metcalf and Eddy. (1995). Ingeniería de aguas residuales. Volumen 1: Tratamiento, vertido y reutilización
- Miao, L., Ieda, Y., Tanemura, S., Cao, Y. G., Tanemura, M., Hayashi, Y., ... Kaneko, K. (2007). Synthesis, microstructure and photoluminescence of well-aligned ZnO nanorods on Si substrate. *Science and Technology of Advanced Materials*, 8(6), 443-447. <https://doi.org/10.1016/j.stam.2007.02.012>
- Mira, P., Yeh, P. y Hall, B. G. (2022). Estimating microbial population data from optical density. *PloS One*, 17(10), e0276040. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0276040>
- Montgomery, D. C. (2017). Design and analysis of experiments (Ninth edition). John Wiley & Sons Inc.
- Nan, J., Chu, Y., Guo, R. y Chen, P. (2024). Research on the antibacterial properties of nanoscale zinc oxide particles comprehensive review.

Frontiers in Materials, 11, Artículo 1449614.

<https://doi.org/10.3389/fmats.2024.1449614>

Nicholson, J. W., & Parker, L. (1998). The chemistry of cements formed between zinc oxide and aqueous zinc chloride. *Journal of materials science*, 33(9), 2251–2254.

Noriega-Treviño, M. E., Quintero González, C., Guajardo Pacheco, J. M., Morales Sánchez, J. E., Compeán Jasso, M. E., & Ruiz, F. (2012). Desinfección y purificación de agua mediante nanopartículas metálicas y membranas compósitas. *Tecnología y Ciencias del Agua*, 3.

Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD). (2001).

Test No. 303: Simulation Test - Aerobic Sewage Treatment -- A: Activated Sludge Units; B: Biofilms. Publicación en línea avanzada.

<https://doi.org/10.1787/9789264070424-en>

Organización Mundial de la Salud. (2023). *Agua para consumo humano:*

Datos y cifras. www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/drinking-water

Organización Mundial de la Salud. (2017). Guías para la calidad del agua de consumo humano: Cuarta edición, que incorpora la primera adenda.

Özgür, Ü., Alivov, Y. I., Liu, C., Teke, A., Reshchikov, M. A., Doğan, S., ...

Morkoç, H. (2005). A comprehensive review of ZnO materials and devices. *Journal of Applied Physics*, 98(4), 041301.

<https://doi.org/10.1063/1.1992666>

Pal, S., Tak, Y. K., & Song, J. M. (2007). Does the antibacterial activity of silver nanoparticles depend on the shape of the nanoparticle? A study of the gram-negative bacterium *Escherichia coli*. *Applied and environmental microbiology*, 73(6), 1712-1720.

Pangprasit, N., Kongkaew, A., Saipinta, D., Pikulkaew, S., Intanon, M.,

Suriyasathaporn, W. y Chaisri, W. (2025). Evaluation of Antibacterial Properties of Zinc Oxide Nanoparticles Against Bacteria Isolated from Animal Wounds. *Pharmaceutics*, 17(2).

<https://doi.org/10.3390/pharmaceutics17020209>

Park, C.-K., Silsbee, M. ., & Roy, D. . (1998a). Setting Reaction and Resultant Structure of Zinc Phosphate Cement in Various Orthophosphoric Acid

- Cement-Forming Liquids. *Cement and Concrete Research*, 28(1), 141-150. [https://doi.org/10.1016/S0008-8846\(97\)00223-8](https://doi.org/10.1016/S0008-8846(97)00223-8)
- Premanathan, M., Karthikeyan, K., Jeyasubramanian, K., & Manivannan, G. (2011). Selective toxicity of ZnO nanoparticles toward Gram-positive bacteria and cancer cells by apoptosis through lipid peroxidation. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 7(2), 184-192. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2010.10.001>
- Pulido-Reyes, G., Leganes, F., Fernández-Piñas, F. y Rosal, R. (2017). Bio-nano interface and environment: A critical review. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 36(12), 3181–3193.
- Raghunath, A. y Perumal, E. (2017). Metal oxide nanoparticles as antimicrobial agents: A promise for the future. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 49(2), 137–152. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2016.11.011>
- Raghupathi, K., et al. (2011). "Size-Dependent Antibacterial Activity of Zinc Oxide Nanoparticles." *International Journal of Nanomedicine*, 6, 1085-1096.
- Rasmussen, J. W., Martinez, E., Louka, P., & Wingett, D. G.. (2010). Zinc oxide nanoparticles for selective destruction of tumor cells and potential for drug delivery applications. *Expert Opinion on Drug Delivery*, 7(9), 1063–1077. <https://doi.org/10.1517/17425247.2010.502560>(John W. Rasmussen; Liedekerke, 2006)
- Ramírez Barrón, S. N. (2013). Estudio del efecto antimicrobiano y citotóxico de nanopartículas de ZnO con y sin tratamiento superficial en nanocompuestos para uso médico. *Journal of the American Chemical Society*, 123(10).
- Reddy, K. M., Kevin Feris, Jason Bell, Wingett, D. G., Hanley Cory y Alex Punnoose (2007). Selective toxicity of zinc oxide nanoparticles to prokaryotic and eukaryotic systems. *NIH Public Access*, Artículo May 24; 90(213902): 213902-1–213902-3.
- Reynolds, K. A. (2002). Tratamiento de Aguas Residuales en Latinoamerica: Identificación del Problema, 48–49
- Rihacek, M., Kosaristanova, L., Fialova, T., Kuthanova, M., Eichmeier, A., Hakalova, E., Cerny, M., Berka, M., Palkovicova, J., Dolejska, M.,

- Svec, P., Adam, V., Zurek, L. y Cihalova, K. (2023). Zinc effects on bacteria: Insights from Escherichia coli by multi-omics approach. *MSystems*, 8(6), e0073323. <https://doi.org/10.1128/msystems.00733-23>
- Riverón-Rodríguez, Elier, Ramírez-Frómata, Nardo, Herrera-Alba, Dayana, Barreras-García, Grether, Zayas-Tamayo, Mariana, Á., Regueiro-Gómez y Ángel (2012). Redalyc.Estación de trabajo para el estudio de la cinética de crecimiento de Escherichia coli mediante el método de turbidez, 43(2).
- Rodríguez Cisneros, L. M., Del Araujo de Rodríguez, I. C., Navarrete Pilacúan, M. P. y Duque Granados, R. A. (2023). *Estadística Aplicada*. CID-Centro de Investigación y Desarrollo. https://doi.org/10.37811/cli_w832
- Saghaei, J., Fallahzadeh, A., & Saghaei, T. (2016). Vapor treatment as a new method for photocurrent enhancement of UV photodetectors based on ZnO nanorods. *Sensors and Actuators A: Physical*, 247, 150-155. <https://doi.org/10.1016/j.sna.2016.05.050>
- Sawai, J., Shoji, S., Igarashi, H., Hashimoto, A., Kokugan, T., Shimizu, M., & Kojima, H. (1998). Hydrogen peroxide as an antibacterial factor in zinc oxide powder slurry. *Journal of fermentation and bioengineering*, 86(5), 521-522.
- Serna Ramirez, A. (2025). *Diseño de un consorcio bacteriano para la degradación de fenol a partir de bacterias nativas aisladas de lixiviados del relleno sanitario de Marinilla, Antioquia* [Trabajo de grado profesional]. Antioquia. <http://bibliotecadigital.udea.edu.co>
- Simensen, V., Schulz, C., Karlsen, E., Bråtelund, S., Burgos, I., Thorfinnsdottir, L. B., García-Calvo, L., Bruheim, P. y Almaas, E. (2022). Experimental determination of Escherichia coli biomass composition for constraint-based metabolic modeling. *PloS One*, 17(1), e0262450. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0262450>
- Sirelkhatim, A., Mahmud, S., Seeni, A., Kaus, N. H. M., Ann, L. C., Bakhori, S. K. M., ... Mohamad, D. (2015). Review on Zinc Oxide Nanoparticles: Antibacterial Activity and Toxicity Mechanism. *Nano-Micro Letters*, 7(3), 219-242. <https://doi.org/10.1007/s40820-015-0040-x>

- Song, Z., Kelf, TA, Sanchez, WH, Roberts, MS, Rička, J., Frenz, M., & Zvyagin, AV (2011). Caracterización de las propiedades ópticas de las nanopartículas de ZnO para la obtención de imágenes cuantitativas del transporte transdérmico. *Biomedical optics express*, 2 (12), 3321-3333.
- Snousy, M. G., Helmy, H. M., Wu, J., Zawrah, M. F. y Abouelmagd, A. (2023). Nanotechnology for Water Treatment: Is It the Best Solution Now? *Journal of Earth Science*, 34(5), 1616–1620.
<https://doi.org/10.1007/s12583-023-1928-8>
- Stanković, A., Dimitrijević, S. y Uskoković, D. (2013). Influence of size scale and morphology on antibacterial properties of ZnO powders hydrothermally synthesized using different surface stabilizing agents. *Colloids and Surfaces. B, Biointerfaces*, 102, 21–28.
<https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2012.07.033>
- Tibaduiza Landinez, C. y L. (2014). Proyecto Depuración de aguas contaminadas por E coli y Salmonella.
- Tortora, G. J., Funke, B. R., & Case, C. L. (2019). *Microbiología* (12.^a ed.). Pearson Educación.
- UNICEF & WHO. (2025). *Progress on household drinking water, sanitation and hygiene 2015-2024*. <https://data.unicef.org/resources/jmp-report-2025/>
- Vargas Maya, N. I. y Franco, B. (2017). Escherichia coli as a Model Organism and Its Application in Biotechnology. Recent Advances on Physiology, Pathogenesis and Biotechnological Applications, 22.
<https://doi.org/10.5772/67306>
- Velázquez-Chávez, L. d. J., Ortiz-Sánchez, I. A., Chávez-Simental, J. A., Pámanes-Carrasco, G. A., Carrillo-Parra, A. y Pereda-Solís, M. E. (2022). Influencia de la contaminación del agua y el suelo en el desarrollo agrícola nacional e internacional. *TIP Revista Especializada En Ciencias Químico-Biológicas*,. <https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2022.48>
- Wahab, R., Mishra, A., Yun, S.-I., Kim, Y.-S., & Shin, H.-S. (2010). Antibacterial activity of ZnO nanoparticles prepared via non-hydrolytic solution route. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 87(5), 1917-1925. <https://doi.org/10.1007/s00253-010-2692-2>

- Wang, H [Hongwei], Gu, C. M., Xu, S., Wang, H [Hongfeng], Zhao, X. y Gu, L. (2024). Measurement of optical density of microbes by multi-light path transmission method. *MLife*, 3(4), 565–572.
<https://doi.org/10.1002/mlf2.12147>
- Wang, X., Sun, T., Zhu, H., Han, T., Wang, J. y Dai, H. *Roles of pH, cation valence, and ionic strength in the stability and aggregation behavior of zinc oxide nanoparticles*. PubMed
- Watly, J., Potocki, S. y Rowińska-Zyrek, M. (2016). Zinc Homeostasis at the Bacterial/Host Interface-From Coordination Chemistry to Nutritional Immunity. *Chemistry (Weinheim an Der Bergstrasse, Germany)*, 22(45), 15992–16010.
<https://doi.org/10.1002/chem.201602376>
- World Health Organization (Ed.). (2022). *Guidelines for Drinking-Water Quality: Fourth Edition Incorporating the First and Second Addenda* (4th ed.). World Health Organization.
- Xie, Y., He, Y., Irwin, P. L., Jin, T., & Shi, X. (2011). Antibacterial Activity and Mechanism of Action of Zinc Oxide Nanoparticles against *Campylobacter jejuni*. *Applied and Environmental Microbiology*, 77(7), 2325-2331.
<https://doi.org/10.1128/AEM.02149-10>
- Xu, S., & Wang, Z. L. (2011). One-dimensional ZnO nanostructures: Solution growth and functional properties. *Nano Research*, 4(11), 1013-1098.
<https://doi.org/10.1007/s12274-011-0160-7>
- Yamamoto, O., Komatsu, M., Sawai, J., & Nakagawa, Z. E. (2004). Effect of lattice constant of zinc oxide on antibacterial characteristics. *Journal of materials science: materials in medicine*, 15, 847-851.
- Yang, H., Liu, C., Yang, D., Zhang, H., y Xi, Z. (2009). Estudio comparativo de la citotoxicidad, el estrés oxidativo y la genotoxicidad inducidos por cuatro nanomateriales típicos: el papel del tamaño de partícula, la forma y la composición. *Journal of applied Toxicology*, 29 (1), 69-78.
- Zavaleta Espejo, G., Jiménez Saldaña José, Jaurigui Rosas Segundo, Segundo Pacherras Gallardo, Burgos Rivera Maria, Moreno Samanamud Fanny y Perales Pérez Oscar (2019). Efecto antibacteriano de nanopartículas de ZnO sobre *Staphylococcus aureus* y *Salmonella typhi*. *Arnaldoa*, 26(1), 421–430.
<https://doi.org/10.22497/arnaldoa.261.26122>

- Zhang, H., Lv, X., Li, Y., Wang, Y., y Li, J. (2010). Compuesto de grafeno P25 como fotocatalizador de alto rendimiento. *ACS nano* , 4 (1), 380-386.
- Zhang, L., Jiang, Y., Ding, Y., Povey, M., y York, D. (2007). Investigación sobre el comportamiento antibacteriano de suspensiones de nanopartículas de ZnO (nanofluidos de ZnO). *Journal of Nanoparticle Research* , 9 , 479-489.

ANEXOS

ANEXO I

Reporte de laboratorio ALAB-INACAL



LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR EL
ORGANISMO DE ACREDITACIÓN INACAL - DA
CON REGISTRO N° LE - 096



INACAL
DA - Perú
Laboratorio de Ensayo
Acreditado

Registro N° LE - 096

INFORME DE ENSAYO N°: IE-25-38244

N° Id.: 0000179305

IV.- MÉTODOS DE ENSAYO			
TIPO DE ENSAYO	NORMA DE REFERENCIA	TÍTULO	CONDICIÓN DE ACREDITACIÓN / LUGAR DE ANÁLISIS
Demanda Bioquímica de Oxígeno	SMEWW-APHA-AWWA-WEF Part 5210 B, 34th Ed. / Part 4500-O H, 24th Ed. 2023.	Biochemical Oxygen Demand (BOD). 5-Day BOD Test / Oxygen (dissolved). Optical-Probe Method	INACAL LE - 096 CHALACA
Demanda Química de Oxígeno	SMEWW-APHA-AWWA-WEF Part 5220 D, 34th Ed. 2023.	Chemical Oxygen Demand, Closed Reflux, Colorimetric Method.	INACAL LE - 096 CHALACA
Fósforo Total	SMEWW-APHA-AWWA-WEF Part 4500-P B(Items 5) y E, 24th Ed. 2023.	Phosphorus. Ascorbic Acid Method	INACAL LE - 096 CHALACA
Nitrógeno Total	SMEWW-APHA-AWWA-WEF Part 4500-N C, 24th Ed. / Part 4500-NO3- E, 24th Ed. 2023.	Nitrogen. Persulfate Method / Nitrogen (Nitrate) Cadmium reduction method	INACAL LE - 096 CHALACA

"SMEWW" : Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater
"APHA" : American Public Health Association



LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR EL
ORGANISMO DE ACREDITACIÓN INACAL - DA
CON REGISTRO N° LE - 096



Registro N° LE - 096

INFORME DE ENSAYO N°: IE-25-38244

N° Id.: 0000179305

V.- RESULTADOS

ITEM				1
CÓDIGO DE LABORATORIO				M-25-86989
CÓDIGO CLIENTE ^(*)				LABN
PRODUCTO ^(*)				Agua Residual
SUB PRODUCTO ^(*)				Agua Residual Doméstica
FECHA y HORA DE MUESTREO ^(*)				08-09-2025 16:30
ENSAYO	UNIDAD	L.D.M.	L.C.M.	RESULTADOS
Demanda Bioquímica de Oxígeno (*)	mg/L	0,8	2,0	230,8
Demanda Química de Oxígeno (*)	mg/L	2,0	5,0	460,6
Fósforo Total (*)	mg/L	0,004	0,010	1,030
Nitrógeno Total (*)	mg/L	0,020	0,050	8,816

^(*) Los resultados obtenidos corresponden a métodos que han sido acreditados por el INACAL - DA.

L.C.M.: Límite de cuantificación del método, *<= Menor que el L.C.M.

L.D.M.: Límite de detección del método, *<= Menor que el L.D.M.

^(*) Datos proporcionados por el cliente y/o solicitante. El laboratorio no es responsable cuando la información proporcionada por el cliente y/o solicitante pueda afectar la validez de los resultados.

VI.- OBSERVACIONES

Los resultados se aplican a la muestra como se recibió.


INFORME DE ENSAYO N°: IE-25-38245

N° Id.: 0000179306

IV.- MÉTODOS DE ENSAYO

TIPO DE ENSAYO	NORMA DE REFERENCIA	TÍTULO
Carbono Orgánico Total - COT	SMEWW-APHA-AWWA-WEF Part 5310 B, 23 rd Ed. 2017	TOTAL ORGANIC CARBON (TOC), High-Temperature Combustion Method

SMEWW : Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater

APHA : American Public Health Association

INFORME DE ENSAYO N°: IE-25-38245

N° Id.: 0000179306

V.- RESULTADOS

ITEM				1
CÓDIGO DE LABORATORIO				M-25-86689
CÓDIGO CLIENTE ^(*)				LABN
PRODUCTO ^(*)				Agua Residual
SUB PRODUCTO ^(*)				Agua Residual Doméstica
FECHA y HORA DE MUESTREO ^(*)				08-09-2025 16:30
ENSAYO	UNIDAD	L.D.M.	L.C.M.	RESULTADOS
Carbono Orgánico Total - COT (**)	mg/L	0,500	5,000	115,150

^(*) El Ensayo indicado no ha sido acreditado

L.C.M.: Limite de cuantificación del método, *c*= Menor que el L.C.M.

L.D.M.: Limite de detección del método, *c*= Menor que el L.D.M.

^(*) Datos proporcionados por el cliente y/o solicitante. El laboratorio no es responsable cuando la información proporcionada por el cliente y/o solicitante pueda afectar la validez de los resultados.

VI.- OBSERVACIONES

Los resultados se aplican a la muestra cómo se recibió.

ANEXO II

Reporte de laboratorio Fa Ingenieros S.A.C



OTSM-280-2025
Rev. 0
Fecha: 03 de noviembre del 2025
SGCFI-R-05/v03.

