



Universidad Autónoma de Querétaro

Facultad de Química

Evaluación de la actividad antibacteriana de un
nanocompuesto plata-magnetita sobre agua residual
urbana posterior al tratamiento secundario

Tesis

Que como parte de los requisitos para
obtener el grado de
Maestro en Ciencia y Tecnología Ambiental

Presenta:

IBT David Centeno Chávez

Dirigido por:

Dra. Diana Issell Sandoval Cárdenas

Co-Directora:

Dra. Regina Hernández Gama

Querétaro, Qro. a diciembre de 2025

La presente obra está bajo la licencia:
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.es>



CC BY-NC-ND 4.0 DEED

Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional

Usted es libre de:

Compartir — copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato

La licenciante no puede revocar estas libertades en tanto usted siga los términos de la licencia

Bajo los siguientes términos:



Atribución — Usted debe dar [crédito de manera adecuada](#), brindar un enlace a la licencia, e [indicar si se han realizado cambios](#). Puede hacerlo en cualquier forma razonable, pero no de forma tal que sugiera que usted o su uso tienen el apoyo de la licenciante.



NoComercial — Usted no puede hacer uso del material con [propósitos comerciales](#).



SinDerivadas — Si [remezcla, transforma o crea a partir](#) del material, no podrá distribuir el material modificado.

No hay restricciones adicionales — No puede aplicar términos legales ni [medidas tecnológicas](#) que restrinjan legalmente a otras a hacer cualquier uso permitido por la licencia.

Avisos:

No tiene que cumplir con la licencia para elementos del material en el dominio público o cuando su uso esté permitido por una [excepción o limitación](#) aplicable.

No se dan garantías. La licencia podría no darle todos los permisos que necesita para el uso que tenga previsto. Por ejemplo, otros derechos como [publicidad, privacidad, o derechos morales](#) pueden limitar la forma en que utilice el material.



Universidad Autónoma de Querétaro

Facultad de Química

Maestría en ciencia y tecnología ambiental

Evaluación de la actividad antibacteriana de un nanocompuesto plata-magnetita sobre agua residual urbana posterior al tratamiento secundario

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de
Maestro en Ciencia y Tecnología Ambiental

Presenta

IBT David Centeno Chávez

Dirigido por:

Dra. Diana Issell Sandoval Cárdenas

Co-dirigido por:

Dra. Regina Hernández Gama

Dra. Diana Issell Sandoval Cárdenas

Presidente

Dra. Regina Hernández Gama

Secretario

Dr. Luis Arturo Godínez Mora-Tovar

Vocal

Dr. José Santos Cruz

Suplente

Dr. Josué Daniel García Espinoza

Suplente

Centro Universitario, Querétaro, Qro.

Diciembre de 2025

México

Dedicatoria

A mis padres Gustavo y Serafina, por su amor, su ejemplo y su infinita paciencia. Por enseñarme que el conocimiento y la perseverancia son el camino hacia los sueños, y que los logros solo tienen sentido cuando se alcanzan con humildad y gratitud. Gracias por ser mi mayor fuente de fortaleza, por creer en mí incluso en los momentos de duda, y por recordarme siempre el valor del esfuerzo y la importancia de nunca rendirse.

A mi familia, por su apoyo constante, su comprensión y sus palabras de ánimo en los momentos más desafiantes.

A mis profesores y mentores, por compartir su conocimiento y su pasión por la ciencia, y por guiarme con sabiduría y paciencia en este proceso de crecimiento personal y profesional.

Esta tesis es fruto de su influencia, su confianza y del amor con el que me acompañaron a lo largo de este camino.

Agradecimientos

Expreso mi agradecimiento al M.C. Jesús Cárdenas Mijangos, Profesor del Posgrado Interinstitucional en Ciencia y Tecnología del CIDETEQ, por las facilidades brindadas para el acceso y toma de muestra de la planta de tratamiento de agua del CIDETEQ.

De igual manera, a la M. en C. Ma. Lourdes Palma Tirado, del Instituto de Neurobiología de la UNAM, por su apoyo y orientación técnica durante los análisis de TEM.

Asimismo, al Dr. Manuel Aguilar Franco, del Laboratorio Nacional de Caracterización de Materiales (LaNCaM), en el Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada (CFATA), UNAM campus Juriquilla, por las facilidades otorgadas y su amable disposición para la realización de los análisis de microscopía.

También agradezco al Dr. Fernando Jonathan Lona Ramírez, del Instituto Tecnológico de Celaya, por su colaboración y asesoría técnica en la realización de los análisis de FTIR, así como por su disposición para apoyar el desarrollo de esta investigación.

Finalmente, agradezco al Dr. Umapada Pal, Investigador Emérito del Instituto de Física de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, por su apoyo y disposición en los análisis de las propiedades magnéticas del material.

DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD DE ESTUDIANTE:

Declaro que los datos propios obtenidos en esta investigación fueron generados durante el desarrollo de mi trabajo de tesis de forma ética y que reporto detalles necesarios para que los resultados de esta tesis sean reproducibles en eventuales investigaciones futuras. Finalmente, este manuscrito de tesis es un trabajo original en el cual se declaró y dio reconocimiento a cualquier colaboración o cita textual presentadas en el documento.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE GENERAL.....	I
ÍNDICE DE FIGURAS.....	III
ÍNDICE DE CUADROS.....	V
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. ANTECEDENTES.....	3
2.1 Contaminación del agua por bacterias patógenas	3
2.2 Tratamiento terciario de aguas residuales: métodos de desinfección del agua 5	
2.3 Nanopartículas	8
2.3.1 Nanopartículas de plata.....	9
2.3.2 Nanopartículas de magnetita	12
2.4 Nanocomposito de plata-magnetita.....	15
3. HIPÓTESIS.....	17
4. OBJETIVOS.....	18
4.1 Objetivo general	18
4.2 Objetivos específicos	18
5. METODOLOGÍA.....	19
5.1 Material vegetal.....	19
5.2 Métodos	19
5.2.1 Síntesis del nanocomposito plata-magnetita	19
5.2.2 Evaluación del tiempo de contacto y la concentración sobre la actividad antibacteriana.....	21
5.2.3 Caracterización del nanocomposito plata-magnetita	23
5.2.4 Determinación de la actividad antibacteriana del nanocomposito en agua residual urbana con tratamiento secundario	23
5.3 Diseño experimental y análisis de datos.	27
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	29