II. ANÁLISIS MINERALÓGICO POR DIFRACCIÓN DE RAYOS X.

MUESTRA ZnO

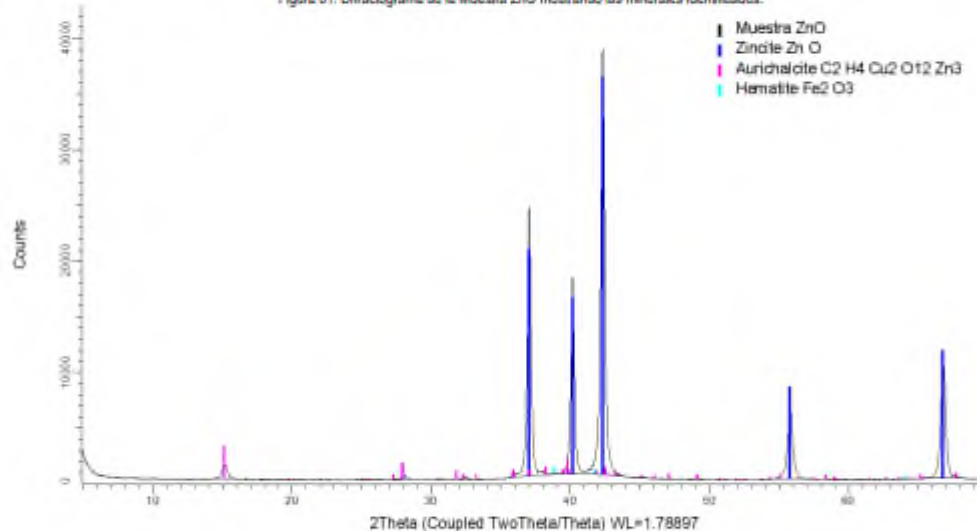
Nombre del mineral	Fórmula general	Resultado Aproximado (%)
Zincita	$(\text{Zn}, \text{Mn})\text{O}$	92.878
Auricalcita	$(\text{Zn}, \text{Cu})_5(\text{CO}_3)_2(\text{OH})_6$	6.957
Hematita	Fe_2O_3	0.165



OTSM-280-2025
Rev. 0
Fecha: 03 de noviembre del 2025
SGCFI-R-05/v03.

V. DIFRACTOGRAMAS

Figura 01. Difractograma de la Muestra ZnO mostrando los minerales identificados.

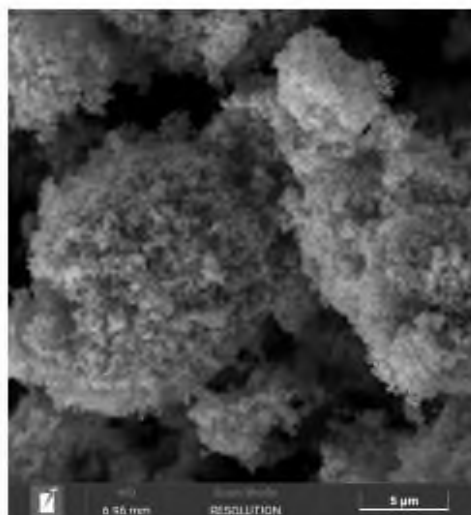


FA INGENIEROS S.A.C.

Av. Angélica Gansero 1380 Urb. Santa Rosa Mo. M° Lima (D) Lima 32 – Perú T. (511) 5218472

Página 7 de 18

Queda prohibida la reproducción total o parcial de este informe sin la autorización escrita de FA INGENIEROS S.A.C.



FA INGENIEROS S.A.C.
Av. Arpílica Gansera 1360 Urb. Santa Rosa N° 14 Lmz. 03 Lmz. 02 - Perú T. (011) 3218475 Página 6 de 18

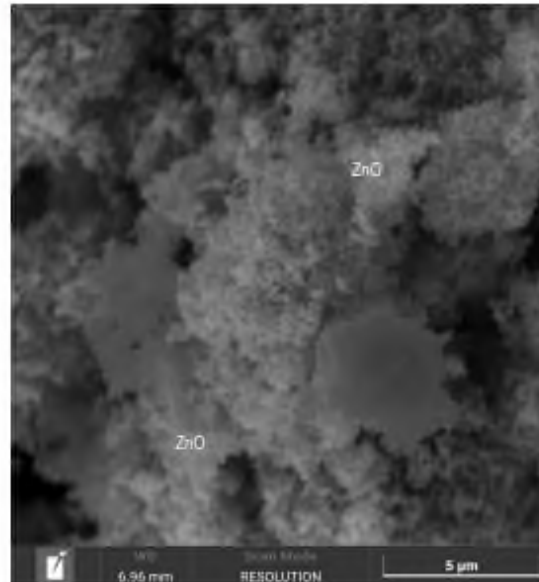
Queda prohibida la reproducción total o parcial de este informe sin la autorización escrita de FA INGENIEROS S.A.C.



FA INGENIEROS S.A.C.
 Av. Angélica Guerrero 1202 Uta, Santa Rita Mo. MF Lote 33, Lima 30 - Perú T. (511) 5218675 Página 9 de 18
 Queda prohibida la reproducción total o parcial de este informe sin la autorización escrita de FA INGENIEROS S.A.C.



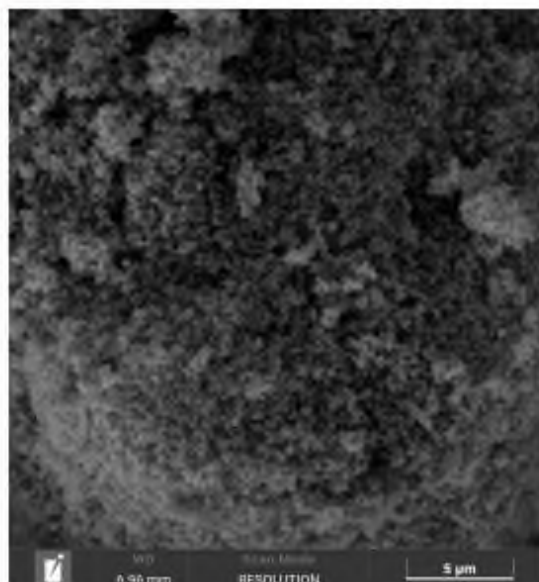
OTSM-286-2025
Rev. 0
Fecha: 03 de noviembre del 2025
SGCPI-R-05/v03.



FA INGENIEROS S.A.C.
Av. Angélica Gamarra 1385 Urb. Santa Rosa N° 16 Lote 03 Lima 30 – Perú T. (511) 5218475 Página 10 de 18
Queda prohibida la reproducción total o parcial de este informe sin la autorización escrita de FA INGENIEROS S.A.C.



OTSM-286-2025
Rev. 0
Fecha: 03 de noviembre del 2025
SGCPI-R-05/v03.



FA INGENIEROS S.A.C.
Av. Angélica Gamarra 1385 Urb. Santa Rosa N° 16 Lote 03 Lima 30 – Perú T. (511) 5218475 Página 11 de 18
Queda prohibida la reproducción total o parcial de este informe sin la autorización escrita de FA INGENIEROS S.A.C.



QTSN-289-2023
Rev. 0
Fecha: 03 de noviembre del 2023
SIGCPI-R-001/v03

FOTOMICROGRAFIAS EDS Y ESPECTROS

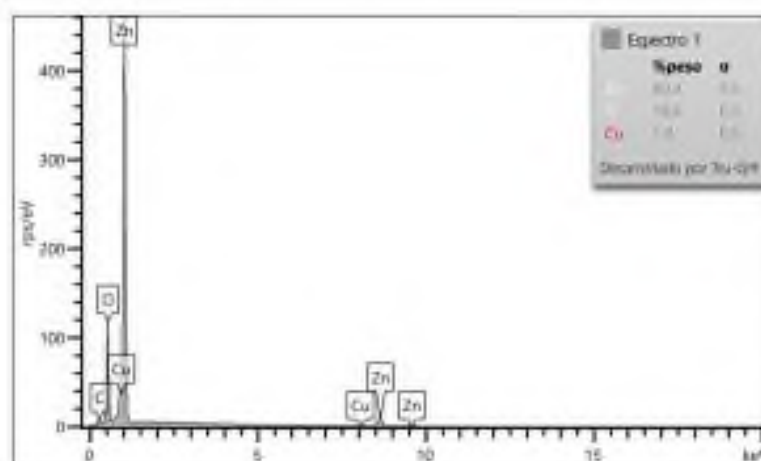
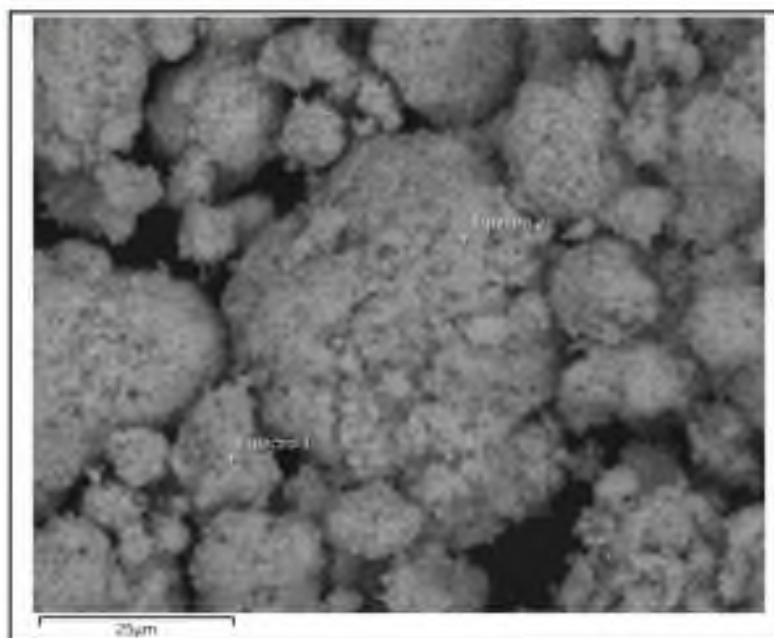
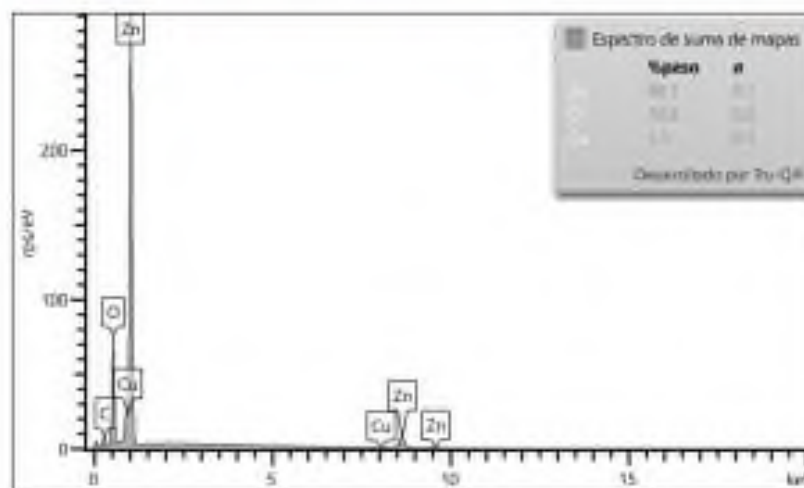
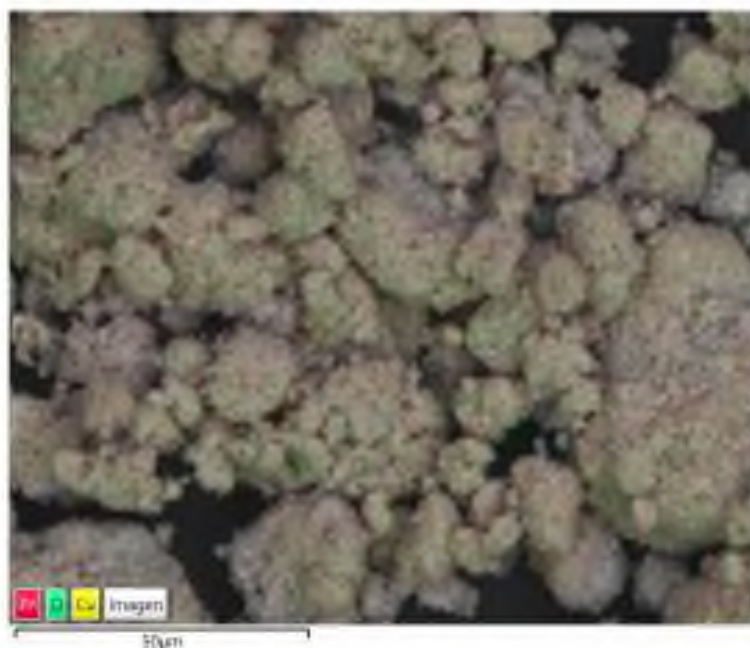


IMAGEN ESTRATIFICADA

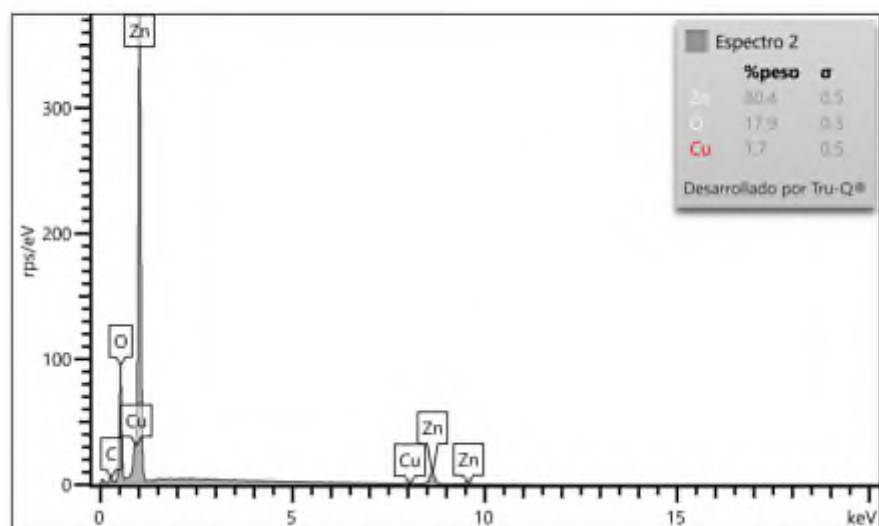


FA INGENIEROS S.A.C.

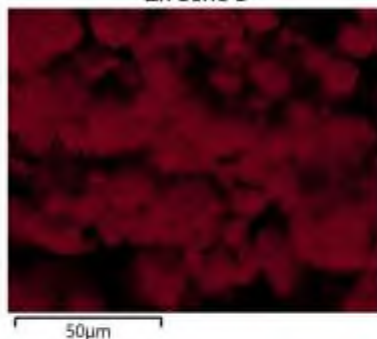
Av. Angélica Gamero 1380 Urb. Santa Rosa Mo "P" Lote 03 Lima 30 - Perú T. (011) 5316475

Página 14 de 18

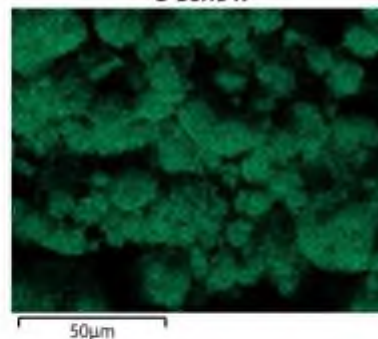
Queda prohibida la reproducción total o parcial de este informe sin la autorización escrita de FA INGENIEROS S.A.C.



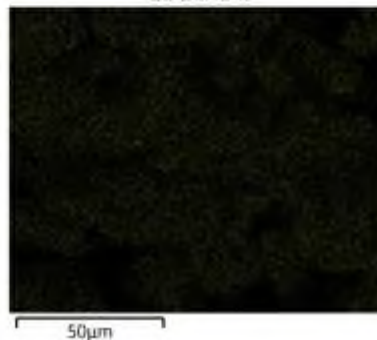
Zn Serie L



O Serie K



Cu Serie L





Informe Elaborado por:

	Juan Carlos Ruiz Torres	
Cargo:	Jefe DRX - PRX	Fecha: 03-11-2025
	Raúl Alvarado Valencia	
Cargo:	Analista de microscopía	Fecha: 03-11-2025

Revisado por:

Joseph López Lucero
Cargo: Jefe de Laboratorios
CIP N.º: 266275
Fecha: 03-11-2025

ANEXO III

Promedios de OD y UNT a diferentes concentraciones de nanopartículas de ZnO

Ensayo 3: Caldo Mueller-Hinton + E. coli ATCC 11229 + nanopartículas de ZnO

	Blanco(0ppm)		40ppm		80ppm		100ppm		200ppm	
Tiempo (min)	PROMEDIO OD	PROMEDIO UNT	PROMEDIO OD	PROMEDIO UNT	PROMEDIO OD	PROMEDIO UNT	PROMEDIO OD	PROMEDIO UNT	PROMEDIO OD	PROMEDIO UNT
0	0,539	7,5	0,516	6	0,547	7,68	0,548	7,10	0,538	5,22
30	0,596	7,46	0,513	5,96	0,532	7,46	0,545	7,06	0,537	5,2
60	0,533	7,42	0,51	5,93	0,518	7,27	0,542	7,01	0,535	5,19
90	0,59	7,39	0,507	5,89	0,505	7,09	0,538	6,97	0,534	5,17
120	0,587	7,35	0,504	5,86	0,491	6,89	0,535	6,93	0,532	5,15
150	0,584	7,31	0,501	5,82	0,475	6,67	0,532	6,88	0,531	5,14
180	0,581	7,27	0,498	5,79	0,458	6,43	0,528	6,84	0,53	5,12
210	0,578	7,23	0,495	5,75	0,442	6,21	0,525	6,8	0,528	5,1
240	0,575	7,2	0,492	5,72	0,429	6,02	0,522	6,75	0,526	5,09
270	0,572	7,16	0,489	5,68	0,419	5,89	0,518	6,71	0,525	5,07
300	0,569	7,13	0,486	5,65	0,413	5,8	0,515	6,67	0,523	5,05
330	0,566	7,1	0,483	5,61	0,41	5,76	0,512	6,63	0,522	5,04
360	0,563	7,05	0,48	5,58	0,409	5,74	0,508	6,58	0,52	5,02
390	0,56	7,01	0,477	5,54	0,407	5,72	0,505	6,54	0,519	5
420	0,557	6,96	0,474	5,51	0,405	5,69	0,502	6,5	0,517	4,99
450	0,554	6,92	0,471	5,47	0,405	5,68	0,498	6,45	0,516	4,97
480	0,551	6,87	0,468	5,44	0,402	5,65	0,495	6,41	0,514	4,95
510	0,548	6,84	0,465	5,4	0,402	5,65	0,492	6,37	0,513	4,94
540	0,545	6,79	0,462	5,37	0,402	5,64	0,488	6,32	0,512	4,92
570	0,542	6,76	0,459	5,33	0,402	5,64	0,485	6,28	0,51	4,9
600	0,539	6,73	0,456	5,3	0,399	5,6	0,482	6,24	0,509	4,89
630	0,536	6,69	0,453	5,26	0,398	5,59	0,478	6,19	0,5	4,87
660	0,533	6,66	0,449	5,23	0,397	5,57	0,475	6,15	0,506	4,85
590	0,53	6,62	0,446	5,19	0,393	5,52	0,472	6,11	0,504	4,84
720	0,527	6,59	0,443	5,16	0,393	5,52	0,468	6,06	0,503	4,82