6.1	Síntesis del nanocomposito plata-magnetita.....	29
6.1.1	Síntesis verde de nanopartículas de plata.....	29
6.1.2	Síntesis de nanopartículas de magnetita recubiertas con quitosano	31
6.1.3	Evaluación del efecto de la concentración de AgNPs, MNPs y glutaraldehído en la cantidad de AgNPs y retención de masa imantada del nanocomposito plata-magnetita	32
6.2	Evaluación del tiempo de contacto y la concentración del nanocomposito sobre la actividad antibacteriana.....	38
6.3	Caracterización del nanocomposito plata-magnetita.....	47
6.3.1	Análisis estructural por difracción de rayos X.....	47
6.3.2	Análisis de grupos funcionales por espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier	49
6.3.2.1	Análisis de la morfología y tamaño de partícula por microscopia electrónica de transmisión.....	51
6.3.2.2	Microscopia electrónica de barrido de alta resolución y espectroscopía de energía dispersiva	55
6.3.3	Análisis de las propiedades magnéticas por magnetometría de muestra vibrante	61
6.4	Determinación de la actividad antibacteriana del nanocomposito en agua residual urbana con tratamiento secundario	64
7.	CONCLUSIONES	69
8.	REFERENCIAS	70

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Enfoque descendente y ascendente en la síntesis de nanopartículas. (Saravanan et al., 2021).	8
Figura 2. Representación del recubrimiento de quitosano en la superficie de las MNPs. Modificado de Le et al., (2020).	14
Figura 3. Cambio de color de la solución en el proceso de síntesis de las AgNPs.	29
Figura 4. Espectro UV-Vis de las AgNPs sintetizadas. Infusión de <i>O. basilicum</i> (rojo) y AgNPs sintetizadas (lote 1, morado y lote 2 azul).	30
Figura 5. Polvo obtenido tras (A) la síntesis de magnetita (B) después del proceso de lavado y (C) distribución granulométrica del material.	31
Figura 6. Gráfica de contorno MNPs (g/L) contra Glut (%) para el porcentaje de AgNPs en el nanocomposito plata-magnetita con AgNPs +1 como valor fijo.	34
Figura 7. Gráfica de contorno MNPs (g/L) contra AgNPs (g/L) para el porcentaje de recuperación del nanocomposito plata-magnetita con un imán de neodimio 1.5 T, el valor fijo usado fue Glut -1.	37
Figura 8. Ensayo de reto microbiano del nanocomposito plata-magnetita a diferentes tiempos contra <i>E. faecalis</i> y <i>E. coli</i>	38
Figura 9. Grafica de caja del % de AgNPs en el nanocomposito plata-magnetita en los diferentes tratamientos según el diseño factorial 2^3	39
Figura 10. Ensayo de reto microbiano con <i>E. faecalis</i> después de 40 min evaluando los nanocompositos B y C a 2 g/L.	40
Figura 11. Reducción logarítmica ($\log_{10}$ UFC/mL) de <i>E. coli</i> después de 40 min de contacto con MNPs, AgNPs y nanocomposito plata-magnetita a diferentes concentraciones.	42
Figura 12. Reducción logarítmica ($\log_{10}$ UFC/mL) de <i>E. faecalis</i> después del tratamiento con MNPs, AgNPs y nanocomposito plata-magnetita a diferentes concentraciones.	43
Figura 13. Patrones de difracción de MNPs y del nanocomposito plata-magnetita. Planos cristalinos correspondientes a las MNPs se muestran en rojo con línea	

sólida y los de la plata se muestran en color azul con línea punteada.	47
Figura 14. Espectro FTIR de las AgNPs, MNPs y del nanocomposito plata-magnetita.	49
Figura 15. Micrografías TEM y distribuciones de tamaño de (A, B) AgNPs lote 1, (C, D) AgNPs lote 2, (E, F) MNPs y (G, H) nanocomposito plata-magnetita.	52
Figura 16. Imágenes SEM de las MNPs y el nanocomposito plata-magnetita antes y después del tratamiento antimicrobiano. (A) MNPs, (B) Nanocomposito sin tratar, (C) nanocomposito después de tratamiento contra <i>E. coli</i> , (D,E), contra <i>E. faecalis</i> y (F) nanocomposito, vista a baja magnificación.	56
Figura 17. Imágenes SEM-EDS de las MNPs sin modificar y del nanocompuesto plata-magnetita.	59
Figura 18. Curva de magnetización de las MNPs y del nanocomposito plata-magnetita.	62
Figura 19. Reducción logarítmica ($\log_{10}$) de parámetros microbiológicos en tres muestras de agua residual tratadas con el nanocomposito plata-magnetita, en comparación con los controles sin tratamiento.	65

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Enfermedades bacterianas transmitidas por el agua, agentes causales y síntomas (Some et al., 2021).	4
Cuadro 2. Límites permitidos de organismos indicadores de contaminación fecal en descarga de aguas residuales en diferentes cuerpos receptores en México según la NOM-001-SEMARNAT-2021.....	5
Cuadro 3. Composición de agua residual sintética basada en las directrices de la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OECD, 2001).	22
Cuadro 4. Valores de NMP por cada 100 mL de muestra y 95 % de límite de confianza (para diversas combinaciones de resultados positivos cuando se utilizan tres diluciones de muestra, 10^{-1} , 10^{-2} y 10^{-3}). Obtenida de la NMX-AA-167-SCFI-2017.....	25
Cuadro 5. Diseño experimental 2 ³ . Concentraciones de AgNPs, MNPs y glutaraldehído (Glut) a evaluar con el diseño experimental.	27
Cuadro 6. Análisis de varianza para el porcentaje de AgNPs en nanocomposito.	32
Cuadro 7. Análisis de varianza para el porcentaje de masa de plata-magnetita recuperado.....	35
Cuadro 8. Tamaño promedio de partícula y agrupación estadística de AgNPs, MNPs y nanocompuesto plata-magnetita	53
Cuadro 9. Porcentaje de concentración atómica de los elementos detectados mediante EDS en la magnetita sin modificar y en el nanocomposito plata-magnetita, antes y después del tratamiento contra <i>E. coli</i> y <i>E. faecalis</i>	60
Cuadro 10. Comparación de parámetros microbiológicos y fisicoquímicos en muestras de agua residual con tratamiento secundario con tratamiento de nanocomposito plata-magnetita y controles sin el tratamiento.....	66

RESUMEN

Las bacterias patógenas en el agua representan un riesgo para la salud y el ambiente. Los métodos convencionales de desinfección, como la cloración, ozonización y radiación ultravioleta, aunque ampliamente utilizados, presentan limitaciones asociadas con alto consumo energético y la formación de subproductos tóxicos bajo condiciones de alta carga orgánica o exceso de desinfectante, lo que afecta la calidad del agua tratada. Las nanopartículas de plata (AgNPs) poseen elevada actividad antibacteriana; sin embargo, su liberación al ambiente implica riesgos ecológicos que pueden mitigarse al combinarlas con nanopartículas de magnetita (MNPs), las cuales permiten su recuperación magnética y evitan su descarga. El objetivo de este estudio fue evaluar la actividad antibacteriana de un nanocomposito plata–magnetita en la reducción de coliformes totales, coliformes fecales, enterococos fecales y *Escherichia coli* en agua residual urbana posterior al tratamiento secundario. El nanocomposito se sintetizó mediante un diseño factorial 2^3 para optimizar las concentraciones de AgNPs, MNPs y glutaraldehído, considerando la retención de masa por un imán y el contenido de plata. La caracterización por difracción de rayos X, espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier, microscopía electrónica de transmisión y de barrido, espectroscopía de dispersión de energía de rayos X y magnetometría de muestra vibrante confirmó las fases cristalinas de AgNPs y MNPs; morfología esferoidal con tamaños promedio de 11.3 y 6.3 nm (AgNPs), 9.7 y 8.1 nm (MNPs y nanocomposito); composición elemental: Fe 47, O 78 y Ag 0.22 %; y magnetización de saturación de 16 emu/g con comportamiento superparamagnético. La combinación óptima de parámetros correspondió al nivel alto de todos los factores. A 10 g/L, el nanocomposito redujo *E. coli* y *Enterococcus faecalis* en 99.99996 y 88.8 % (6.44 y 0.95 $\log_{10}$), respectivamente. En agua residual tratada redujo entre 0 y 78.2 % (0.66 $\log_{10}$) de bacterias indicadoras, y cerca del 90 % (1.0 $\log_{10}$) de microorganismos resistentes a amoxicilina, claritromicina y ciprofloxacino. El nanocomposito mostró potencial como material recuperable para la inactivación de *E. coli* y bacterias resistentes, aunque su eficacia fue limitada en matrices complejas, lo que indica la pertinencia de ajustar su diseño o condiciones de aplicación.

Palabras clave: Nanocompuesto plata-magnetita, Actividad antibacteriana, Tratamiento de aguas residuales, microorganismos resistentes a antibióticos (MRA)

ABSTRACT

Pathogenic bacteria in water pose a risk to both human health and the environment. Conventional disinfection methods such as chlorination, ozonation, and ultraviolet irradiation, although widely used, have limitations related to high energy demand and the formation of toxic by-products under conditions of high organic load or excess disinfectant, which compromise the quality of treated water. Silver nanoparticles (AgNPs) exhibit strong antibacterial activity; however, their direct release into the environment entails ecological risks that can be mitigated by combining them with magnetite nanoparticles (MNPs), which enable magnetic recovery and prevent their discharge. The aim of this study was to evaluate the antibacterial activity of a silver–magnetite nanocomposite in reducing total coliforms, fecal coliforms, fecal enterococci, and *Escherichia coli* in urban wastewater after secondary treatment. The nanocomposite was synthesized using a 2^3 factorial design to optimize the concentrations of AgNPs, MNPs, and glutaraldehyde, considering magnetic retention and silver content as response variables. Characterization by X-ray diffraction, Fourier-transform infrared spectroscopy, transmission and scanning electron microscopy, energy-dispersive X-ray spectroscopy, and vibrating sample magnetometry confirmed the crystalline phases of AgNPs and MNPs, spheroidal morphology, and average particle sizes of 11.3 and 6.3 nm (AgNPs), 9.7 and 8.1 nm (MNPs and nanocomposite). Elemental composition included Fe (47), O (78), and Ag (0.22 %), and the material exhibited a saturation magnetization of 16 emu/g with superparamagnetic behavior. The optimal parameter combination corresponded to the high levels (+1) of all factors. At 10 g/L, the nanocomposite achieved 99.99996 % ($6.44 \log_{10}$) and 88.8 % ($0.95 \log_{10}$) reductions of *E. coli* and *Enterococcus faecalis*, respectively. In treated wastewater, reductions ranged from 0 to 78.2 % ($0.66 \log_{10}$) for fecal indicator bacteria, and up to 90 % ($1.0 \log_{10}$) for antibiotic-resistant microorganisms, including those resistant to amoxicillin, clarithromycin, and ciprofloxacin. The nanocomposite demonstrated potential as a magnetically recoverable material for the inactivation of *E. coli* and resistant bacteria, although its efficacy in complex matrices was limited, indicating the need to refine its design or application conditions.

Key words: Silver-magnetite nanocomposite, Antibacterial activity, Wastewater treatment, Antibiotic-resistant microorganisms (ARM).

1. INTRODUCCIÓN

El agua es un recurso esencial para todas las actividades humanas, ya sean agrícolas, manufactureras y de consumo humano. Existen varios sectores que tienen una fuerte dependencia del agua como la agricultura y las industrias textil, alimenticia, farmacéutica, minera, agrícola, entre otros. Además, la demanda de agua aumentará con relación al crecimiento poblacional y se prevé que para el 2050 aumente cerca de 55 %, debido al aumento en la demanda de productos, incremento en el consumo doméstico y al consumo asociado a la generación de energía (Durán-Sánchez et al., 2020).

Actualmente, la cantidad de agua a la que se le da tratamiento en México es insuficiente. En el año 2020, del total de agua residual urbana generada alrededor del 45 % recibió tratamiento para su disposición en cuerpos de agua (CONAGUA, 2024). Una vez eliminada la mayor parte de los contaminantes, incluyendo contaminantes biológicos (bacterias patógenas, virus y parásitos) (Kristanti et al., 2022), metales pesados, compuestos orgánicos persistentes, fármacos, productos de cuidado personal, entre otros contaminantes (Ahmed et al., 2022), las aguas residuales tratadas pueden destinarse a diversos usos.

Las bacterias patógenas son uno de los contaminantes a eliminar que generan más preocupación ya que se pueden propagar mediante el agua a los diferentes ambientes. Las bacterias patógenas presentes en el agua son responsables de enfermedades gastrointestinales principalmente (Some et al., 2021).