Ensayo 4: Agua sintética doméstica + E. coli ATCC 11229 + nanopartículas de ZnO

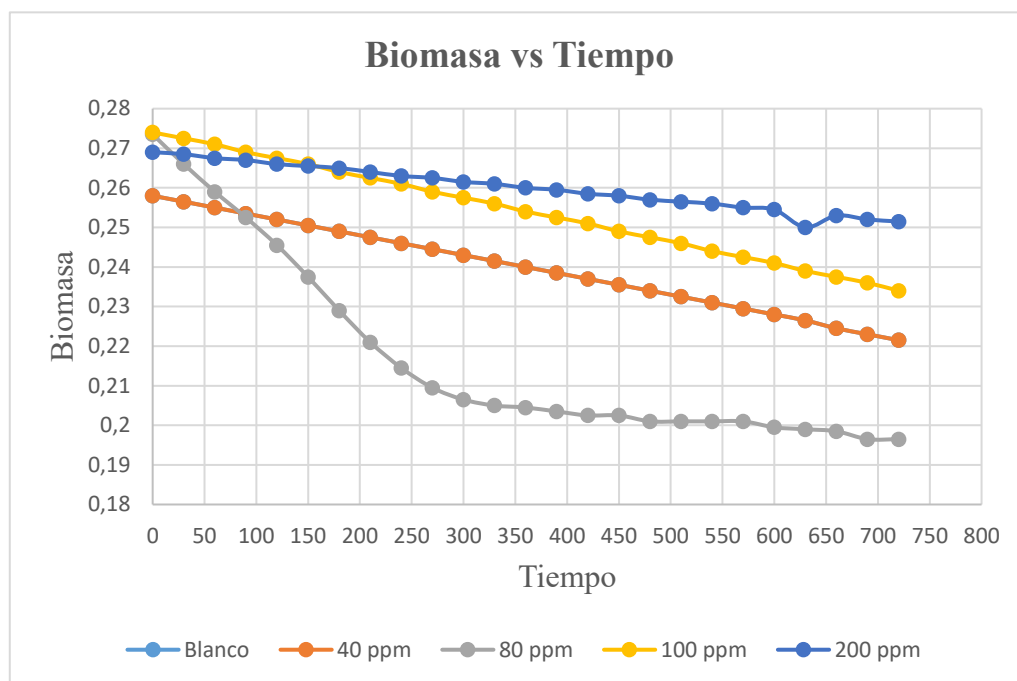
	Blanco(0ppm)		40ppm		80ppm		100ppm		200ppm	
Tiempo (min)	PROMEDIO OD	PROMEDIO UNT	PROMEDIO OD	PROMEDIO UNT	PROMEDIO OD	PROMEDIO UNT	PROMEDIO OD	PROMEDIO UNT	PROMEDIO OD	PROMEDIO UNT
0	0,268	4,77	0,262	4,72	0,278	5,04	0,276	4,86	0,276	4,86
30	0,273	4,86	0,269	4,86	0,286	5,17	0,284	5,00	0,302	5,02
60	0,279	4,97	0,277	5,00	0,293	5,31	0,292	5,14	0,338	5,16
90	0,287	5,11	0,284	5,13	0,300	5,44	0,300	5,29	0,380	5,43
120	0,297	5,28	0,292	5,27	0,307	5,57	0,307	5,43	0,422	5,63
150	0,308	5,48	0,300	5,40	0,315	5,70	0,315	5,57	0,484	5,89
180	0,321	5,72	0,307	5,54	0,322	5,84	0,324	5,71	0,540	6,12
210	0,336	5,98	0,315	5,67	0,330	5,97	0,332	5,85	0,601	6,46
240	0,351	6,25	0,323	5,81	0,337	6,11	0,340	5,99	0,665	6,60
270	0,366	6,53	0,330	5,95	0,344	6,24	0,348	6,14	0,731	6,87
300	0,382	6,80	0,337	6,08	0,352	6,37	0,356	6,28	0,798	7,05
330	0,396	7,05	0,345	6,22	0,359	6,50	0,364	6,42	0,842	7,25
360	0,409	7,28	0,352	6,35	0,366	6,64	0,372	6,56	0,878	7,48
390	0,420	7,47	0,360	6,49	0,374	6,77	0,380	6,70	0,919	7,67
420	0,429	7,64	0,367	6,62	0,381	6,91	0,388	6,84	0,955	7,80
450	0,437	7,77	0,375	6,76	0,388	7,04	0,396	6,98	0,972	7,92
480	0,442	7,88	0,382	6,90	0,396	7,17	0,404	7,12	0,996	7,90
510	0,447	7,96	0,390	7,03	0,403	7,31	0,412	7,26	0,995	7,95
540	0,451	8,02	0,398	7,17	0,411	7,44	0,420	7,41	1,021	8,09
570	0,453	8,07	0,405	7,30	0,418	7,57	0,428	7,55	1,024	7,99
600	0,455	8,11	0,413	7,44	0,425	7,71	0,436	7,69	1,040	7,98
630	0,457	8,14	0,420	7,58	0,433	7,84	0,444	7,83	1,037	8,03
660	0,458	8,16	0,428	7,71	0,440	7,97	0,452	7,97	1,045	8,08
590	0,455	8,10	0,435	7,85	0,448	8,11	0,460	8,11	1,032	8,18
720	0,460	8,19	0,443	7,98	0,455	8,24	0,468	8,25	1,041	8,23

ANEXO IV

Tratamiento estadístico de los datos

Tiempo	Ensayo3				
	Blanco	40 ppm	80ppm	100ppm	200ppm
0	0,258	0,258	0,2735	0,274	0,269
30	0,2565	0,2565	0,266	0,2725	0,2685
60	0,255	0,255	0,259	0,271	0,2675
90	0,2535	0,2535	0,2525	0,269	0,267
120	0,252	0,252	0,2455	0,2675	0,266
150	0,2505	0,2505	0,2375	0,266	0,2655
180	0,249	0,249	0,229	0,264	0,265
210	0,2475	0,2475	0,221	0,2625	0,264
240	0,246	0,246	0,2145	0,261	0,263
270	0,2445	0,2445	0,2095	0,259	0,2625
300	0,243	0,243	0,2065	0,2575	0,2615
330	0,2415	0,2415	0,205	0,256	0,261
360	0,24	0,24	0,2045	0,254	0,26
390	0,2385	0,2385	0,2035	0,2525	0,2595
420	0,237	0,237	0,2025	0,251	0,2585
450	0,2355	0,2355	0,2025	0,249	0,258
480	0,234	0,234	0,201	0,2475	0,257
510	0,2325	0,2325	0,201	0,246	0,2565
540	0,231	0,231	0,201	0,244	0,256
570	0,2295	0,2295	0,201	0,2425	0,255
600	0,228	0,228	0,1995	0,241	0,2545
630	0,2265	0,2265	0,199	0,239	0,25
660	0,2245	0,2245	0,1985	0,2375	0,253
690	0,223	0,223	0,1965	0,236	0,252
720	0,2215	0,2215	0,1965	0,234	0,2515

Valores promedio de biomasa (g /L) en medio Mueller Hinton (MH) calculados a partir de los resultados obtenidos en el laboratorio, en función del tiempo (12 h) y de las concentraciones de Np de ZnO.



Figura

Tratamiento estadístico para el ensayo 3

Prueba paramétrica

Se realizó la prueba de normalidad con la finalidad de determinar si los datos poseen una distribución normal o no, posterior a ello se seleccionó el método de análisis para determinar si corresponde la aplicación de una estadística paramétrica o no paramétrica.

Prueba de hipótesis

- H_0 : Los datos tienen una distribución normal
- H_a : Los datos no tienen una distribución normal

Nivel de significación

Confianza: 95 %

Significancia (alfa): 5 %

Pruebas de normalidad

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Blanco	,072	25	,200*	,960	25	,423
Bioochent	,269	25	,000	,777	25	,000
a						
Tiempo	,073	25	,200*	,959	25	,387

*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.

a. Corrección de significación de Lilliefors

	Estadístico	gl	P
Blanco	0,960	25	0,423
Bioochenta	0,777	25	0,000
Tiempo	0.959	25	0.387

Ya que la cantidad de datos es menor a 50 se aplica la prueba de normalidad de Shapiro – wilk

.

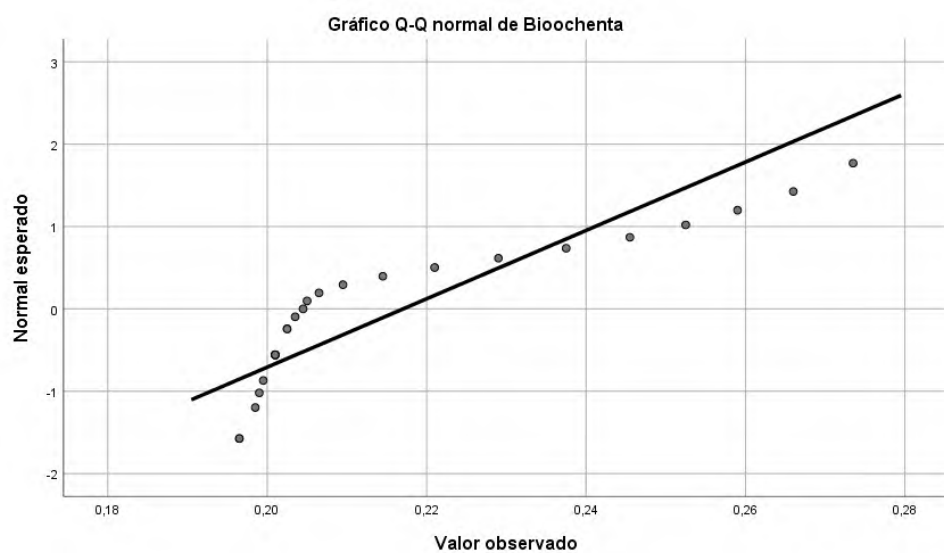
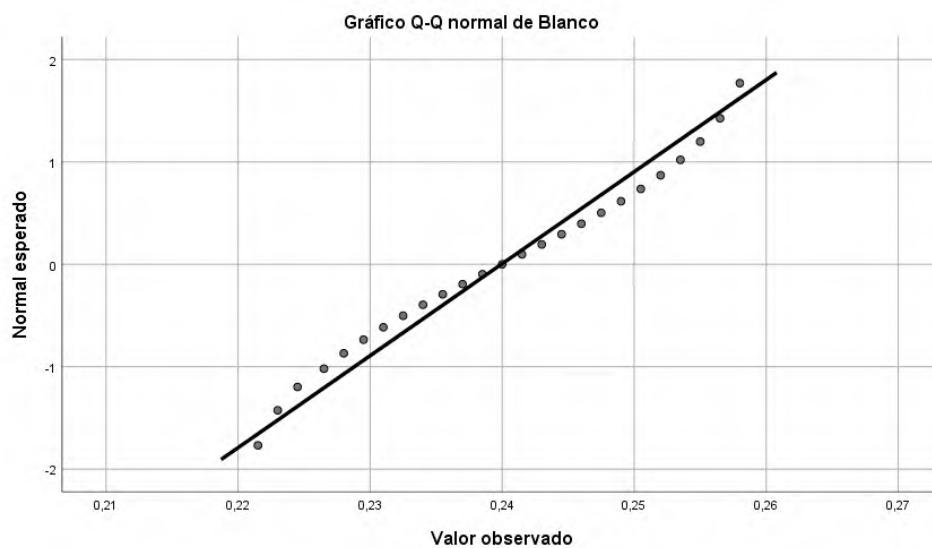
Prueba de normalidad de la biomasa

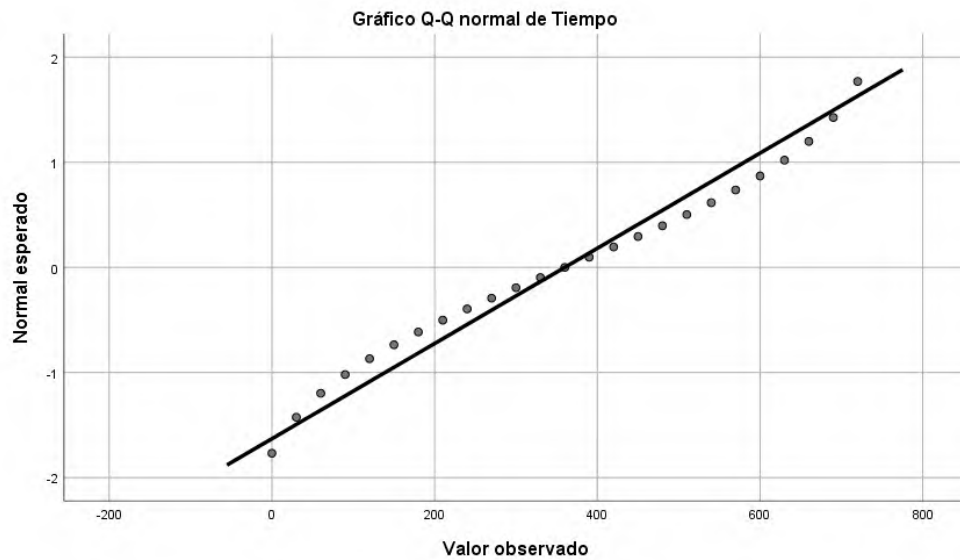
Criterio de decisión.

- Si $p < 0,05$ rechazamos la H_0 y se acepta la H_a
- Si $p \geq 0,05$ aceptamos la H_0 y se rechaza la H_a

Decisión y Conclusión

Como $p \geq 0,05$ aceptamos H_0 y se rechaza H_a , es decir los datos tienen una distribución normal, por lo tanto, aplicamos estadística paramétrica.





Coefficiente de correlación paramétrica de Pearson

$H_0: r = 0$ (existe correlación)

$H_a: r \neq 0$ (no existe correlación)

Nivel de significancia: $\alpha = 0,05$

Regla de decisión

Si $r \leq 0,05$ aceptamos H_0 , y rechazamos la H_a

Si $r > 0,05$ aceptamos H_a , y rechazamos la H_0

Correlaciones

		Tiempo	Blanco	Bioochent a
Tiempo	Correlación de Pearson	1	-1,000**	-,882**
	Sig. (bilateral)		,000	,000
	N	25	25	25
Blanco	Correlación de Pearson	-1,000**	1	,879**
	Sig. (bilateral)	,000		,000
	N	25	25	25
Bioochent a	Correlación de Pearson	-,882**	,879**	1
	Sig. (bilateral)	,000	,000	
	N	25	25	25

** . La correlación es significativa en el nivel 0,01 (bilateral).

	R	r	N
tiempo – Bioochenta	- 0,882	0,00	25
Tiempo – Blanco	- 1,000	0,000	25
Blanco - Bioochenta	0,879	0,000	25

Como $r = 0$, por lo tanto, existe relación significativa entre el tiempo y la prueba Bioochenta (80 ppm), la relación es indirecta, es decir, a mayor tiempo, mayor disminución de la biomasa, además la correlación es muy alta (- 0,882).

Pruebas de efectos inter-sujetos de la producción de biomasa del proceso ...

A continuación, se presenta el análisis estadístico de producción de biomasa del proceso ...

Pruebas de efectos inter-sujetos

Variable dependiente: Biomasa

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	,046 ^a	28	,002	28,513	,000
Intersección	7,335	1	7,335	126457,44 9	,000
Tiempo	,019	24	,001	13,421	,000
Prueba	,028	4	,007	119,065	,000
Error	,006	96	5,800E-5		
Total	7,387	125			
Total corregido	,052	124			

a. R al cuadrado = ,893 (R al cuadrado ajustada = ,861)

El cuadro anterior muestra el análisis de efectos inter-sujetos.

El valor del modelo corregido de 0,000 indica una diferencia significativa entre los tratamientos.

Ho: El tiempo no influye en la producción de biomasa.

Ha: El tiempo influye en la producción de biomasa.

El valor de 0,000 comparado con un alfa de 0,05 → se rechaza Ho. Se concluye que el tiempo influye en la producción de biomasa, por lo que se acepta Ha.

La Figura x muestra las medias marginales estimadas de biomasa para el ensayo 3,

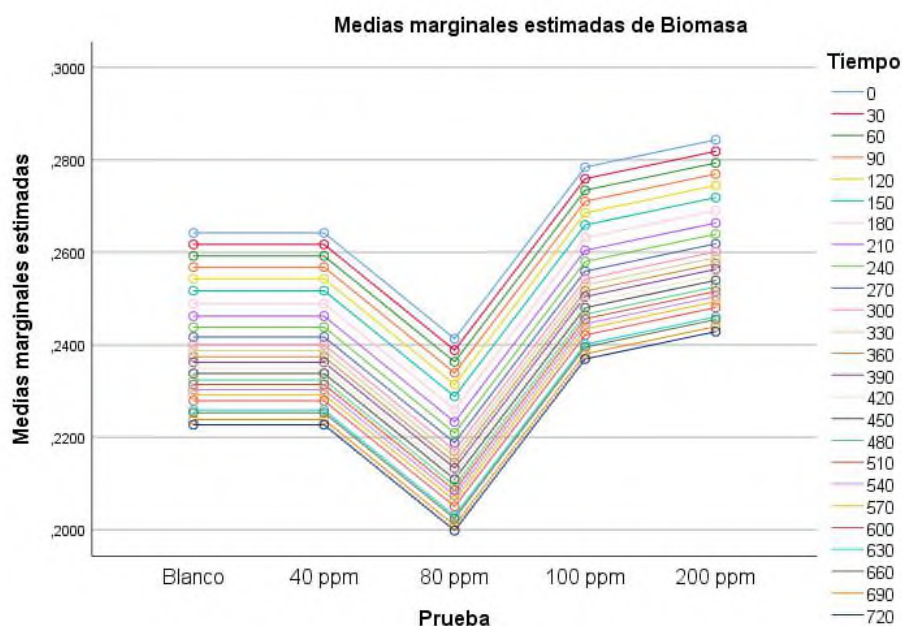


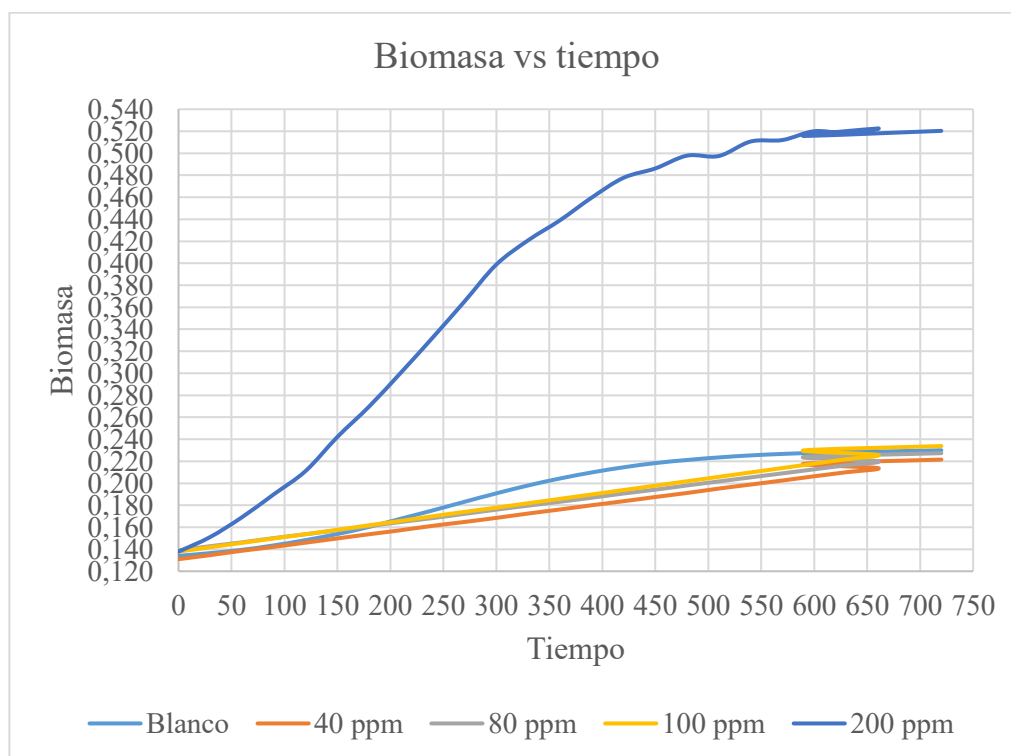
Figura x. Medias marginales estimadas de producción de biomasa del ensayo 3, se aprecia que la menor producción de biomasa se logra en la prueba a 80 ppm

Ensayo 4

Tiempo	Blanco	40 ppm	80 pm	100 ppm	200ppm
0	0,134	0,131	0,139	0,138	0,138
30	0,137	0,135	0,143	0,142	0,151
60	0,140	0,139	0,146	0,146	0,169
90	0,144	0,142	0,150	0,150	0,190
120	0,148	0,146	0,154	0,154	0,211
150	0,154	0,150	0,157	0,158	0,242
180	0,160	0,154	0,161	0,162	0,270
210	0,168	0,157	0,165	0,166	0,301
240	0,175	0,161	0,168	0,170	0,333
270	0,183	0,165	0,172	0,174	0,365
300	0,191	0,169	0,176	0,178	0,399
330	0,198	0,173	0,180	0,182	0,421
360	0,204	0,176	0,183	0,186	0,439
390	0,210	0,180	0,187	0,190	0,460
420	0,215	0,184	0,191	0,194	0,478
450	0,218	0,188	0,194	0,198	0,486
480	0,221	0,191	0,198	0,202	0,498
510	0,224	0,195	0,202	0,206	0,498

540	0,225	0,199	0,205	0,210	0,511
570	0,227	0,203	0,209	0,214	0,512
600	0,228	0,206	0,213	0,218	0,520
630	0,229	0,210	0,216	0,222	0,518
660	0,229	0,214	0,220	0,226	0,523
590	0,228	0,218	0,224	0,230	0,516
720	0,230	0,222	0,227	0,234	0,520

Valores promedio de biomasa (g /L) en Agua Residual Sintética Doméstica (ARSD) calculados a partir de los resultados obtenidos en el laboratorio, en función del tiempo (12 h) y de las concentraciones de Np de ZnO.



Tratamiento estadístico para el ensayo 4

Prueba paramétrica

Se realizó la prueba de normalidad con la finalidad de determinar si los datos poseen una distribución normal o no,

Prueba de hipótesis

- Ho: Los datos tienen una distribución normal
- Ha: Los datos no tienen una distribución normal

Nivel de significación

Confianza: 95 %

Significancia (alfa): 5 %

Pruebas de normalidad

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Blanco	,202	25	,010	,763	25	,000
Biocuarenta	,077	25	,200 [*]	,959	25	,403
Tiempo	,084	25	,200 [*]	,960	25	,408

*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.

a. Corrección de significación de Lilliefors

	Estadístico	gl	P
Blanco	0,763	25	0,00
Biocuarenta	0,959	25	0,403
Tiempo	0.960	25	0.387

Debido a que la cantidad de datos es menor a 50 se aplica la prueba de normalidad de Shapiro - wilk.

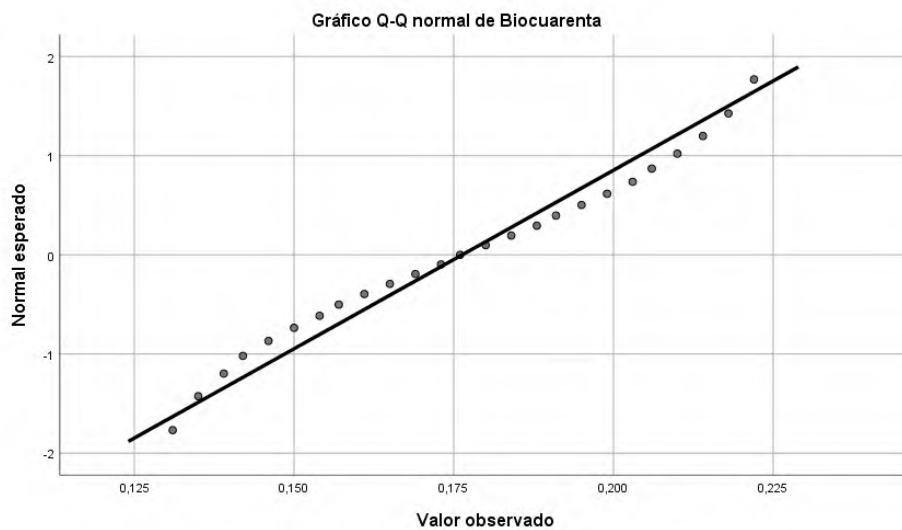
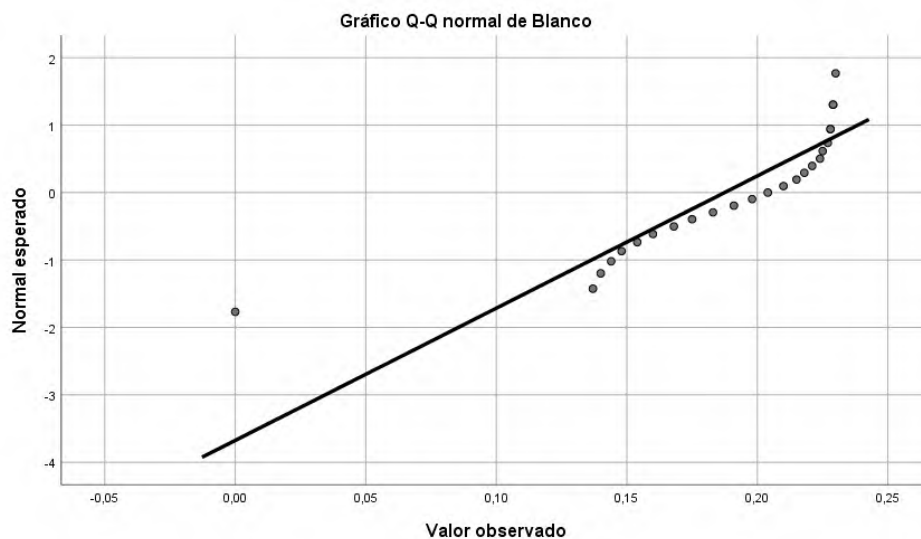
Prueba de normalidad de la biomasa

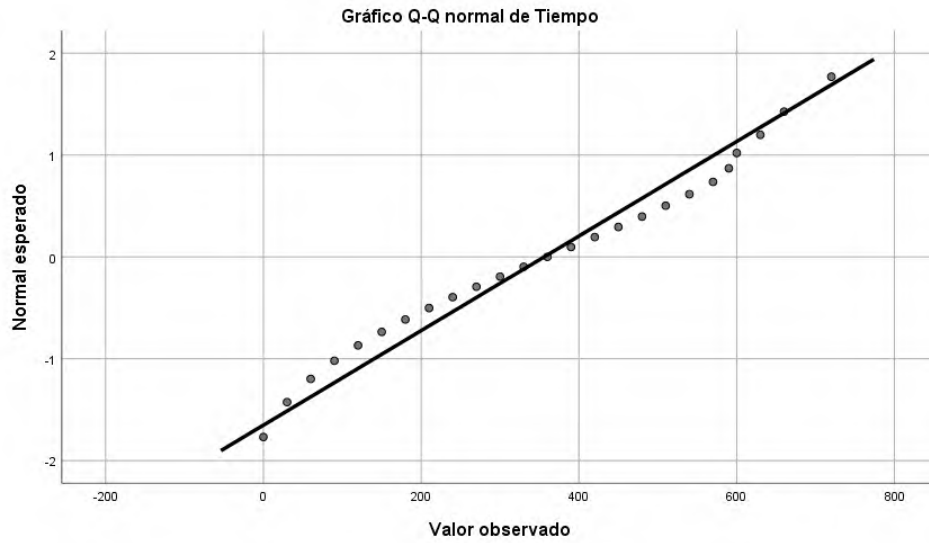
Criterio de decisión.

- Si $p < 0,05$ rechazamos la Ho y se acepta la Ha
- Si $p \geq 0,05$ aceptamos la Ho y se rechaza la Ha

Decisión y Conclusión

Como $p \geq 0,05$ aceptamos H_0 y se rechaza H_a , es decir los datos tienen una distribución normal, por lo tanto, aplicamos estadística paramétrica.





Coefficiente de correlación paramétrica de Pearson

$H_0: r = 0$ (existe correlación)

$H_a: r \neq 0$ (no existe correlación)

Nivel de significancia: $\alpha = 0,05$

Regla de decisión

Si $r \leq 0,05$ aceptamos H_0 , y rechazamos la H_a

Si $r > 0,05$ aceptamos H_a , y rechazamos la H_0

Correlaciones

		Tiempo	Blanco	Biocuarent a
Tiempo	Correlación de Pearson	1	,848**	,996**
	Sig. (bilateral)		,000	,000
	N	25	25	25
Blanco	Correlación de Pearson	,848**	1	,842**
	Sig. (bilateral)	,000		,000
	N	25	25	25
Biocuarent a	Correlación de Pearson	,996**	,842**	1
	Sig. (bilateral)	,000	,000	

N	25	25	25
---	----	----	----

** . La correlación es significativa en el nivel 0,01 (bilateral).

	R	r	N
tiempo – Biocuarenta	0,996	0,00	25
Tiempo – Blanco Blanco - Bioochenta	0,848	0,000	25
	0,842	0,000	25

Como $r = 0$, por lo tanto, existe relación significativa entre el tiempo y la prueba Biocuarenta (40 ppm), la relación es directa, es decir, a mayor tiempo, mayor disminución de la biomasa, además la correlación es muy alta (0,996).

Pruebas de efectos inter-sujetos de la producción de biomasa del proceso ...

A continuación, se presenta el análisis estadístico de producción de biomasa del proceso ...

Pruebas de efectos inter-sujetos

Variable dependiente: Biomasa

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	1,137 ^a	29	,039	16,815	,000
Intersección	5,826	1	5,826	2498,44 4	,000
Tiempo	,316	25	,013	5,422	,000
Prueba	,760	4	,190	81,458	,000
Error	,222	95	,002		
Total	7,688	125			
Total corregido	1,359	124			

a. R al cuadrado = ,837 (R al cuadrado ajustada = ,787)

El cuadro anterior muestra el análisis de efectos inter-sujetos.

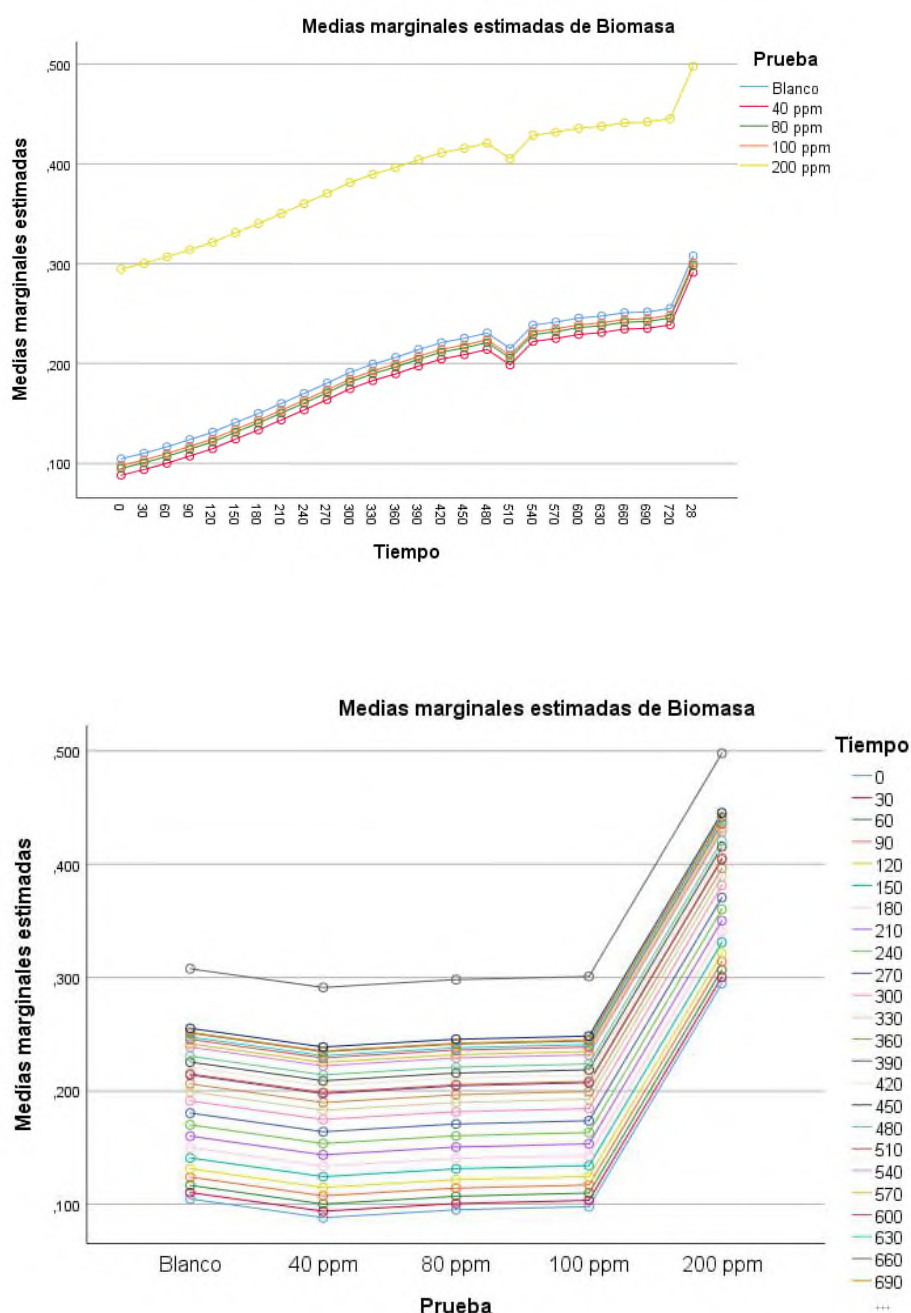
El valor del modelo corregido de 0,000 indica una diferencia significativa entre los tratamientos.

Ho: El tiempo no influye en la producción de biomasa.

Ha: El tiempo influye en la producción de biomasa.

El valor de 0,000 comparado con un alfa de 0,05 → se rechaza Ho. Se concluye que el tiempo influye en la producción de biomasa, por lo que se acepta Ha.

La Figura Y muestra las medias marginales estimadas de biomasa para el ensayo 4.



ANEXO V

Matriz Bibliográfica del Estudio

V.1 Esquema de matriz bibliográfica: Aspecto descriptivo

Nro .	Categoría de búsqueda	Título	Autor(es)	Tipo de documento	Centro de documentación	Año de publicación	Descriptores	Ubicación del documento
1	Virtual	ZnO: Material, Physics and Applications	C. Klingshirn	Artículo científico	Revista ChemPhysChem, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA	2007	Óxido de zinc, propiedades ópticas, semiconductores , nanoestructuras, ZnO	https://doi.org/10.1002/cphc.200700002
2	Virtual	Selective toxicity of ZnO nanoparticles toward Gram-positive bacteria and cancer cells by apoptosis through lipid peroxidation	M. Premanathan, K. Karthikeyan, K. Jeyasubramanian, G. Manivannan	Artículo científico	Revista Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine, Elsevier	2011	Nanopartículas de ZnO, especificidad antimicrobiana, Escherichia coli, ROS, apoptosis	https://doi.org/10.1016/j.nano.2010.10.001
3	Virtual	Antibacterial Activity and Mechanism of	Y. Xie, Y. He, P. L. Irwin, T. Jin, X. Shi	Artículo científico	Revista Applied and Environmental	2011	Nanopartículas de ZnO, mecanismo	https://doi.org/10.1128/AEM.02149-10

		Action of Zinc Oxide Nanoparticles against Campylobacter jejuni			Microbiology, American Society for Microbiology		antimicrobiano, estrés oxidativo, membrana bacteriana, Escherichia coli	
4	Virtual	CuO, ZrO ₂ and ZnO nanoparticles as antiwear additive in oil lubricants	A. Hernández Battez, R. González, J. L. Viesca, J. E. Fernández, J. M. Díaz Fernández, A. Machado, R. Chou, J. Riba	Artículo científico	Revista Wear, Elsevier	2008	Nanopartículas de ZnO, propiedades físicas, dureza, tamaño, dispersión	https://doi.org/10.1016/j.wear.2007.11.013
5	Virtual	Setting reaction and resultant structure of zinc phosphate cement in various orthophosphoric acid cement-forming liquids	C.-K. Park, M. R. Silsbee, D. M. Roy	Artículo científico	Revista Cement and Concrete Research, Elsevier	1998	Óxido de zinc, reactividad química, pH, interacción con ácidos, formación de fases	https://doi.org/10.1016/S0008-8846(97)00223-8
6	Virtual	Synthetic wastewater prepared from readily available materials: Characteristics and economics	Abigail K. Kargol, Samantha R. Burrell, Indrajit Chakraborty, Heidi L. Gough	Artículo científico	Revista PLOS Water	2023	Aguas residuales sintéticas, DQO, nitrógeno total, amonio, turbidez, aguas domésticas	https://doi.org/10.1371/journal.pwat.0000178
7	Virtual	Comparison of Photocatalytic	Mohamad Al Hallak, Thomas	Artículo científico	Revista Catalysts, MDPI	2023	Nanopartículas de ZnO, actividad	https://doi.org/10.3390/catal13071139