Los métodos de desinfección comúnmente usados en plantas de tratamiento de aguas, tales como la cloración, radiación ultravioleta (UV), ozonización y membranas, resultan eficaces para eliminar la mayoría de las bacterias patógenas. No obstante, presentan desventajas, como la generación de subproductos de desinfección y alto consumo energético, lo cual eleva el costo y riesgo del uso de agua residual tratada (de Boer et al., 2022; Liao et al., 2024). Es por ello necesario

el desarrollo de nuevos métodos de desinfección que no generen residuos secundarios tóxicos y económicamente competitivos.

En años recientes se ha demostrado la actividad antibacteriana de diversos nanomateriales, como nanopartículas de plata (AgNPs), oro, dióxido de titanio y cobre. Entre ellos, las AgNPs han destacado por presentar la mayor eficacia antimicrobiana, lo que las hace candidatas prometedoras para el tratamiento de aguas. Sin embargo, pueden resultar tóxicas para organismos acuáticos y plantas, por lo que es fundamental recuperarlas tras la desinfección del agua residual (Anees Ahmad et al., 2020; Vallinayagam et al., 2021).

Las nanopartículas de magnetita (MNPs) por otro lado, poseen la capacidad de ser atraídas por un campo magnético por lo que su unión a las AgNPs puede resultar en un nanocomposito con actividad antibacteriana que sea capaz de recuperarse después de su uso en la desinfección de aguas residuales (Saladino et al., 2021). Dicho esto, el objetivo del presente trabajo es evaluar la actividad antibacteriana de un nanocomposito sintetizado a partir de la unión covalente de AgNPs y MNPs para la reducción de enterococos fecales, *E. coli*, coliformes totales y fecales en agua residual urbana con tratamiento secundario.

2. ANTECEDENTES

2.1 Contaminación del agua por bacterias patógenas

Las aguas residuales provienen de diversas fuentes: domésticas, servicios urbanos, industriales, agrícolas, y de escorrentía pluvial, cada una con características de contaminación distintas, con contaminantes como materia orgánica, compuestos inorgánicos solubles, metales pesados y microorganismos. La composición del agua residual, así como la calidad requerida, determinan el tratamiento que recibe, el cual puede involucrar procedimientos físicos, químicos y biológicos (Naseem & Durrani, 2021). Los contaminantes microbiológicos presentes en el agua residual corresponden principalmente a microorganismos patógenos capaces de causar enfermedades, entre ellos bacterias, virus y protozoarios (Singh, 2021; Some et al., 2021).

El agua residual que recibe tratamiento para eliminar o reducir contaminantes, puede ser utilizada para diversas actividades, dependiendo de sus características físicas, químicas y biológicas. Por ejemplo, para el riego de cultivos y recarga de mantos acuíferos, permitiendo su uso de forma segura (Singh, 2021).

La contaminación por bacterias patógenas es una de las principales limitantes en el uso del agua residual para riego (Adeel et al., 2024) ya que algunas de estas bacterias pueden permanecer en el suelo y la superficie de los cultivos por meses, y transmitirse a personas y animales (Alegbeleye & Sant'Ana, 2023) . Además, la presencia de bacterias patógenas en el agua residual representa un riesgo para la salud humana ya que pueden generar enfermedades como cólera, diarrea, fiebre tifoidea y gastroenteritis como se muestra en el Cuadro 1 (Joseph et al., 2023).

Cuadro 1. Enfermedades bacterianas transmitidas por el agua, agentes causales y síntomas (Some et al., 2021).

Enfermedad	Agente causal	Síntoma
Diarrea con sangre	<i>E. coli</i> enterohemorrágica serotipo O157:H7	Enfermedad gastrointestinal y síndrome urémico hemolítico
Cólera	<i>Vibrio cholerae</i> de serogrupo O1 y O139	Diarrea acuosa y vómito
Diarrea	<i>E. coli</i> enteropatogénica	Enfermedad gastrointestinal
Diarrea	<i>E. coli</i> enteroxigénica	Enfermedad gastrointestinal
Diarrea	<i>E. coli</i> enteroinvasiva	Enfermedad gastrointestinal
Shigelosis	Shigella sp. (<i>S. dysenteriae.</i> , <i>S. flexneri</i> , <i>S. boydii</i> y <i>S. sonnie</i>)	Disentería bacilar
Tifoidea y paratifoidea	<i>Salmonella typhi</i> y <i>Salmonella paratyphi</i> A	Fiebre tifoidea
Diarrea acuosa	<i>E. coli</i> enteroagregativa	Enfermedad gastrointestinal

La presencia de bacterias patógenas se determina usando organismos indicadores como *E. coli*, coliformes fecales y enterococos fecales, por lo general, su presencia es proporcional a la contaminación fecal en el agua (Goshu et al., 2021). Existe un límite de contaminación fecal máximo para el agua residual según su uso, por ejemplo, los límites permitidos de organismos indicadores en la NOM-001-SEMARNAT-2021 en la descarga de agua residual en diferentes cuerpos receptores como se muestra en el Cuadro 2. La detección y cuantificación de los métodos de desinfección de aguas permiten reducir la concentración de bacterias patógenas por debajo de estos límites (Siponen et al., 2024).

Cuadro 2. Límites permitidos de organismos indicadores de contaminación fecal en descarga de aguas residuales en diferentes cuerpos receptores en México según la NOM-001-SEMARNAT-2021.

Cuerpo receptor		<i>E. coli</i> (NMP/100 mL)	Enterococos fecales (NMP/100 mL)
Ríos, arroyos, canales y drenes	P.M.	250	250
	P.D.	500	400
	V.I.	600	500
Embalses, lagos y lagunas	P.M.	250	250
	P.D.	500	400
	V.I.	600	500
Zonas marinas mexicanas	P.M.	250	250
	P.D.	500	400
	V.I.	600	500
Riego de áreas verdes (suelo)	P.M.	250	250
	P.D.	500	400
	V.I.	600	500
Infiltración y otros riegos (suelo)	P.M.	250	250
	P.D.	500	400
	V.I.	600	500
Cárstico (suelo)	P.M.	50	50
	P.D.	100	100
	V.I.	200	200

P.M: Promedio Mensual; P.D: Promedio Diario; V.I: Valor Instantáneo

2.2 Tratamiento terciario de aguas residuales: métodos de desinfección del agua

El tratamiento de aguas residuales convencional consiste en tres etapas, tratamiento primario, secundario y terciario. Estas etapas permiten remover la materia en suspensión, sustancias disueltas y contaminantes específicos del agua residual (Singh, 2021).