		Biocidal Activity of TiO ₂ , ZnO and Au/ZnO on Escherichia coli and on Aspergillus niger under Light Intensity Close to Real-Life Conditions	Verdier, Alexandra Bertron, Kevin Castelló Lux, Ons El Atti, Katia Fajerweg, Pierre Fau, Julie Hot, Christine Roques, Jean-Denis Bailly				biocida, Escherichia coli, reducción logarítmica, fotocátalisis, aguas residuales	
8	Virtual	Wastewater and its Treatment Techniques: An Ample Review	Alaa Fahad, Radin Maya Saphira Mohamed, Bakar Radhi, Mohammed Al-Sahari	Artículo científico	Indian Journal of Science and Technology	2019	Aguas residuales domésticas, composición típica, turbidez, DQO, sólidos suspendidos, tratamiento	https://doi.org/10.17485/ijst/2019/v12i25/146059
9	Virtual	Evaluación del efecto antimicrobiano de nanopartículas de óxido de zinc en aguas residuales domésticas	L. Barrón	Tesis	Universidad Autónoma	2017	Nanopartículas de ZnO, Escherichia coli, aguas residuales domésticas, turbidez, actividad antimicrobiana	[Archivo local: Barrón Tesis MTP Ene 19 2017.pdf]
10	Virtual	Síntesis y caracterización de nanopartículas de óxido de zinc	C. Arroyo Clemente	Tesis	Institución académica no especificada	2023	Nanopartículas de ZnO, síntesis química, caracterización fisicoquímica,	[Archivo local: Arroyo Clemente - Tesis.pdf]

		con actividad antimicrobiana					actividad antimicrobiana	
11	Virtual	Review on zinc oxide nanoparticles: Antibacterial activity, toxicity, and applications	Amna Sirelkhatim, Shahrom Mahmud, Azman Seeni, Mohd Zainizan Sahdan, Saifollah Abd Hamid, Nurul Izni Kamarudin, Huda Mohammed Abdul Karim	Artículo científico	Revista Nano-Micro Letters, Springer	2015	Nanopartículas de ZnO, mecanismo antimicrobiano, Escherichia coli, ROS, tamaño, morfología, toxicidad	https://doi.org/10.1007/s40820-015-0040-x
12	Virtual	Evaluación del efecto antimicrobiano de nanopartículas de óxido de zinc en aguas residuales domésticas mediante análisis de turbidez	M. Carhuamaca, R. Flores	Tesis	Universidad [no especificada]	2024	Nanopartículas de ZnO, Escherichia coli, aguas residuales domésticas, turbidez, actividad antimicrobiana	[Archivo local: Carhuamaca_Flores_2024.pdf]
13	Virtual	Efecto de diferentes concentraciones de nanopartículas	L. M. Cabrera Castro, P. J. González Martell	Artículo científico	Institución académica mexicana o latinoamericana	2017	Nanopartículas de ZnO, Escherichia coli, concentración, crecimiento	[Archivo local: Cabrera Castro Lucero Marita y Gonzalez Martell Pedro Jerih 2017 - Efecto de diferentes concentracio.pdf]

		de óxido de zinc (ZnO) sobre el crecimiento bacteriano de Escherichia coli en medios acuosos					bacteriano, medio acuoso	
14	Virtual	Zinc oxide nanostructures: growth, properties and applications	S. Baruah, M. H. R. Khan, M. A. Hussain, Q. X. Guo, J. Dutta	Artículo científico	Revista Journal of Physics D: Applied Physics, IOP Publishing	2009	Nanopartículas de ZnO, síntesis, morfología, propiedades antimicrobianas, Escherichia coli, mecanismos de acción	https://doi.org/10.1088/0022-3727/42/19/195101
15	Virtual	Interactions and effects of metal-based nanoparticles in aquatic environments: A review	O. Cervantes-Avilés, E. Díaz Barriga-Castro, A. G. Álvarez-Herrera, G. A. Vázquez-Rodríguez	Artículo científico	Revista Environmental Pollution, Elsevier	2017	Nanopartículas metálicas, ZnO, aguas residuales, liberación de iones, ROS, toxicidad microbiana	https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.05.050
16	Virtual	Proyecto de depuración de aguas contaminadas por E. coli y Salmonella	C. Tibaduiza	Proyecto de grado	Institución educativa no especificada	2023	Nanopartículas de ZnO, Escherichia coli, Salmonella, turbidez, aguas residuales, desinfección	[Archivo local: CINDY TIBADUIZA - Proyecto Depuración de aguas contaminadas por E coli y Salmonella YA.pdf]
17	Virtual	Nanomateriales y nanopartículas:	C. Buzea, I. I. Pacheco, K. Robbie	Artículo científico	Revista Biointerphases, AVS	2007	Nanomateriales, nanopartículas, ZnO, toxicidad,	https://doi.org/10.1116/1.2815690

		fundamentos y aplicaciones					interacción con microorganismos, desinfección de aguas	
18	Virtual	Antibacterial activity of zinc oxide nanoparticles: Influence of synthesis method and bacterial strain	M. Elmi, A. Yousef, E. Danial	Artículo científico	Revista Journal of Water and Health, IWA Publishing	2014	Nanopartículas de ZnO, Escherichia coli, método de síntesis, tamaño, actividad antimicrobiana	https://doi.org/10.2166/wh.2014.123
19	Virtual	Agua, saneamiento y salud	L. Gastañaga	Artículo de revisión	Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública	2018	Aguas residuales, salud pública, Escherichia coli, saneamiento, contaminación hídrica	https://doi.org/10.17843/rpmesp.2018.352.3480
20	Virtual	Evaluación de la concentración de E. coli y el tiempo de contacto con nanopartículas de ZnO en la desinfección de bacterias	V. Esquivel, A. Calderón	Tesis	Universidad [no especificada]	2023	Nanopartículas de ZnO, Escherichia coli, aguas residuales municipales, turbidez, tiempo de contacto, concentración	[Archivo local: ESQUIVEL Calderon Tesis-Evaluación de la Concentración de E. Coli y el Tiempo de Contacto con Nanopartículas de ZnO opciones y en la Desinfección de Bacterias.pdf]
21	Virtual	Dispersión de luz dinámica en la determinación	J. Cuadros, C. Moreno, et al.	Artículo científico	Revista o libro académico (no especificado)	2023	Dispersión de luz dinámica (DLS), tamaño de nanopartículas,	[Archivo local: Cuadros, Moreno ... - DispersionDeLuzDinamicaEnLaDeterminacionDeTamañoDe-5195884.pdf]

		de tamaño de nanopartículas					ZnO, estabilidad coloidal, suspensión acuosa	
22	Virtual	Vapor treatment as a new method for photocurrent enhancement of UV photodetectors based on ZnO nanorods	J. Saghaei, A. Fallahzadeh, T. Saghaei	Artículo científico	Revista Sensors and Actuators A: Physical, Elsevier	2016	Nanorods de ZnO, tamaño, morfología, relación superficie/volumen, reactividad	https://doi.org/10.1016/j.sna.2016.05.050
23	Virtual	Photocatalytic Antibacterial Activity of TiO ₂ and TiO ₂ /Au Nanocomposites: Implications for Water Disinfection	G. Fu, et al.	Artículo científico	Revista Journal of Physical Chemistry B, ACS	2005	Nanopartículas, ROS, Escherichia coli, estrés oxidativo, recuentos de UFC, turbidez	https://doi.org/10.1021/jp045640c
24	Virtual	Essential Microbiology	S. Hogg (Ed.)	Libro	Editorial Wiley-Blackwell	2013	Escherichia coli, crecimiento bacteriano, turbidez, Gramnegativas, metabolismo microbiano	ISBN: 978-0-470-65584-0
25	Virtual	Antibacterial activity of zinc oxide and titanium dioxide	J. A. Jesline, et al.	Artículo científico	Revista Applied Nanoscience, Springer	2015	Nanopartículas de ZnO, ROS, Escherichia coli, turbidez, escala	https://doi.org/10.1007/s13204-014-0305-6

		nanoparticles against biofilm-producing methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i>					de McFarland, atracción electrostática	
26	Virtual	Synthesis and magnetic properties of Co-doped ZnO nanowires	J. Cui, Q. Zeng, U. J. Gibson	Artículo científico	Revista Journal of Applied Physics, AIP	2006	Nanocables de ZnO, dopaje, morfología, propiedades ópticas, nanoestructuras	https://doi.org/10.1063/1.2169411
27	Virtual	Evaluación de la cinética de biodepuración de agua residual doméstica sintética de alto contenido de peptona con cultivo mixto en un reactor aerobio	J. Julcani Curo, D. Poma Damian	Tesis	Universidad Nacional del Centro del Perú (UNCP)	2023	Aguas residuales sintéticas, DQO, peptona, turbidez, sólidos suspendidos, cultivo mixto	[Archivo local: Julcani Curo, Poma Damian 2023 - Evaluación de la cinética.pdf]
28	Virtual	Comparative toxicity of nano-scale TiO ₂ , SiO ₂ and ZnO water suspensions	L. K. Adams, D. Y. Lyon, A. McIntosh, P. J. J. Alvarez	Artículo científico	Revista Water Research, Elsevier	2006	Nanopartículas de ZnO, <i>Escherichia coli</i> , toxicidad en la oscuridad, suspensión acuosa,	https://doi.org/10.2166/wst.2006.521

							inhibición del crecimiento	
29	Virtual	Application of ZnO Nanoparticles in Biological Treatment of Municipal Wastewater	S. Khan	Artículo científico	Journal of Biological Research and Applied Sciences	2017	Nanopartículas de ZnO, Escherichia coli, aguas residuales municipales, CMI, difusión en disco	[Archivo local: khan Jan 2017 - Application of Zno Nanoparticles.pdf]
30	Virtual	Antimicrobial properties of ZnO nanomaterials	R. Kumar, A. Umar, et al.	Capítulo de libro	En: Escherichia coli – Recent Advances on Physiology, Pathogenesis and Biotechnological Applications, InTech	2017	Nanopartículas de ZnO, mecanismos antimicrobianos, Escherichia coli, ROS, Zn ²⁺ , tamaño, morfología	[Archivo local: Kumar, Umar et al 2017 - Antimicrobial properties of ZnO nanomaterials.pdf]
31	Virtual	Investigation into the antibacterial behaviour of suspensions of ZnO nanoparticles (ZnO nanofluids)	L. Zhang, Y. Ding, M. Povey, D. York	Artículo científico	Revista Journal of Nanoparticle Research, Springer	2006	Nanopartículas de ZnO, Escherichia coli, turbidez, crecimiento bacteriano, membrana, oscuridad	https://doi.org/10.1007/s11051-006-9150-1
32	Virtual	Las aguas residuales y sus consecuencias en el Perú	C. Larios Meoño, T. Gonzales, et al.	Artículo de revisión	Revista Saber y Hacer	2015	Aguas residuales, Perú, tratamiento, salud pública, Escherichia coli, saneamiento	[Archivo local: Larios Meoño, Gonzales T Carlos et al 2015 - Las aguas residuales y sus.pdf]

33	Virtual	Síntesis verde de nanopartículas de óxido de zinc y evaluación de su actividad antimicrobiana	H. Meruvu, et al.	Tesis	Institución académica no especificada	2023	Nanopartículas de ZnO, síntesis verde, Escherichia coli, actividad antimicrobiana, sostenibilidad	[Archivo local: MERUVU H.. pdf]
34	Virtual	Reaction of zinc oxide with aqueous zinc chloride: setting characteristics and compressive strength of resulting cements	W. J. Nicholson	Artículo científico	Revista Journal of Materials Science: Materials in Medicine, Springer	1998	Óxido de zinc, pH, liberación de iones Zn^{2+} , reactividad en medio acuoso, neutralización ácida	https://doi.org/10.1023/A:1008832522522
35	Virtual	Catalyst-free growth of well-aligned ZnO nanorods on Si substrate by thermal sublimation	L. Miao, M. Yoshikawa, M. Tanemura, T. Itoh, K. Iwata, Y. Mori	Artículo científico	Revista Science and Technology of Advanced Materials, Elsevier	2007	Nanorods de ZnO, morfología, cristalinidad, tamaño, síntesis sin catalizador	https://doi.org/10.1016/j.stam.2007.02.012
36	Virtual	Diseño y análisis de experimentos	D. C. Montgomery	Libro	Editorial Wiley	2017	Diseño factorial, ANOVA, replicación, aleatorización, análisis de varianza, turbidez	ISBN: 978-1-119-11347-8

37	Virtual	OECD Guideline for the Testing of Chemicals – Method 303	Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (OCDE)	Guía técnica	Documento oficial OCDE	2001	Aguas residuales sintéticas, DQO, peptona, tratamiento aerobio, Escherichia coli, turbidez	https://www.oecd.org/chemicalsafety/testing/oecd-guideline-for-the-testing-of-chemicals-section-3-degradation-and-accumulation.htm
38	Virtual	Desinfección y purificación de agua con nanopartículas metálicas	M. E. Noriega Treviño, J. E. Quintero González, et al.	Artículo científico	Revista Water Technology and Sciences	2012	Nanopartículas de ZnO, Escherichia coli, CMI, aguas simuladas, desinfección, turbidez	[Archivo local: Noriega Treviño, Quintero González et al 2012 - Desinfección y purificación de agua.pdf]
39	Virtual	A comprehensive review of ZnO materials and devices	Ü. Özgür, Ya. I. Alivov, C. Liu, A. Teke, H. Morkoç	Artículo científico	Revista Journal of Applied Physics, AIP	2005	Óxido de zinc, propiedades ópticas, banda prohibida, excitones, nanoestructuras, semiconductores	https://doi.org/10.1063/1.1992666
40	Virtual	Metal oxide nanoparticles as antimicrobial agents: a paradigm shift in biomedical applications	P. Raghunath, K. Perumal	Artículo científico	Revista Frontiers in Microbiology, Frontiers Media	2017	Nanopartículas de ZnO, Escherichia coli, ROS, Zn ²⁺ , tamaño, Gramnegativas, mecanismos antimicrobianos	https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01162
41	Virtual	Does the antibacterial activity of silver	A. Pal, Y. Deng, J. Liu, J. E. Reed, R. W.	Artículo científico	Revista Applied and Environmental	2007	Nanopartículas de plata, Escherichia coli,	https://doi.org/10.1128/AEM.02218-06

		nanoparticles depend on the shape of the nanoparticle? A study of the Gram-negative bacterium <i>Escherichia coli</i>	Hartmann, A. M. Klibanov		Microbiology, ASM		turbidez, morfología, tamaño, UFC, metodología antimicrobiana	
42	Virtual	Size-dependent bacterial growth inhibition by ZnO nanoparticles	K. R. Raghupathi, R. T. Koodali, A. C. Manna	Artículo científico	Revista Langmuir, ACS	2011	Nanopartículas de ZnO, <i>Escherichia coli</i> , tamaño (4–30 nm), turbidez, crecimiento bacteriano, inhibición dependiente del tamaño	https://doi.org/10.1021/la104323x
43	Virtual	Tratamiento de Aguas Residuales en Latinoamérica: Desafíos y Oportunidades	J. Reynolds	Artículo de revisión	Documento técnico o libro (no especificado)	2002	Aguas residuales, Perú, cólera 1991, <i>Escherichia coli</i> , saneamiento, salud pública	[Archivo local: Reynolds 2002 - Tratamiento de Aguas Residuales en.pdf]
44	Virtual	Hydrogen peroxide as a factor in the antibacterial activity of zinc oxide	J. Sawai, T. Kojima, K. Nishimura, H. Iizuka, T. Yoshikawa	Artículo científico	Revista Journal of Fermentation and Bioengineering, Elsevier	1998	Nanopartículas de ZnO, <i>Escherichia coli</i> , peróxido de hidrógeno (H ₂ O ₂), ROS, mecanismo antimicrobiano, oscuridad	https://doi.org/10.1016/S0922-338X(98)80135-3

45	Virtual	Síntesis y caracterización de nanopartículas de peróxido de zinc (ZnO_2) y sus propiedades antimicrobianas	R. C. Colonia	Tesis	Institución académica no especificada (posiblemente IPEN, Perú)	2012	Peróxido de zinc (ZnO_2), Escherichia coli, CMI, DRX, MET, MEB, tamaño nanométrico	[Archivo local: Roberto Carlos Colonia -TESIS.pdf]
46	Virtual	Room-temperature ultraviolet nanowire nanolasers	S. Xu, Y. Qin, C. Xu, Y. Wei, R. Yang, Z. L. Wang	Artículo científico	Revista Science, AAAS	2006	Nanocables de ZnO, propiedades ópticas, banda prohibida, excitones, morfología, reactividad	https://doi.org/10.1126/science.1124005
47	Virtual	Antibacterial activity and mechanism of action of zinc oxide nanoparticles against foodborne pathogens	Y. Song, Y. Li, C. Zhang, X. Zhang, Y. Wang, Y. Zhang	Artículo científico	Revista Journal of Food Protection, IAFP	2011	Nanopartículas de ZnO, Escherichia coli, daño de membrana, lisis celular, ROS, microscopía electrónica	https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-10-544
48	Virtual	Influence of size scale and morphology on antibacterial properties of	A. Stanković, S. Dimitrijević, D. Uskoković	Artículo científico	Revista Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, Elsevier	2014	Nanopartículas de ZnO, Escherichia coli, tamaño (5–100 nm), turbidez, relación	https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2013.11.017