Las plantas de tratamiento pueden optar por un pretratamiento que junto al tratamiento primario consiste en cribas, cámaras de arena y tanques de

sedimentación para eliminar flotadores grandes, arena, grava y sólidos suspendidos (Tang & Hadibarata, 2021). El tratamiento secundario elimina materia orgánica biodegradable mediante la acción de bacterias en sistemas de lodos activados, empleando filtro de lecho precolador o empleando biorreactores de membrana (Saravanan et al., 2022).

El tratamiento terciario consiste en un tratamiento diseñado para remover o eliminar contaminantes persistentes. Algunos tratamientos incluyen la cloración, ozonización, radiación UV, filtración con arena, filtración en humedales artificiales y filtración en acuíferos del suelo (Pei et al., 2019; Tang & Hadibarata, 2021). Los tratamientos terciarios son comúnmente usados en la desinfección del agua residual urbana para disminuir la concentración de bacterias patógenas (de Boer et al., 2022).

Los métodos de desinfección de agua residual más utilizados son la cloración, uso de luz ultravioleta (UV), ozonización y membranas (Ge et al., 2019). La cloración es el método más utilizado para la desinfección del agua por su bajo costo y fácil aplicación (Mazhar et al., 2020); sin embargo, la cloración es el método de desinfección con la mayor generación de subproductos como trihalometanos, cloroformo, cloritos, ácidos haloacéticos, ácido cloroacético y demás subproductos (Albolafio et al., 2022). Varios de estos compuestos tienen efectos nocivos para la salud, y están relacionados al padecimiento de algunos cánceres y tumores (Mazhar et al., 2020).

Algunos de los subproductos de la cloración pueden ser eliminados, a lo que se le denomina decloración, por técnicas como intercambio iónico, adsorción y filtración por membranas (Fang & Naidu, 2023). La decloración con dióxido de azufre en gas es la más usada porque no es inflamable y es estable, aunque aumenta el costo del proceso, induce reacciones con el oxígeno y en consecuencia reduce la concentración de oxígeno en el agua (Dutta et al., 2022).

La desinfección con ozono presenta ventajas frente al cloro, ya que oxida compuestos responsables del sabor y olor en el agua y evita la formación de

subproductos como los haloalcanos (de Boer et al., 2022; Morrison et al., 2022). Sin embargo, se ha demostrado que puede generar bromatos, los cuales son genotóxicos (Jahan et al., 2021). El uso del ozono, así como otras tecnologías de oxidación avanzada, produce numerosos productos de transformación oxidativa cuyo impacto ambiental es desconocido, pero que tienen efectos en la salud (Wei et al., 2023).

El uso de luz UV es un método de desinfección de aguas residuales seguro, eficiente y no genera subproductos de desinfección (Albolafio et al., 2022). Además, evita el manejo y almacenamiento de reactivos peligrosos para los operadores (Makuei & Peleato, 2023). Las desventajas de este método son la desinfección ineficiente por la agregación de las bacterias en biopelículas (Vitzilaiou et al., 2021) y la capacidad de los organismos de reparar los efectos de la radiación UV (Pei et al., 2019).

La separación física con membranas semipermeables filtra el agua reteniendo los contaminantes y sólidos suspendidos (Pei et al., 2019). Mediante biorreactores de membrana se remueve la mayor parte de bacterias, aun así, es necesario acoplar un proceso de desinfección. El proceso de tratamiento involucra la microfiltración o ultrafiltración, seguidas de ósmosis inversa y, finalmente la desinfección. No obstante, los tratamientos que incorporan la ósmosis inversa pueden resultar costosos por la alta demanda energética y el manejo de desechos de salmuera (Takman et al., 2023).

La desinfección de agua residual urbana es de suma importancia para asegurar la seguridad biológica de las aguas tratadas. Los métodos de desinfección mencionados para el tratamiento de aguas presentan desventajas económicas, de eficiencia y de seguridad. Es por ello necesario desarrollar nuevos materiales que permitan la desinfección de aguas residuales de forma eficaz, segura, de bajo costo y que no genere subproductos nocivos (de Boer et al., 2022; Makuei & Peleato, 2023; Vitzilaiou et al., 2021).

2.3 Nanopartículas

Las nanopartículas son partículas con un tamaño definido entre 1 y 100 nm (Dhaka et al., 2023; Ramírez Aguirre et al., 2020). La variedad de materiales que componen a las nanopartículas ha generado una amplia diversidad de usos en diferentes campos incluyendo tecnologías de visualización, nanomedicina, mejoramiento de polímeros y sensores, entre otros (Vallinayagam et al., 2021). En particular, las nanopartículas metálicas han destacado por su actividad antibacteriana (Das et al., 2020; Skłodowski et al., 2023) que permiten su aplicación en la desinfección de aguas y el tratamiento de aguas residuales (Dhaka et al., 2023).

Existen dos enfoques principales para la síntesis de nanopartículas, descendente y ascendente (Saravanan et al., 2022). La Figura 1 muestra algunos de los métodos de síntesis de nanopartículas según su enfoque de la síntesis.

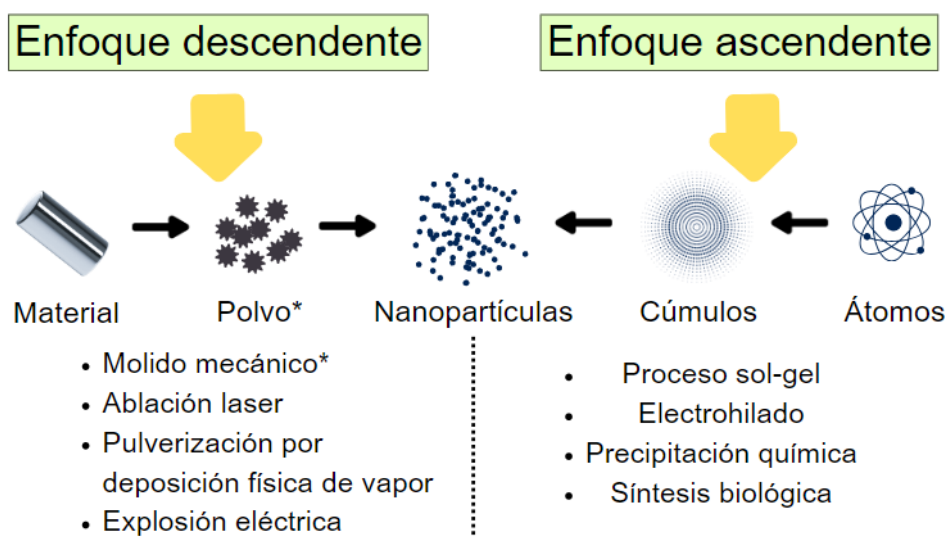


Figura 1. Enfoque descendente y ascendente en la síntesis de nanopartículas. Algunos métodos empleados en cada enfoque se muestran al lado de la línea punteada. El molido mecánico es el único que produce polvo antes de las nanopartículas (Saravanan et al., 2021).

El enfoque descendente usualmente corresponde a métodos físicos que involucran la reducción de un material mediante energía térmica, radiación de alta energía y presión mecánica para crear la estructura y propiedades deseadas (Kumari et al., 2023). Los métodos físicos son relativamente fáciles de realizar y son los más empleados a nivel industrial (Saravanan et al., 2021). Tiene como limitaciones que no se pueden obtener partículas muy pequeñas y utilizan grandes cantidades de energía incrementando su costo (Salih & Mahmood, 2023).

El enfoque ascendente corresponde principalmente a los métodos químicos o biológicos que involucran la agregación de átomos o moléculas mediante enlaces iónicos o covalentes para la formación de nanopartículas. Una desventaja de la síntesis química es que utiliza químicos tóxicos al ambiente y con efectos sobre la salud humana (Abid et al., 2022; Dhaka et al., 2023).

En la producción de nanopartículas destinadas a la remediación ambiental es fundamental evitar impactos secundarios en el entorno. Aunque la síntesis química y física se utilizan ampliamente, estos métodos presentan desventajas asociadas con un elevado consumo energético y la generación de subproductos o residuos químicos que comprometen su sostenibilidad ambiental. La síntesis biológica con un enfoque verde (síntesis verde) se refiere al uso de productos, purificaciones y extractos de plantas o microorganismos para la formación de nanopartículas. En general, estos métodos son económicos, amigables con el medio, y evitan el uso de químicos tóxicos, presiones y temperaturas elevadas y reducen el consumo energético (Saravanan et al., 2021).

2.3.1 Nanopartículas de plata

El efecto bactericida de las nanopartículas es potenciado por su tamaño nanométrico que incrementa su área superficial. Entre las nanopartículas metálicas, la fuerte actividad antibacteriana de las nanopartículas de plata se ha demostrado en múltiples investigaciones (Ahmad et al., 2024; Anees Ahmad et al., 2020; More et al., 2024; Reddy et al., 2021).

Las AgNPs son nanopartículas metálicas que presentan actividad antibacteriana. El efecto bactericida de las AgNPs ha sido ampliamente reportado; sin embargo, aún no se conoce el mecanismo de acción completo (Anees Ahmad et al., 2020). El mecanismo de acción más común es la liberación de Ag^+ que se unen con el enlace tiol (-SH) de compuestos cruciales y los desestabiliza (Dhaka et al., 2023). Otros efectos descritos es que los microorganismos tratados con partículas con plata pierden la capacidad de replicación del ácido desoxirribonucleico (DNA) (Anees Ahmad et al., 2020), presentan daño al DNA, oxidación de lípidos en la membrana, formación de radicales libres, inhibición de la actividad enzimática, etc. Los mecanismos afectan tanto a las bacterias Gram negativas como a las Gram positivas (Rodríguez-Félix et al., 2022) ya que la actividad antibacteriana depende del tiempo de interacción con las membranas bacterianas. La estabilidad de las AgNPs en el medio incrementa el tiempo de interacción con la membrana bacteriana, por lo tanto, es un factor importante para inhibir el crecimiento de las bacterias (Anees Ahmad et al., 2020).

La toxicidad de las nanopartículas está asociada a factores como el tamaño, forma, composición superficial y la concentración. A medida que el tamaño de las AgNPs disminuye, su área de superficie aumenta, lo que mejora su actividad antibacteriana (Nie et al., 2023). En este estudio se priorizó el tamaño de nanopartículas para seleccionar el método de síntesis y así maximizar la actividad antibacteriana.

Las AgNPs pueden obtenerse mediante métodos físicos, químicos o biológicos. La síntesis física tiende a generar nanopartículas con una amplia distribución de tamaños, lo que dificulta su control, mientras que la síntesis química puede generar partículas de tamaño uniforme; sin embargo, emplea reactivos poco amigables con el ambiente. En contraste, la síntesis verde ofrece un mejor control del tamaño de partícula y emplea agentes naturales, por lo que en este trabajo se eligió alternativa adecuada (Fahim et al., 2024).

El uso de infusiones y extractos vegetales permite sintetizar AgNPs por vía verde a partir de precursores de plata de forma económica, estable y reproducible (kazemi

et al., 2023). Los iones de plata son reducidos por diferentes metabolitos de la planta como carbohidratos, terpenoides, ácidos fenólicos, proteínas, entre otros para sintetizar y estabilizar AgNPs (Anees Ahmad et al., 2020; Nie et al., 2023).

El creciente uso de AgNPs en diversos productos, gracias a sus propiedades antiinflamatorias y antimicrobianas, ha disparado su demanda. Este aumento en la producción y aplicación conlleva una mayor liberación de AgNPs en el ambiente, lo que representa un riesgo significativo para los organismos y ecosistemas (Girilal et al., 2018; Nie et al., 2023). Las AgNPs, así como los compuestos derivados de su degradación, pueden llegar a ser contaminantes ambientales (Vallinayagam et al., 2021) y en altas concentraciones son citotóxicas a células humanas (Mariadoss et al., 2023). Por lo que, al hacer uso de las AgNPs en el tratamiento de aguas se tiene que evitar la permanencia de las AgNPs una vez realizada su actividad antibacteriana (Vallinayagam et al., 2021).

La actividad antibacteriana de las AgNPs puede alterar la composición microbiana en ambientes acuáticos. Su exposición prolongada reduce la diversidad microbiana, afectando organismos clave como *Synechococcus*, cuya disminución puede limitar la fotosíntesis y la oxigenación del agua. En cambio, el incremento de bacterias tolerantes como *Flavobacterium* sugiere alteraciones en el metabolismo del carbono y posibles impactos en los ciclos biogeoquímicos del ecosistema (Zou et al., 2020).