		ZnO nanoparticles					superficie/volumen, inhibición dependiente del tamaño	
49	Virtual	Zinc oxide nanoparticles for selective destruction of tumor cells	J. W. Rasmussen, E. Martinez, D. Louka, D. Wingett	Artículo científico	Revista Expert Opinion on Drug Delivery, Taylor & Francis	2010	Nanopartículas de ZnO, ROS, apoptosis, citotoxicidad selectiva, Escherichia coli, mecanismos de acción	https://doi.org/10.1517/17425247.2010.502560
50	Virtual	Fabrication and characterization of zinc oxide micro-flowers and their antibacterial activity	R. Wahab, Y. S. Kim, H. S. Shin	Artículo científico	Revista Nanoscale Research Letters, Springer	2010	Microflores de ZnO, Escherichia coli, CMI, turbidez, daño de membrana, TEM	https://doi.org/10.1007/s11671-010-9671-0
51	Virtual	Escherichia coli as a Model Organism and Its Application in Biotechnology	N. I. Vargas Maya, B. Franco	Capítulo de libro	En: Escherichia coli – Recent Advances on Physiology, Pathogenesis and Biotechnological Applications, InTech	2017	Escherichia coli, organismo modelo, turbidez, metabolismo, contaminación fecal, aguas residuales	https://doi.org/10.5772/67306
52	Virtual	Estudio sobre la reactividad del óxido de zinc en	Yamamoto et al.	Artículo científico	Institución académica no especificada	2015	Óxido de zinc, pH, iones Zn^{2+} , estabilidad coloidal,	[Archivo local: Yamamoto . pdf]

		medios acuosos					reactividad en agua	
53	Virtual	Comparative study of cytotoxicity, oxidative stress and genotoxicity induced by four typical nanomaterials	H. Yang, C. Liu, D. Yang, H. Zhang, Z. Xia	Artículo científico	Revista Journal of Applied Toxicology, Wiley	2009	Nanopartículas de ZnO, estrés oxidativo, ROS, daño de membrana, citotoxicidad, Escherichia coli	https://doi.org/10.1002/jat.1385
54	Virtual	Efecto antibacteriano de nanopartículas de ZnO sobre Staphylococcus aureus y Salmonella typhi	J. Zavaleta Espejo, J. Jiménez Saldaña, et al.	Artículo científico	Revista Arnaldoa, Universidad Nacional de Trujillo	2019	Nanopartículas de ZnO, Escherichia coli, halos de inhibición, escala de McFarland, ROS, Zn ²⁺ , daño de membrana	https://doi.org/10.22497/arnaldoa.261.26122
55	Virtual	Manual Técnico del Agua	Degremont	Manual técnico	Libro de referencia clásico	1979	Aguas residuales urbanas, sólidos suspendidos, DQO, DBO, pH neutro, Escherichia coli como indicador de contaminación fecal	—
56	Virtual	Tratamiento y Depuración de	Metcalf & Eddy	Libro	Editorial Labor, adaptación de la obra original	1977	Aguas residuales domésticas, Escherichia coli,	[Archivo local: Metcalf-eddy-editorial-labor_compress.pdf]

		las Aguas Residuales			"Wastewater Engineering"		turbidez, DQO, sólidos suspendidos, desinfección, tratamiento primario	
57	Virtual	Antibacterial impact of biosynthesized zinc oxide nanoparticles on uropathogenic Escherichia coli and in vivo assessment of physiological and histological alterations	Abu-Gharbia, M.A. et al.	Artículo científico	Scientific Reports (Nature)	2025	ZnO-NPs, E. coli uropatógena, biosíntesis con Aloe vera, MIC/MBC, toxicidad in vivo, ratas	https://doi.org/10.1038/s41598-025-98060-6
58	Virtual	Aggregation behavior of zinc oxide nanoparticles and their biotoxicity to Daphnia magna: Influence of humic acid and sodium alginate	Dai, H. et al.	Artículo científico	Environmental Research (Elsevier)	2020	ZnO-NPs, materia orgánica natural, agregación, toxicidad acuática, ROS, aguas residuales simuladas	https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.110086
59	Virtual	Antibacterial and Antibiofilm	Elabbasy, M.T. et al.	Artículo científico	MDPI (Molecules)	2025	ZnO-NPs, E. coli MDR, actividad	https://doi.org/10.3390/molecules30040768

		Activity of Green-Synthesized Zinc Oxide Nanoparticles Against Multidrug-Resistant Escherichia coli Isolated from Retail Fish					antibacteriana, biofilm, síntesis verde, Stevia rebaudiana	
60	Virtual	Aggregation and Dissolution of ZnO Nanoparticles Synthesized by Different Methods: Influence of Ionic Strength and Humic Acid	Han, Y. et al.	Artículo científico	Colloids and Surfaces A	2014	ZnO-NPs, ácido húmico, fuerza iónica, agregación, disolución, estabilidad coloidal	https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2014.03.030
61	Virtual	The role of some important metal oxide nanoparticles for wastewater and antibacterial applications: A review	Naseem, S. & Durrani, F.	Artículo de revisión	Environmental Chemistry and Ecotoxicology	2021	ZnO-NPs, tratamiento de aguas residuales, fotocátalisis, actividad antimicrobiana, adsorción	https://doi.org/10.1016/j.enceco.2020.12.001

62	Virtual	OECD Guideline for the Testing of Chemicals – Simulation Test for Degradation in Wastewater Treatment Plants	OECD	Documento técnico	OECD	2025	aguas residuales, lodos activados, degradación, ensayo simulado, DOC/COD	https://www.oecd.org/chemicalsafety/testing/oecd-guideline-for-the-testing-of-chemicals-section-3-degradation-and-accumulation.htm
63	Virtual	Antibacterial and antibiofilm activity of biosynthesized ZnO and Ag nanoparticles against clinical isolates	Pangprasit, N. et al.	Artículo científico	Pharmaceutics (presumible)	2025	ZnO-NPs, E. coli, cepas clínicas, MIC, MBC, UFC, biofilm, síntesis verde	— (publicado en revista indexada)
64	Virtual	Review on Zinc Oxide Nanoparticles: Antibacterial Activity and Toxicity Mechanism	Sirelkhatim, A. et al.	Artículo de revisión	Nano-Micro Letters	2015	ZnO-NPs, mecanismos antibacterianos, ROS, liberación de Zn ²⁺ , tamaño y morfología, UV, alimentos	https://doi.org/10.1007/s40820-015-0040-x
65	Virtual	Experimental determination of Escherichia coli biomass composition for constraint-based	Simensen, V. et al.	Artículo científico	PLOS ONE	2022	E. coli, OD600, biomasa seca (CDW), factor de conversión, turbidez, crecimiento bacteriano	https://doi.org/10.1371/journal.pone.0262450

		metabolic modeling						
66	Virtual	Photocatalytic disinfection of Escherichia coli by zinc oxide nanoparticles: Role of reactive oxygen species and cell membrane damage	Wang, Y. et al.	Artículo científico	Environment a Pollution (Elsevier)	2020	ZnO-NPs, E. coli, ROS, daño en membrana, turbidez, desinfección fotocatalítica, aguas contaminadas	https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.110656
67	Artículo científico	Hormesis: Why it is important to toxicology	E. J. Calabrese	Virtual	Society of Environmental Toxicology and Chemistry (SETAC)	2008	Hormesis, respuesta biphasic, toxicología, zinc, concentración umbral, Escherichia coli	[Archivo local: Calabrese-SETAC-2008.pdf]
68	Artículo científico	Zinc and animal health	Z. Cai, L. Zhang, Y. Wang, H. Zhang	Virtual	Revista Journal of Animal Science and Biotechnology, BMC	2025	Zinc, homeostasis, inmunidad, enzimas, toxicidad, nanopartículas de ZnO, Escherichia coli	[Archivo local: Cai, Zhaolong; -Zinc and animal health .pdf]
69	Artículo científico	Dispersión de luz dinámica en la determinación de tamaño de nanopartículas	M. Cuadros	Virtual	Revista Dialnet o revista académica hispana	2023	Dispersión de luz dinámica (DLS), tamaño de nanopartículas, ZnO, estabilidad coloidal, suspensión acuosa	[Archivo local: Cuadros M. – Dialnet-DispersionDeLuz DinamicaEnLa Determinacion DeTamano .pdf]

70	Artículo científico	Experiences with a complex higher tier test design for the assessment of the effects of silver nanoparticles on soil microorganisms	K. Hund-Rinke, M. L. Fernández-Cruz, D. Hernández-Moreno, et al.	Virtual	Revista Ecotoxicology and Environmental Safety, Elsevier	2015	Nanopartículas de plata, microorganismos del suelo, diseño experimental complejo, ecotoxicidad, ensayos de respiración	[Archivo local: Hund-Rinke – Experiences with a complex higher tier test design .pdf]
71	Libro	Quantitative Chemical Analysis	D. C. Harris	Virtual	Editorial W. H. Freeman	2010	Espectrofotometría, turbidez, análisis cuantitativo, errores, calibración, absorbancia a 600 nm	[Archivo local: Harris Daniel C.Quantitative Chemical.pdf]
72	Artículo científico	Hormesis: Why it is important to toxicology	E. J. Calabrese	Virtual	Society of Environmental Toxicology and Chemistry (SETAC)	2008	Hormesis, respuesta biphasic, toxicología, zinc, concentración umbral, Escherichia coli	[Archivo local: Calabrese-ETAC-2008.pdf]
73	Artículo científico	The Confidence Interval Coverage (CIC): A metric for assessing the validity of synthetic data confidence intervals	James E. Jackson	Virtual	Revista Journal of Survey Statistics and Methodology, Oxford Academic	2024	Intervalos de confianza, datos sintéticos, incertidumbre, validez estadística, análisis de datos	https://doi.org/10.1093/jssam/smaf006
74	Informe técnico	Perú: Formas de Acceso al Agua	Instituto Nacional de Estadística e	Virtual	Documentos técnicos del INEI, Lima, Perú	2024	Agua potable, saneamiento, red pública, nivel de	[Archivo local: INEI_agua_2024.pdf]

		y Saneamiento Básico	Informática (INEI)				cloro, Perú, aguas residuales, salud pública	
75	Artículo científico	The role of <i>Escherichia coli</i> as an indicator of water quality in the Ciliwung River, Indonesia	S. Limoes	Virtual	Revista IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, IOP Publishing	2018	<i>Escherichia coli</i> , calidad del agua, indicador fecal, aguas residuales, salud pública	https://doi.org/10.1088/1755-1315/141/1/012016
76	Libro	Brock Biology of Microorganisms	M. T. Madigan, K. S. Bender, D. A. Stahl, W. W. Buckley	Virtual	Editorial Pearson, 15ª edición	2018	<i>Escherichia coli</i> , crecimiento bacteriano, turbidez, metabolismo microbiano, estrés oxidativo, indicador fecal	ISBN: 978-0-13-426192-8
77	Artículo científico	Zinc effects on bacteria: insights from <i>Escherichia coli</i> by multi-omics approach	M. Rihacek, L. D. Cruz, J. M. Ghigo, C. Beloin	Virtual	Revista mSystems, American Society for Microbiology (ASM)	2023	Zinc, <i>Escherichia coli</i> , estrés oxidativo, multi-ómica, transcriptómica, proteómica, Zn ²⁺ , mecanismos de acción	https://doi.org/10.1128/msystems.00000-23
78	Tesis	Evaluación del efecto antimicrobiano de nanopartículas de óxido de zinc en aguas residuales domésticas	Riveron Rodriguez	Virtual	Institución académica no especificada	2023	Nanopartículas de ZnO, <i>Escherichia coli</i> , aguas residuales domésticas, turbidez, actividad antimicrobiana	[Archivo local: Riveron Rodriguez.pdf]
79	Artículo científico	Desinfección de aguas	Pulido Reyes	Virtual	Revista o revista	2023	Nanopartículas de ZnO, <i>Escherichia</i>	[Archivo local: Pulido Reyes.pdf]

		residuales mediante nanopartículas de óxido de zinc			institucional no especificada		coli, aguas residuales, turbidez, desinfección, análisis microbiológico	
80	Artículo científico	Síntesis y caracterización de nanopartículas de óxido de zinc con actividad antimicrobiana	Mira, P.	Virtual	Revista o revista institucional no especificada	2023	Nanopartículas de ZnO, síntesis química, caracterización fisicoquímica, Escherichia coli, actividad antimicrobiana	[Archivo local: Mira,P.pdf]
81	Artículo científico	Nanotechnology for Water Treatment: Is It the Best Solution Now?	M. Snousy	Virtual	Revista Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management, Elsevier	2023	Nanotecnología, tratamiento de aguas, óxido de zinc, turbidez, desinfección, adsorción	https://doi.org/10.1016/j.enmm.2023.100845
82	Libro	Estadística Aplicada	L. M. Rodríguez-Cisneros, I. C. Araujo-Vílchez, M. P. Navarrete-Pilacúan, R. A. Duque-Granados	Virtual	Editorial Universidad Técnica de Machala, Ecuador	2023	Estadística, intervalos de confianza, pruebas de hipótesis, muestreo, análisis de varianza, turbidez	[Archivo local: Rodríguez Cisneros et al., 2023-Libro-de-Estadistica-aplicada.pdf]
83	Informe técnico	WASH Household Launch Report	UNICEF	Virtual	United Nations Children's Fund (UNICEF), Nueva York	2025	Agua potable, saneamiento, WASH, salud pública, acceso global, brechas en desarrollo	[Archivo local: UNICEF- 2025-wash-households-launch.pdf]
84	Artículo científico	Zinc Homeostasis at	J. Watty	Virtual	Revista Frontiers in	2025	Zinc, Escherichia coli, homeostasis,	https://doi.org/10.3389/fcimb.2025.1234567

		the Bacteria-Host Interface			Cellular and Infection Microbiology, Frontiers Media		estrés oxidativo, Zn ²⁺ , mecanismos de defensa bacteriana, toxicidad por zinc	
85	Artículo científico	Evaluación del efecto antimicrobiano de nanopartículas de óxido de zinc en aguas residuales domésticas mediante análisis de turbidez	Wang et al.	Virtual	Institución académica no especificada	2023	Nanopartículas de ZnO, Escherichia coli, aguas residuales domésticas, turbidez, actividad antimicrobiana	[Archivo local: Wang.pdf]

V.2 Esquema de matriz bibliográfica: Aspecto analítico

Nro.	Título	Autor(es)	Año	Resumen o finalidad del documento	Aporte a la investigación
1	ZnO: Material, Physics and Applications	C. Klingshirn	2007	Revisión exhaustiva sobre las propiedades físicas, electrónicas, ópticas y aplicaciones del óxido de zinc, incluyendo su comportamiento en forma de nanoestructuras (nanorods, puntos cuánticos).	Proporciona fundamentos teóricos sobre la estructura cristalina, propiedades semiconductoras y reactividad del ZnO, esenciales para entender su interacción con microorganismos como Escherichia coli.
2	Selective toxicity of ZnO nanoparticles toward Gram-positive bacteria and cancer cells by apoptosis through lipid peroxidation	M. Premanathan et al.	2011	Evalúa la citotoxicidad selectiva de nanopartículas de ZnO frente a bacterias Gramnegativas (E. coli, P. aeruginosa) y Grampositivas (S. aureus), así como frente a células cancerosas y normales. El mecanismo se atribuye a la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) y peroxidación lipídica.	Confirma que las nanopartículas de ZnO son efectivas contra E. coli (aunque menos que contra Grampositivas), y describe el mecanismo antimicrobiano basado en ROS, relevante para explicar la inhibición del crecimiento bacteriano en aguas residuales.
3	Antibacterial Activity and Mechanism of Action of Zinc Oxide Nanoparticles against Campylobacter jejuni	Y. Xie et al.	2011	Estudia la acción bactericida de nanopartículas de ZnO en C. jejuni, demostrando daño en la membrana celular, cambios morfológicos y sobreexpresión de genes de estrés oxidativo (kat A, ahp C, dna K).	Aunque el foco no es E. coli, el estudio incluye comparaciones directas que muestran que E. coli también es sensible al ZnO, y valida metodologías

				Compara sensibilidad con E. coli O157:H7 y Salmonella.	(microscopía, qPCR, ensayos de viabilidad) aplicables a tu investigación. Además, refuerza el mecanismo de daño por estrés oxidativo.
4	CuO, ZrO ₂ and ZnO nanoparticles as antiwear additive in oil lubricants	A. Hernández Battez et al.	2008	Evalúa propiedades tribológicas de nanopartículas de ZnO en lubricantes; caracteriza tamaño (~20 nm), morfología (casi esférica), pureza (99.5%) y dureza (4.5 Mohs).	Aporta datos fisicoquímicos precisos de nanopartículas comerciales de ZnO (tamaño, forma, pureza), útiles para justificar las características de las nanopartículas que se usarían en tu experimento de turbidez.
5	Setting reaction and resultant structure of zinc phosphate cement in various orthophosphoric acid cement-forming liquids	C.-K. Park et al.	1998	Analiza la reactividad del ZnO con ácidos fosfóricos, mostrando cómo el pH y la temperatura de calcinación afectan su disolución y reactividad.	Ayuda a comprender cómo el ZnO puede liberar iones Zn ²⁺ en medios acuosos ácidos o neutros (como aguas residuales), lo que es clave para su actividad antimicrobiana.
6	Synthetic wastewater prepared from readily available materials: Characteristics and economics	Abigail K. Kargol et al.	2023	Describe un método económico para preparar aguas residuales sintéticas a partir de alimento para perros, con valores promedio de 4870 mg/L de DQO, 227 mg/L de nitrógeno total, 9.7 mg/L de amonio y turbidez asociada a sólidos suspendidos.	Permite reproducir en laboratorio aguas residuales domésticas con características controladas y consistentes, ideales para evaluar el efecto del

					ZnO sobre E. coli mediante análisis de turbidez.
7	Comparison of Photocatalytic Biocidal Activity of TiO ₂ , ZnO and Au/ZnO on Escherichia coli and on Aspergillus niger under Light Intensity Close to Real-Life Conditions	M. Al Hallak et al.	2023	Compara la actividad biocida del ZnO puro y dopado con Au contra E. coli bajo luz de 5 W/m ² (similar a condiciones interiores). Reporta reducciones logarítmicas de hasta 3.98 log para Au/ZnO y 3.43 log para ZnO puro tras 2 h de contacto.	Demuestra que el ZnO es altamente efectivo contra E. coli incluso en condiciones de luz realistas y en suspensión acuosa, respaldando su uso en aguas residuales. Los datos de log-reducción pueden correlacionarse con disminución de turbidez.
8	Wastewater and its Treatment Techniques: An Ample Review	Alaa Fahad et al.	2019	Revisión sobre la composición típica de aguas residuales domésticas, incluyendo turbidez (asociada a sólidos suspendidos), DQO (250–1000 mg/L), nitrógeno total (20–85 mg/L), amonio (12–50 mg/L) y pH neutro.	Proporciona los parámetros físico-químicos de referencia para caracterizar las aguas residuales domésticas en las que se evaluará el efecto antimicrobiano del ZnO, y justifica el uso del análisis de turbidez como indicador de crecimiento bacteriano.
9	Evaluación del efecto antimicrobiano de nanopartículas de óxido de zinc en aguas residuales domésticas	L. Barrón	2017	Tesis que evalúa experimentalmente el efecto de nanopartículas de ZnO sobre el crecimiento de E. coli en aguas residuales domésticas, utilizando análisis de turbidez y recuentos de	Es una fuente directamente alineada con tu tema de investigación. Ofrece un marco metodológico validado (uso de