Las AgNPs sintetizadas de forma biológica tienen la particularidad de presentar menor toxicidad en animales y plantas en comparación a las sintetizadas de forma química manteniendo su toxicidad en microorganismos (Ramírez Aguirre et al., 2020). La toxicidad de las AgNPs se ha estudiado en plantas de tomate (*Solanum lycopersicum*) dónde se reportó que la mayor toxicidad hacia la planta fue dada por iones de plata, seguido de AgNPs sintetizadas de forma química y, finalmente, AgNPs sintetizadas por vía verde (Girilal et al., 2018).

Un enfoque del uso de las AgNPs en la desinfección de aguas es el realizado por Liu et al., (2021) al unir las AgNPs a un papel filtro de celulosa, eliminando hasta el 99.999 % de *E. coli* y *S. aureus*. Además, la concentración de Ag⁺ liberada fue

menor al límite de plata en agua potable según la Organización Mundial de la Salud (0.1 mg/L). Pero, el uso de filtros presenta desventajas, como la obstrucción del material y, los costos de operación y mantenimiento

Una solución para recuperar las AgNPs y evitar el uso de filtros es el uso de nanomateriales magnéticos. Las nanopartículas magnéticas pueden ser recuperadas de fuentes de agua mediante imantación, facilitando la recuperación y posible reutilización del material (Vallinayagam et al., 2021).

2.3.2 Nanopartículas de magnetita

Las nanopartículas de magnetita (MNPs) están formadas por Fe_3O_4 y pueden ser controladas mediante campos magnéticos (Caciandone et al., 2022). Además, destacan por su biodegradabilidad, estabilidad química y térmica, baja toxicidad a organismos superiores y bajo costo (Niculescu et al., 2022).

Las MNPs poseen propiedades antibacterianas contra bacterias Gram positivas y Gram negativas (Das et al., 2020), por lo que podrían actuar de forma sinérgica junto a otras sustancias, de modo que se podría desarrollar materiales antibacterianos en base a las MNPs (Ioța et al., 2023).

El comportamiento de las MNPs depende en gran medida de su tamaño, morfología cristalina y la composición química de su superficie. MNPs con tamaños menores a 20 nm presentan propiedades superparamagnéticas (Saladino et al., 2021). Esta propiedad superparamagnética significa que las MNPs se magnetizan bajo la influencia de un campo magnético externo, pero no conservan magnetización una vez que dicho campo se retira (Wu et al., 2023). El grosor del recubrimiento o tamaño de la nanopartícula reduce la saturación de magnetización de las MNPs (Arévalo-Cid et al., 2022), por lo que al agregar elementos en su superficie se puede ver afectada su atracción por campos magnéticos.

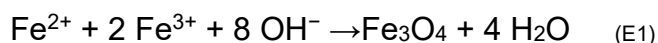
El método de síntesis de las MNPs determinará las dimensiones, estabilidad coloidal y actividad biológica, entre otras propiedades. Existen métodos de síntesis físicos, biológicos y químicos, la elección del método depende de su simplicidad,

reproducibilidad y en las características que se le quiere conferir al nanomaterial (Kumar et al., 2021).

La síntesis física de las MNPs tiene desventajas ya mencionadas como alto costo de las tecnologías requeridas, tiempo y distribución de tamaño de partícula amplio (Samrot et al., 2021). Dentro de la síntesis biológica los principales tipos son la síntesis basada en bacterias magnetotácticas, bacterias reductoras del hierro y la basada en plantas. Si bien existen bacterias magnetotácticas y reductoras de hierro que sintetizan MNPs intra o extracelularmente, el rendimiento de síntesis por los magnetosomas de las bacterias es relativamente pequeño. También, el crecimiento de las bacterias magnetotácticas es complicado en condiciones de laboratorio, costoso y requiere tiempos prolongados (Hossain et al., 2024).

La síntesis mediada por plantas es el método de producción de MNPs más eficiente a corto plazo, en el cual, la funcionalización está dada por los metabolitos secundarios que redujeron y estabilizaron las MNPs (Yew et al., 2020). El uso de moléculas específicas en la funcionalización de la superficie de las MNPs mejora la especificidad en sus aplicaciones (Saladino et al., 2021).

La coprecipitación es un método de síntesis química de MNPs, basado en la precipitación simultánea de sales de hierro férrico y ferroso en una solución acuosa básica (Mohammadi et al., 2021), como se describe en la Ecuación 1 (E1):



Las ventajas de este método son su simplicidad, altos rendimientos, tiempos cortos, fácilmente escalable y que las MNPs se pueden funcionalizar mediante el agente estabilizador que lo recubre (Arévalo-Cid et al., 2022). Por otra parte, este método de síntesis aún tiene inconvenientes como el uso de bases fuertes que pueden provocar daños a la salud. El uso de bases débiles puede evitar el riesgo, pero se obtienen rendimientos bajos de precipitación (Niculescu et al., 2022).

La composición química del recubrimiento de las MNPs puede estar compuesta por diferentes materiales que funcionan como capas protectoras. El origen de los

materiales puede ser sintético, como es el caso del polietilenglicol, ácidos orgánicos -como el ácido cítrico- o polisacáridos naturales, como el dextrano, quitosano o celulosa (Niculescu et al., 2022).

El quitosano es un polisacárido lineal conformado por unidades de N-acetil-D-glucosamina y β -(1-4) D-glucosamina dispuestas de forma aleatoria. Más del 60 % de la glucosamina en el quitosano posee un grupo amino (Pal et al., 2021). Este polímero natural es usado en la funcionalización de las MNPs, como se muestra en la Figura 2, ya que presenta biodegradabilidad, actividad antibacterial y baja toxicidad (Mabrouk et al., 2020). La Figura 2 muestra una representación del quitosano en la funcionalización de las MNPs. Los grupos amino ($-NH_2$) que posee el quitosano hacen posible su modificación química mediante agentes entrecruzantes que le confieren mayor estabilidad y aumentan su resistencia a la degradación bioquímica y microbiana (Shaumbwa et al., 2021).