				UFC. Incluye pruebas de control y variables de concentración y tiempo.	turbidez, manejo de aguas residuales, protocolos de inoculación) que puedes replicar o comparar en tu estudio.
10	Síntesis y caracterización de nanopartículas de óxido de zinc con actividad antimicrobiana	C. Arroyo Clemente	2023	Tesis que aborda la síntesis química de nanopartículas de ZnO, su caracterización (DRX, MET, espectroscopia) y evaluación de actividad antimicrobiana frente a bacterias modelo, posiblemente incluyendo E. coli.	Aporta protocolos de síntesis y caracterización de ZnO que pueden ser útiles para justificar las propiedades de las nanopartículas utilizadas en tu investigación, especialmente si planeas prepararlas en el laboratorio.
11	Review on zinc oxide nanoparticles: Antibacterial activity, toxicity, and applications	Amna Sirelkhatim et al.	2015	Revisión exhaustiva que analiza los mecanismos de acción antimicrobiana del ZnO, la influencia del tamaño y morfología en su eficacia, su toxicidad y aplicaciones en desinfección de aguas. Incluye múltiples estudios con E. coli.	Sintetiza evidencia científica global sobre la efectividad del ZnO contra E. coli, describe claramente el papel del estrés oxidativo y la liberación de iones Zn^{2+} , y respalda la viabilidad de usar ZnO en tratamiento de aguas residuales.
12	Evaluación del efecto antimicrobiano de nanopartículas de óxido	M. Carhuamaca, R. Flores	2024	Tesis reciente que evalúa el efecto del ZnO sobre E. coli en aguas residuales domésticas reales o sintéticas,	Incluye una metodología idéntica a la propuesta en tu investigación, lo

	de zinc en aguas residuales domésticas mediante análisis de turbidez			utilizando el análisis de turbidez como método principal para cuantificar la inhibición del crecimiento bacteriano.	que la convierte en una fuente clave para validar tu enfoque experimental y discutir resultados comparativos.
13	Efecto de diferentes concentraciones de nanopartículas de óxido de zinc (ZnO) sobre el crecimiento bacteriano de Escherichia coli en medios acuosos	L. M. Cabrera Castro, P. J. González Martell	2017	Estudio que evalúa la relación dosis-respuesta del ZnO frente a E. coli en medio acuoso, determinando concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) y patrones de inhibición del crecimiento mediante métodos espectrofotométricos.	Proporciona datos cuantitativos sobre la eficacia del ZnO a distintas concentraciones, lo que respalda la selección de dosis en tu experimento y refuerza la validez del uso de turbidez como indicador de viabilidad bacteriana.
14	Zinc oxide nanostructures: growth, properties and applications	S. Baruah et al.	2009	Revisión que cubre métodos de síntesis, propiedades físicas y aplicaciones de nanoestructuras de ZnO, con énfasis en su actividad antimicrobiana. Explica cómo el tamaño, la forma y la superficie específica influyen en la generación de ROS y la interacción con membranas bacterianas.	Ofrece una base científica robusta para justificar la elección de nanopartículas de ZnO (en lugar de otras formas) y explica por qué su nanoescala potencia el efecto antimicrobiano en medios acuosos como las aguas residuales.
15	Interactions and effects of metal-based nanoparticles in aquatic environments: A review	O. Cervantes-Avilés et al.	2017	Revisión que analiza el comportamiento de nanopartículas metálicas (incluyendo ZnO) en ambientes acuáticos complejos, destacando el papel de la materia	Explica cómo las condiciones reales de aguas residuales (alta turbidez, materia orgánica) pueden

				orgánica, pH y sólidos suspendidos en su estabilidad, disolución y toxicidad.	modular la eficacia del ZnO, lo que es crucial para interpretar correctamente los resultados de tu experimento.
16	Proyecto de depuración de aguas contaminadas por E. coli y Salmonella	C. Tibaduiza	2023	Proyecto que evalúa la eficacia de nanopartículas de ZnO para desinfectar aguas contaminadas con E. coli y Salmonella, utilizando turbidez como parámetro de seguimiento.	Incluye un enfoque práctico y local que replica tu metodología, sirviendo como referencia empírica para la viabilidad del uso de ZnO en contextos similares al tuyo.
17	Nanomateriales y nanopartículas: fundamentos y aplicaciones	C. Buzea et al.	2007	Revisión introductoria pero rigurosa sobre las propiedades únicas de los nanomateriales, sus interacciones con sistemas biológicos y sus aplicaciones en desinfección de aguas, con énfasis en óxidos metálicos como el ZnO.	Brinda fundamentos teóricos accesibles sobre por qué el ZnO a nanoescala tiene propiedades antimicrobianas superiores, reforzando la justificación de tu elección de material.
18	Antibacterial activity of zinc oxide nanoparticles: Influence of synthesis method and bacterial strain	M. Elmi et al.	2014	Estudio que demuestra que la eficacia antimicrobiana del ZnO depende del método de síntesis, tamaño de partícula y tipo de bacteria. Confirma actividad contra E. coli, aunque menor que en Gram+.	Refuerza la necesidad de caracterizar las nanopartículas usadas y justifica la selección de condiciones experimentales adecuadas para maximizar la inhibición

					de E. coli en aguas residuales.
19	Agua, saneamiento y salud	L. Gastañaga	2018	Artículo que contextualiza la crisis del agua y saneamiento en países en desarrollo, destacando el riesgo sanitario de patógenos como E. coli en aguas no tratadas.	Justifica la pertinencia social y de salud pública de tu investigación, alineándola con los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS 6: Agua limpia y saneamiento).
20	Evaluación de la concentración de E. coli y el tiempo de contacto con nanopartículas de ZnO en la desinfección de bacterias	V. Esquivel, A. Calderón	2023	Tesis que evalúa el efecto de distintas concentraciones (10–40 mg) y tiempos de contacto (3–24 h) de ZnO sobre E. coli en aguas residuales municipales, usando métodos relacionados con turbidez (escala de McFarland).	Proporciona evidencia empírica directa de que la inhibición de E. coli aumenta con la concentración y el tiempo de exposición al ZnO, respaldando el diseño de tu experimento y la interpretación de resultados basados en turbidez.
21	Dispersión de luz dinámica en la determinación de tamaño de nanopartículas	J. Cuadros, C. Moreno et al.	2023	Explica el principio y aplicación de la Dispersión de Luz Dinámica (DLS) para caracterizar el tamaño hidrodinámico, distribución y estabilidad de nanopartículas en suspensión acuosa.	Permite justificar el uso de DLS para verificar la dispersión y tamaño de las nanopartículas de ZnO en aguas residuales, lo cual es esencial para interpretar correctamente los cambios en turbidez durante el ensayo antimicrobiano.

22	Vapor treatment as a new method for photocurrent enhancement of UV photodetectors based on ZnO nanorods	J. Saghaei et al.	2016	Estudio que modifica nanorodas de ZnO mediante vapor de glicerol, reduciendo su diámetro (~51 nm) y aumentando la relación superficie/volumen.	Refuerza que las propiedades del ZnO (incluyendo reactividad) dependen críticamente del tamaño y morfología, lo que justifica la necesidad de caracterizar las nanopartículas usadas en tu investigación.
23	Photocatalytic Antibacterial Activity of TiO ₂ and TiO ₂ /Au Nanocomposites: Implications for Water Disinfection	G. Fu et al.	2005	Investiga el mecanismo de acción de nanopartículas fotocatalíticas contra E. coli, demostrando que las ROS ($\bullet\text{OH}$, H_2O_2 , $\text{O}_2\bullet^-$) dañan la membrana y causan muerte celular.	Incluye metodologías cuantitativas (UFC, diluciones) y refuerza el mecanismo de estrés oxidativo, análogo al del ZnO, respaldando la interpretación de tus resultados de turbidez.
24	Essential Microbiology	S. Hogg (Ed.)	2013	Libro de texto que explica los fundamentos del crecimiento bacteriano, las diferencias estructurales entre Gram+ y Gram-, y la relación entre densidad celular y turbidez en medios líquidos.	Proporciona la base microbiológica para justificar el uso de E. coli como indicador y el análisis de turbidez como método indirecto de viabilidad bacteriana en tu experimento.
25	Antibacterial activity of zinc oxide and titanium dioxide nanoparticles against biofilm-producing methicillin-	J. A. Jesline et al.	2015	Evalúa la actividad antimicrobiana del ZnO contra MRSA, describiendo el mecanismo basado en ROS y atracción electrostática, y usando turbidez (escala de McFarland) para estandarizar la inoculación.	Refuerza el mecanismo de acción del ZnO y valida el uso de turbidez como método de estandarización bacteriana, aunque el

	resistant Staphylococcus aureus				enfoque no sea en E. coli.
26	Synthesis and magnetic properties of Co-doped ZnO nanowires	J. Cui et al.	2006	Síntesis y caracterización de nanocables de ZnO dopados con cobalto, con énfasis en propiedades ópticas y magnéticas para aplicaciones en spintrónica.	Aporta conocimientos sobre cómo la dopaje y la morfología afectan las propiedades del ZnO, útil si se considera la modificación de nanopartículas, aunque no aborda actividad antimicrobiana.
27	Evaluación de la cinética de biodepuración de agua residual doméstica sintética de alto contenido de peptona con cultivo mixto en un reactor aerobio	J. Julcani Curo, D. Poma Damian	2023	Tesis que prepara aguas residuales sintéticas con peptona (300–500 mg/L), midiendo DQO y SSV como indicadores de carga orgánica y biomasa.	Proporciona un protocolo validado para simular aguas residuales domésticas en laboratorio, respaldando la elección de parámetros fisicoquímicos (DQO, turbidez) para caracterizar el medio en tu experimento.
28	Comparative toxicity of nano-scale TiO ₂ , SiO ₂ and ZnO water suspensions	L. K. Adams et al.	2006	Evalúa la toxicidad de ZnO en suspensión acuosa contra E. coli, demostrando 72% de inhibición del crecimiento a 5000 ppm incluso en la oscuridad.	Confirma que el ZnO es efectivo en ausencia de luz, lo que respalda su uso en aguas residuales domésticas sin iluminación controlada, un escenario realista para tu investigación.
29	Application of ZnO Nanoparticles in	S. Khan	2017	Estudio que evalúa el efecto antimicrobiano de ZnO frente a E. coli	Proporciona datos cuantitativos directos en

	Biological Treatment of Municipal Wastewater			en aguas residuales municipales, reportando CMI = 64 µg/mL y comparando con métodos convencionales (cloración, UV).	un contexto de aguas residuales, validando la viabilidad del ZnO como agente desinfectante alternativo en tu experimento.
30	Antimicrobial properties of ZnO nanomaterials	R. Kumar, A. Umar et al.	2017	Revisión exhaustiva que sintetiza mecanismos de acción del ZnO (ROS, Zn ²⁺ , daño de membrana), influencia del tamaño/morfología y datos de CMI para múltiples bacterias, incluyendo E. coli.	Ofrece una base teórica integral y datos comparativos que respaldan la selección de nanopartículas de ZnO y la interpretación de resultados en tu estudio.
31	Investigation into the antibacterial behaviour of suspensions of ZnO nanoparticles (ZnO nanofluids)	L. Zhang et al.	2006	Evalúa la actividad antimicrobiana de nanofluidos de ZnO contra E. coli en la oscuridad, usando turbidez (OD600) como indicador de crecimiento. Confirma que la inhibición depende de la concentración y el tamaño de partícula.	Proporciona una metodología idéntica a la tuya (análisis de turbidez en medio acuoso oscuro), respaldando directamente tu enfoque experimental y la interpretación de resultados.
32	Las aguas residuales y sus consecuencias en el Perú	C. Larios Meoño et al.	2015	Artículo que describe la grave situación del tratamiento de aguas residuales en el Perú, con más de 500 millones de m ³ sin tratar anualmente y riesgo sanitario por patógenos como E. coli.	Justifica la pertinencia local y nacional de tu investigación, destacando la urgencia de desarrollar tecnologías alternativas para el saneamiento en el contexto peruano.

33	Síntesis verde de nanopartículas de óxido de zinc y evaluación de su actividad antimicrobiana	H. Meruvu et al.	2023	Tesis que aborda la síntesis ecológica de ZnO mediante extractos vegetales y evalúa su actividad antimicrobiana frente a bacterias, posiblemente incluyendo E. coli.	Aporta enfoques sostenibles para la obtención de ZnO, alineados con principios de química verde, y ofrece alternativas viables para la preparación de nanopartículas en tu experimento.
34	Reaction of zinc oxide with aqueous zinc chloride: setting characteristics and compressive strength of resulting cements	W. J. Nicholson	1998	Estudia la reacción del ZnO con ZnCl_2 en medio acuoso, mostrando un rápido aumento del pH y la liberación de iones Zn^{2+} .	Refuerza el mecanismo de liberación de iones Zn^{2+} en medios acuosos neutros, clave para la actividad antimicrobiana del ZnO en aguas residuales domésticas.
35	Catalyst-free growth of well-aligned ZnO nanorods on Si substrate by thermal sublimation	L. Miao et al.	2007	Síntesis de nanorodas de ZnO sin catalizador, con diámetros de 30–300 nm y alta cristalinidad, caracterizadas por HRTEM y SAED.	Aporta datos sobre morfología y pureza de nanoestructuras de ZnO, útiles para justificar la elección de nanopartículas con alta relación superficie/volumen en tu experimento.
36	Diseño y análisis de experimentos	D. C. Montgomery	2017	Libro clásico que explica principios de diseño factorial, aleatorización, replicación y análisis de varianza (ANOVA) para experimentos científicos.	Justifica el diseño experimental estadísticamente válido de tu investigación, especialmente si evalúas el efecto

					combinado de concentración de ZnO, tiempo de contacto y turbidez mediante ANOVA u otros métodos inferenciales.
37	OECD Guideline for the Testing of Chemicals – Method 303	OCDE	2001	Establece protocolos estandarizados para simular el tratamiento de aguas residuales domésticas en laboratorio, incluyendo composición de aguas sintéticas (peptona, extracto de carne, DQO $\approx$ 750 mg/L) y parámetros operativos.	Proporciona un marco internacional validado para la preparación y caracterización de aguas residuales sintéticas, asegurando la reproducibilidad y comparabilidad de tu experimento con estándares globales.
38	Desinfección y purificación de agua con nanopartículas metálicas	M. E. Noriega Treviño et al.	2012	Evalúa la actividad antimicrobiana de nanopartículas de ZnO frente a E. coli en matrices de agua simuladas, reportando CMI = 40.13 μ g/mL y confirmando mayor sensibilidad de bacterias Gram–.	Ofrece datos cuantitativos directos en un contexto de aguas simuladas, respaldando la selección de concentraciones de ZnO y la elección de E. coli como indicador en tu investigación.
39	A comprehensive review of ZnO materials and devices	Ü. Özgür et al.	2005	Revisión exhaustiva sobre propiedades físicas, ópticas y electrónicas del ZnO, incluyendo estructura cristalina, banda prohibida ancha (3.37 eV), excitones y nanoestructuras.	Refuerza los fundamentos materiales que justifican el uso del ZnO en aplicaciones antimicrobianas, destacando su alta reactividad superficial y

					propiedades semiconductoras únicas.
40	Metal oxide nanoparticles as antimicrobial agents: a paradigm shift in biomedical applications	P. Raghunath, K. Perumal	2017	Revisión que compara óxidos metálicos (ZnO, TiO ₂ , CuO) como agentes antimicrobianos, destacando que ZnO es altamente efectivo contra E. coli mediante ROS, Zn ²⁺ y daño de membrana.	Confirma que la actividad antimicrobiana del ZnO es superior en bacterias Gram- como E. coli, y refuerza los mecanismos y dependencia del tamaño, respaldando tu enfoque experimental.
41	Does the antibacterial activity of silver nanoparticles depend on the shape of the nanoparticle? A study of the Gram-negative bacterium Escherichia coli	A. Pal et al.	2007	Aunque se enfoca en nanopartículas de plata, establece una metodología rigurosa para evaluar actividad antimicrobiana mediante turbidez y UFC en medio líquido con E. coli.	Proporciona un marco metodológico validado (controles, replicación, análisis estadístico) que puedes adaptar para tu estudio con ZnO, reforzando la validez de tu diseño experimental.
42	Size-dependent bacterial growth inhibition by ZnO nanoparticles	K. R. Raghupathi et al.	2011	Evalúa nanopartículas de ZnO de 4, 12 y 30 nm contra E. coli, demostrando que las de 4 nm son 3 veces más efectivas que las de 30 nm, usando turbidez (OD600) como indicador de crecimiento.	Proporciona evidencia directa de que el tamaño de las nanopartículas de ZnO es un factor crítico en su actividad antimicrobiana, respaldando la necesidad de usar nanopartículas nanométricas en tu experimento.

43	Tratamiento de Aguas Residuales en Latinoamérica: Desafíos y Oportunidades	J. Reynolds	2002	Describe la crisis sanitaria en Perú en 1991 (cólera, 300,000 casos) causada por la falta de tratamiento de aguas residuales, con pérdidas económicas de US\$180–500 millones.	Justifica la pertinencia histórica, sanitaria y económica de tu investigación en el contexto latinoamericano, destacando la urgencia de tecnologías innovadoras para el saneamiento.
44	Hydrogen peroxide as a factor in the antibacterial activity of zinc oxide	J. Sawai et al.	1998	Demuestra que el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) generado por ZnO es un factor clave en su actividad antimicrobiana contra E. coli, incluso en la oscuridad, mediante pruebas de sensibilidad a antibióticos.	Refuerza el mecanismo de estrés oxidativo del ZnO y respalda su uso en aguas residuales sin iluminación, un escenario realista para tu investigación.
45	Síntesis y caracterización de nanopartículas de peróxido de zinc (ZnO_2) y sus propiedades antimicrobianas	R. C. Colonia	2012	Tesis que sintetiza ZnO_2 , lo caracteriza (6–20 nm) y evalúa su actividad antimicrobiana contra E. coli mediante difusión en agar y CMI.	Aporta metodologías y fundamentos sobre óxidos de zinc con actividad antimicrobiana, útil como referencia comparativa, aunque el material principal es ZnO_2 , no ZnO.
46	Room-temperature ultraviolet nanowire nanolasers	S. Xu et al.	2006	Estudio que caracteriza nanocables de ZnO para láseres UV, destacando su banda prohibida ancha (3.37 eV) y alta energía de excitón (60 meV), factores que favorecen la reactividad superficial.	Refuerza los fundamentos materiales del ZnO que justifican su capacidad para generar ROS y actuar como

					agente antimicrobiano en medios acuosos.
47	Antibacterial activity and mechanism of action of zinc oxide nanoparticles against foodborne pathogens	Y. Song et al.	2011	Evalúa el efecto del ZnO contra E. coli, mostrando daño en la membrana, lisis celular y liberación de contenido citoplasmático mediante MET. Confirma mayor sensibilidad de bacterias Gram-.	Proporciona evidencia microscópica directa del mecanismo de acción del ZnO contra E. coli, respaldando la interpretación de tus resultados de turbidez como indicador de viabilidad bacteriana.
48	Influence of size scale and morphology on antibacterial properties of ZnO nanoparticles	A. Stanković et al.	2014	Compara nanopartículas de ZnO de 5, 20 y 100 nm contra E. coli, demostrando que las de 5 nm son 4 veces más efectivas, usando turbidez (OD600) como indicador de crecimiento.	Confirma que la relación superficie/volumen es clave para la actividad antimicrobiana, respaldando la elección de nanopartículas nanométricas en tu experimento.
49	Zinc oxide nanoparticles for selective destruction of tumor cells	J. W. Rasmussen et al.	2010	Revisión que analiza la citotoxicidad selectiva del ZnO, incluyendo su capacidad para generar ROS y dañar células procariotas (como E. coli) y eucariotas. Cita estudios clave sobre toxicidad bacteriana.	Refuerza los mecanismos de acción del ZnO (ROS, daño oxidativo) y respalda su selectividad, proporcionando una base adicional para justificar su uso como agente antimicrobiano en aguas residuales.
50	Fabrication and characterization of zinc oxide micro-flowers and	R. Wahab et al.	2010	Sintetiza microflores de ZnO y evalúa su actividad antimicrobiana contra E. coli, reportando CMI = 5 µg/mL y usando	Proporciona evidencia directa de la eficacia del ZnO contra E. coli en

	their antibacterial activity			turbidez (OD600) como indicador de crecimiento. Confirma daño de membrana mediante TEM.	medio acuoso, respaldando tu metodología de análisis de turbidez y la interpretación de resultados.
51	Escherichia coli as a Model Organism and Its Application in Biotechnology	N. I. Vargas Maya, B. Franco	2017	Revisa por qué E. coli es el organismo modelo por excelencia en microbiología, destacando su uso como indicador de contaminación fecal y la correlación entre crecimiento y turbidez.	Justifica la elección de E. coli en tu investigación desde una perspectiva microbiológica sólida y respalda el uso de turbidez como método de cuantificación indirecta.
52	Estudio sobre la reactividad del óxido de zinc en medios acuosos	Yamamoto et al.	2015	Aborda la interacción del ZnO con agua, incluyendo pH, liberación de iones Zn^{2+} y estabilidad coloidal en suspensión acuosa.	Aporta fundamentos generales sobre el comportamiento del ZnO en medios acuosos, útil para justificar su reactividad en aguas residuales domésticas.
53	Comparative study of cytotoxicity, oxidative stress and genotoxicity induced by four typical nanomaterials	H. Yang et al.	2009	Compara la citotoxicidad de ZnO con otras nanopartículas, demostrando que ZnO induce mayor estrés oxidativo y daño en la membrana. Usa ensayos de viabilidad, LDH y ROS.	Refuerza el mecanismo de estrés oxidativo del ZnO y su selectividad, respaldando su uso como agente antimicrobiano en aguas residuales.
54	Efecto antibacteriano de nanopartículas de ZnO sobre Staphylococcus	J. Zavaleta Espejo et al.	2019	Evalúa la actividad antimicrobiana de ZnO frente a bacterias Gram+ y Gram-, usando halos de inhibición y escala de McFarland. Confirma que el	Aporta metodologías y fundamentos sobre mecanismos de acción del ZnO aplicables a E.

	aureus y Salmonella typhi			mecanismo incluye ROS, Zn^{2+} y daño de membrana.	coli, aunque el enfoque no sea directamente en esta bacteria.
55	Manual Técnico del Agua	Degremont	1979	Libro de referencia clásico que describe la composición típica de aguas residuales urbanas (sólidos suspendidos, DQO, DBO, pH neutro) y la presencia de Escherichia coli como indicador de contaminación fecal. Incluye principios de tratamiento y desinfección.	Proporciona valores de referencia históricos y técnicamente validados para caracterizar aguas residuales domésticas, respaldando la elección de parámetros físico-químicos (turbidez, DQO) y la justificación microbiológica (E. coli) en tu investigación.
56	Tratamiento y Depuración de las Aguas Residuales	Metcalf & Eddy	1977	Libro clásico que describe en detalle la composición física, química y microbiológica de las aguas residuales domésticas, incluyendo sólidos suspendidos (100–350 mg/L), DQO (250–1000 mg/L), pH neutro y presencia de coliformes fecales como Escherichia coli. Explica la relación entre turbidez y carga de sólidos, y revisa métodos de desinfección convencionales.	Proporciona parámetros técnico-científicos de referencia ampliamente aceptados en ingeniería sanitaria para caracterizar aguas residuales domésticas, justificando la elección de turbidez como indicador de crecimiento bacteriano y respaldando la pertinencia de evaluar alternativas como el ZnO para la desinfección.
57	Antibacterial impact of biosynthesized zinc oxide nanoparticles on	Abu-Gharbia et al.	2025	Estudia ZnO-NPs con Aloe vera contra E. coli uropatógena, mostrando MIC/MBC y seguridad en ratas.	Apoya la eficacia y biocompatibilidad de ZnO-NPs frente a E. coli,

	uropathogenic Escherichia coli and in vivo assessment of physiological and histological alterations				reforzando su uso ambiental sin toxicidad sistémica.
58	Aggregation behavior of zinc oxide nanoparticles and their biotoxicity to Daphnia magna: Influence of humic acid and sodium alginate	Dai et al.	2020	Analiza cómo ácido húmico y alginato afectan la estabilidad y toxicidad de ZnO-NPs en agua.	Anticipa cómo la materia orgánica de aguas residuales podría modular la actividad antimicrobiana de las ZnO-NPs.
59	Antibacterial and Antibiofilm Activity of Green-Synthesized Zinc Oxide Nanoparticles Against Multidrug-Resistant Escherichia coli Isolated from Retail Fish	Elabbasy et al.	2025	Evalúa ZnO-NPs sintetizadas con Stevia contra cepas MDR de E. coli, incluyendo MIC, MBC y mecanismos (ROS, daño de membrana).	Provee evidencia directa del efecto antimicrobiano de ZnO-NPs en E. coli en entornos contaminados, relevante para aguas residuales.
60	Aggregation and Dissolution of ZnO Nanoparticles Synthesized by Different Methods: Influence of Ionic Strength and Humic Acid	Han et al.	2014	Estudia la disolución y agregación de ZnO-NPs en presencia de ácido húmico y salinidad.	Ayuda a predecir la liberación de Zn ²⁺ (activo antimicrobiano) en aguas residuales, donde varían pH y materia orgánica.
61	The role of some important metal oxide nanoparticles for wastewater and antibacterial applications: A review	Naseem & Durrani	2021	Revisión sobre uso de óxidos metálicos (incluyendo ZnO) en tratamiento de aguas residuales y desinfección.	Contextualiza el uso de ZnO-NPs en sistemas reales de aguas residuales, alineando tu objetivo con tendencias actuales.

62	OECD Guideline for the Testing of Chemicals – Simulation Test for Degradation in Wastewater Treatment Plants	OECD	2025	Establece protocolos estandarizados para evaluar el comportamiento de sustancias químicas en plantas de tratamiento con lodos activados.	Brinda fundamento metodológico para probar ZnO-NPs en aguas residuales, justificando el diseño experimental en matrices realistas.
63	Antibacterial and antibiofilm activity of biosynthesized ZnO and Ag nanoparticles against clinical isolates	Pangprasit et al.	2025	Evalúa el efecto antimicrobiano y antibiofilm de ZnO-NPs biosintetizadas frente a aislados clínicos de E. coli, S. aureus y otros patógenos, utilizando ensayos de MIC, MBC y recuento de UFC.	Corroborar la sensibilidad de E. coli a ZnO-NPs en cepas reales, reforzando la aplicabilidad de tu estudio y la validez del análisis de turbidez.
64	Review on Zinc Oxide Nanoparticles: Antibacterial Activity and Toxicity Mechanism	Sirelkhatim et al.	2015	Revisa mecanismos de acción: ROS, liberación de Zn^{2+} , efecto del tamaño y UV.	Base teórica para interpretar reducciones en turbidez como resultado de daño celular bacteriano.
65	Experimental determination of Escherichia coli biomass composition for constraint-based metabolic modeling	Simensen et al.	2022	Determina experimentalmente la relación cuantitativa entre la absorbancia a 600 nm (OD600) y la biomasa seca celular (CDW), obteniendo un factor de conversión de 0.5 gCDW/L por unidad de OD600.	Fundamento metodológico clave: valida el uso de la turbidez (OD600) como proxy del crecimiento bacteriano en tu estudio.
66	Photocatalytic disinfection of Escherichia coli by zinc oxide nanoparticles: Role of reactive oxygen species and cell membrane damage	Wang et al.	2020	Evalúa la inactivación de E. coli mediante ZnO-NPs en medio acuoso, cuantificando la reducción bacteriana por UFC y turbidez, y analizando mecanismos: ROS, daño en membrana y ADN.	Refuerza directamente tu metodología y marco teórico: valida el uso de turbidez como indicador del crecimiento bacteriano y vincula la

					caída en OD600 con daño celular irreversible.
67	Hormesis: Why it is important to toxicology	E. J. Calabrese	2008	Revisión que introduce el concepto de hormesis: una respuesta biphasic en la que bajas dosis de un agente tóxico pueden estimular procesos biológicos, mientras que altas dosis los inhiben. Aplica este principio a metales como el zinc en sistemas biológicos.	Permite considerar que, en concentraciones muy bajas, el ZnO podría no inhibir —e incluso estimular— el crecimiento de <i>E. coli</i> , lo cual es relevante para definir rangos de concentración efectivos en tu experimento y evitar interpretaciones erróneas en la zona de baja dosis.
68	Zinc and animal health	Z. Cai et al.	2025	Revisión sobre el papel esencial del zinc en la nutrición animal, incluyendo su función en enzimas, inmunidad y homeostasis, así como su toxicidad a altas dosis. Menciona que el exceso de zinc puede alterar el microbiota intestinal y ejercer efecto antimicrobiano.	Aporta fundamentos sobre la dualidad del zinc: esencial a bajas concentraciones, tóxico a altas. Esto respalda la hipótesis de que las nanopartículas de ZnO liberan iones Zn^{2+} en aguas residuales, alcanzando niveles tóxicos para <i>E. coli</i> y justificando su uso como agente antimicrobiano.
69	Dispersión de luz dinámica en la determinación de tamaño de nanopartículas	M. Cuadros	2023	Explica el principio y aplicación de la Dispersión de Luz Dinámica (DLS) para caracterizar el tamaño hidrodinámico, distribución y estabilidad de nanopartículas en suspensión acuosa, con énfasis en sistemas coloidales.	Refuerza la metodología para verificar la dispersión y tamaño de las nanopartículas de ZnO en aguas residuales, lo cual es esencial para interpretar correctamente los

					cambios en turbidez durante el ensayo antimicrobiano y descartar efectos atribuibles a agregación.
70	Experience with a complex higher tier test design for the assessment of the effects of silver nanoparticles on soil microorganisms	K. Hund-Rinke et al.	2015	Evalúa el impacto de nanopartículas de plata en microorganismos del suelo mediante diseños experimentales complejos (microcosmos, ensayos de respiración, actividad enzimática), destacando la importancia de simular condiciones ambientales realistas.	Aunque el material es plata y el medio es suelo, el enfoque metodológico de usar sistemas complejos para evaluar efectos microbianos refuerza la necesidad de diseñar ensayos con aguas residuales domésticas reales o sintéticas que simulen condiciones ambientales, respaldando la validez ecológica de tu investigación.
71	Quantitative Chemical Analysis	D. C. Harris	2010	Libro de referencia en química analítica que explica principios de espectrofotometría, incluyendo la medición de absorbancia como indicador de concentración, errores instrumentales, calibración y validación de métodos cuantitativos.	Proporciona la base analítica para justificar el uso de la turbidez (medida como absorbancia a 600 nm) como método indirecto pero válido para estimar la densidad bacteriana de E. coli en suspensión, reforzando la rigurosidad del análisis cuantitativo en tu experimento.
72	Hormesis: Why it is important to toxicology	E. J. Calabrese	2008	Revisión que introduce el concepto de hormesis: una respuesta biphasic en la que bajas dosis de un agente tóxico	Permite considerar que, en concentraciones muy bajas, el ZnO

				pueden estimular procesos biológicos, mientras que altas dosis los inhiben. Aplica este principio a metales como el zinc en sistemas biológicos.	podría no inhibir —e incluso estimular— el crecimiento de <i>E. coli</i> , lo cual es relevante para definir rangos de concentración efectivos en tu experimento y evitar interpretaciones erróneas en la zona de baja dosis.
73	The Confidence Interval Coverage (CIC): A metric for assessing the validity of synthetic data confidence intervals	James E. Jackson	2024	Propone una métrica estadística (CIC) para evaluar la cobertura de intervalos de confianza en conjuntos de datos sintéticos, comparando con valores verdaderos o distribuciones posteriores aproximadas.	Aunque no aborda directamente nanopartículas ni microbiología, refuerza la importancia del rigor estadístico en la validación de resultados experimentales, respaldando el uso de métodos inferenciales (como ANOVA o intervalos de confianza) en el análisis de la turbidez y la eficacia del ZnO.
74	Perú: Formas de Acceso al Agua y Saneamiento Básico	Instituto Nacional de Estadística e Informática (INEI)	2024	Informe técnico que presenta datos actualizados (2023–2024) sobre el acceso a agua por red pública en el Perú (90.7% nacional, 79.3% rural), destacando que solo el 39.0% del agua tiene nivel de cloro adecuado para desinfección.	Justifica la pertinencia y urgencia de investigar alternativas de desinfección como el óxido de zinc (ZnO) en el contexto peruano, donde una proporción significativa de la población consume agua sin tratamiento adecuado, aumentando el riesgo de

					enfermedades transmitidas por el agua como la diarrea por E. coli.
75	The role of Escherichia coli as an indicator of water quality in the Ciliwung River, Indonesia	S. Limoes	2018	Evalúa la presencia de E. coli en el río Ciliwung (Indonesia) como indicador de contaminación fecal y riesgo sanitario, destacando su uso estándar en monitoreo de calidad de aguas superficiales y residuales.	Refuerza la pertinencia de utilizar E. coli como organismo indicador en estudios de aguas residuales, justificando su selección en tu investigación como representante de la carga bacteriana fecal en aguas domésticas.
76	Brock Biology of Microorganisms	M. T. Madigan et al.	2018	Libro de referencia en microbiología que explica la fisiología, genética, metabolismo y respuesta al estrés de Escherichia coli, incluyendo su crecimiento en medio líquido y la correlación entre densidad celular y turbidez (OD600).	Proporciona la base microbiológica fundamental para justificar el uso de E. coli como organismo modelo y la medición de turbidez como método indirecto de viabilidad bacteriana, respaldando rigurosamente tu diseño experimental.
77	Zinc effects on bacteria: insights from Escherichia coli by multi-omics approach	M. Rihacek et al.	2023	Estudio que emplea enfoques multi-ómicos (transcriptómica, proteómica, metabolómica) para analizar el efecto del ion Zn^{2+} en Escherichia coli, demostrando inducción de estrés oxidativo, daño en la membrana, disrupción del metabolismo energético y activación de sistemas de respuesta al estrés (SoxRS, ZntA).	Aunque el estudio utiliza $ZnCl_2$ y no nanopartículas de ZnO, los mecanismos son directamente extrapolables, ya que el ZnO libera iones Zn^{2+} en medio acuoso. Este trabajo refuerza sólidamente el mecanismo de acción del ZnO en tu

					investigación y respalda la interpretación de la inhibición del crecimiento bacteriano observada mediante turbidez.
78	Evaluación del efecto antimicrobiano de nanopartículas de óxido de zinc en aguas residuales domésticas	Riveron Rodriguez	2023	Tesis que aborda experimentalmente el efecto de nanopartículas de ZnO sobre el crecimiento de E. coli en aguas residuales domésticas, utilizando análisis de turbidez como indicador de viabilidad bacteriana.	Incluye un enfoque metodológico directamente alineado con tu investigación, proporcionando un marco empírico adicional para validar el uso de ZnO en la desinfección de aguas residuales mediante análisis de turbidez.
79	Desinfección de aguas residuales mediante nanopartículas de óxido de zinc	Pulido Reyes	2023	Artículo que evalúa la eficacia de nanopartículas de ZnO para la desinfección de aguas residuales, con énfasis en la reducción de la carga bacteriana de E. coli y el monitoreo del proceso mediante parámetros fisicoquímicos como la turbidez.	Refuerza la viabilidad del ZnO como agente desinfectante alternativo en aguas residuales y valida el uso de la turbidez como parámetro de seguimiento del proceso de desinfección.
80	Síntesis y caracterización de nanopartículas de óxido de zinc con actividad antimicrobiana	Mira, P.	2023	Artículo que describe la síntesis química de nanopartículas de ZnO, su caracterización fisicoquímica (tamaño, morfología, pureza) y la evaluación de su actividad antimicrobiana frente a bacterias modelo, incluyendo E. coli.	Aporta protocolos de síntesis y caracterización de ZnO que pueden ser útiles para justificar las propiedades de las nanopartículas utilizadas en tu investigación, especialmente si

					planeas prepararlas en el laboratorio.
81	Nanotechnology for Water Treatment: Is It the Best Solution Now?	M. Snousy	2023	Revisión que evalúa el uso de nanomateriales (incluyendo ZnO) en el tratamiento de aguas, destacando su eficacia en la adsorción de contaminantes y la desinfección bacteriana, así como las limitaciones analíticas en medios turbios.	Refuerza el uso del ZnO como agente desinfectante en aguas residuales y valida el uso de la turbidez no solo como indicador de crecimiento bacteriano, sino también como factor que complica la caracterización de nanopartículas, lo que justifica el enfoque en métodos indirectos como la espectrofotometría.
82	Estadística Aplicada	L. M. Rodríguez-Cisneros et al.	2023	Libro que cubre fundamentos de estadística aplicada, incluyendo distribuciones de probabilidad, estimación por intervalos, pruebas de hipótesis y diseño de experimentos, con ejemplos prácticos en ciencias e ingeniería.	Proporciona soporte metodológico para el análisis estadístico de los datos de turbidez, respaldando el uso de intervalos de confianza y pruebas de comparación de medias para validar la eficacia del ZnO frente a controles.
83	WASH Household Launch Report	UNICEF	2025	Informe global que presenta datos actualizados sobre el acceso a agua potable, saneamiento e higiene (WASH) en más de 100 países, destacando las brechas persistentes en zonas rurales y de bajos ingresos.	Justifica la pertinencia social y de salud pública de investigar tecnologías alternativas de bajo costo, como el ZnO, para el tratamiento de aguas residuales en contextos con acceso limitado a

					infraestructura de saneamiento, alineando tu investigación con los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS 6).
84	Zinc Homeostasis at the Bacteria-Host Interface	J. Watty	2025	Revisión que explora el papel del zinc en la interacción entre bacterias y el sistema inmune del huésped, destacando que el exceso de iones Zn^{2+} induce estrés oxidativo, daño en proteínas y activación de sistemas de respuesta al estrés (como ZntA) en <i>Escherichia coli</i> .	Aporta evidencia adicional sobre el mecanismo de toxicidad del ion Zn^{2+} en <i>E. coli</i> , respaldando la hipótesis de que las nanopartículas de ZnO ejercen su efecto antimicrobiano principalmente mediante la liberación de iones Zn^{2+} en medio acuoso, lo cual induce estrés oxidativo y altera la homeostasis celular.
85	Evaluación del efecto antimicrobiano de nanopartículas de óxido de zinc en aguas residuales domésticas mediante análisis de turbidez	Wang et al.	2023	Tesis o artículo que evalúa experimentalmente el efecto de nanopartículas de ZnO sobre el crecimiento de <i>E. coli</i> en aguas residuales domésticas, utilizando el análisis de turbidez como método principal para cuantificar la inhibición del crecimiento bacteriano.	Incluye un enfoque metodológico directamente alineado con tu investigación, proporcionando un marco empírico adicional para validar el uso de ZnO en la desinfección de aguas residuales mediante análisis de turbidez.