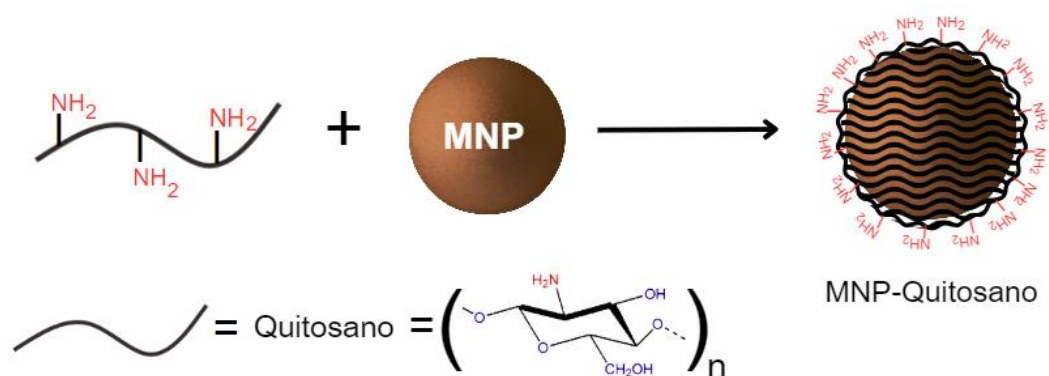


Figura 2. Representación del recubrimiento de quitosano en la superficie de las MNPs. Modificado de Le et al., (2020).

El quitosano tiene aplicaciones en diferentes campos como el biomédico, agrícola, energético y ambiental, entre otros. Particularmente en el área ambiental, el quitosano se ha empleado en el tratamiento de suelos, para favorecer mecanismos de defensa en plantas, encapsulación de comunidades microbianas y tratamiento

de agua residual (Pal et al., 2021). Algunas aplicaciones del quitosano en el tratamiento de aguas residuales son: degradación de colorantes, remoción de metales pesados, herbicidas y pesticidas, entre otros (Issahaku et al., 2023).

2.4 Nanocomposito de plata-magnetita

Los nanocompositos de plata-magnetita se pueden obtener mediante entrecruzamiento o mediante síntesis de las AgNPs directamente sobre las MNP. El entrecruzamiento consiste en la unión de un agente entrecruzante a grupos funcionales específicos de otra molécula mediante un enlace covalente. Algunos de los agentes entrecruzantes usados con el quitosano son el formaldehído, tripolufosfato, glioxal y glutaraldehído (Shaumbwa et al., 2021).

El glutaraldehído es un agente entrecruzante capaz de reaccionar con los grupos amino, por ejemplo, los que posee el quitosano de las MNPs funcionalizadas y los de las AgNPs en las moléculas orgánicas de su recubrimiento para producir nanocompositos plata-magnetita que se pueden emplear en la desinfección de agua (Arévalo-Cid et al., 2022).

El uso de AgNPs y MNPs se ha reportado por (Lazić et al., 2019) usando el grupo amino libre del ácido 5-aminosalicílico, el cual actúa como recubrimiento de las MNP y como agente reductor y estabilizador de las AgNPs. El tamaño del nanocomposito fue de alrededor de 50 nm, el tamaño de las AgNPs fue de 41 nm rodeadas de aglomerados de MNPs de 10 nm, aproximadamente. El nanocomposito logró la inactivación de 3 logaritmos de un cultivo de *E. coli* y *S. aureus* con concentración de 10^5 CFU/mL en 4 h con una concentración de 0.1 y 0.2 g/L. Al estudiar su actividad antibacteriana en ciclos de reuso con 1 g/L del nanocomposito, se demostró una reducción de 3 logaritmos en la concentración de *E. coli* y *S. aureus* después de 5 ciclos de 24 h.

Ge et al., (2019) sintetizaron un nanocomposito $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{AgO}$ mediante una reducción química del AgO sobre las MNPs. El nanocomposito tuvo forma irregular y un

diámetro de alrededor de 40 nm con una saturación magnética de 38.3 emu/g. La actividad antibacteriana de 20 mg/L del nanocomposito después de 25 min en cultivos de *S. aureus* 6.8×10^7 UFC/mL y *E. coli* 6.8×10^7 UFC/mL fue del 99.35 % y 98.7 %, respectivamente. El nanocomposito mantuvo el 99.99 % de su actividad antibacteriana inicial después de 5 ciclos a 5 g/L.

Gharaati et al., (2023) reportaron la síntesis de un nanocomposito de MNPs recubierto de mucílago de semilla de membrillo y AgNPs. El tamaño del nanocomposito fue de 73 nm con saturación magnética de 22.69 emu/g. La actividad antibacteriana del nanocomposito fue evaluada en *E. coli* y *S. typhimurium*, la concentración mínima inhibitoria en ambos casos fue de 0.8 mg/mL del nanocomposito.

El control del tamaño de las MNPs y las AgNPs es importante para favorecer sus propiedades superparamagnéticas y antibacterianas. Las propuestas actuales para el desarrollo de un nanocomposito con AgNPs y MNPs donde las primeras se sintetizan sobre las segundas, tienen un bajo control en la síntesis y resultan en AgNPs de alrededor de 50 nm. La síntesis separada de las MNPs y AgNPs permite mayor control de su tamaño y en consecuencia del nanocomposito (G. Liu et al., 2021; Saladino et al., 2021).

El entrecruzamiento de AgNPs con las MNPs podría mejorar la estabilidad química y mecánica de ambas nanopartículas (Arévalo-Cid et al., 2022). Además, permitiría aprovechar la capacidad magnética de las MNPs para recuperar las AgNPs una vez realicen su actividad antibacteriana.

Dicho lo anterior, un nanocomposito resultante del entrecruzamiento de nanopartículas de plata, sintetizadas por vía verde, y nanopartículas de magnetita, funcionalizadas con quitosano, es un material con gran potencial bactericida para el tratamiento de aguas residuales secundarias.

3. HIPÓTESIS

Las nanopartículas de plata, sintetizadas a partir de una infusión de albahaca, pueden entrecruzarse a nanopartículas de magnetita mediante glutaraldehído, el nanocomposito presentará actividad antibacteriana contra bacterias indicadoras de contaminación fecal y se podrá recuperar mediante un imán.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

Evaluar la actividad antibacteriana de un nanocomposito plata-magnetita para la reducción de enterococos fecales, *Escherichia coli*, coliformes totales y fecales en agua residual urbana posterior al tratamiento secundario.

4.2 Objetivos específicos

- Desarrollar un nanocomposito a partir del entrecruzamiento de nanopartículas de plata y magnetita con glutaraldehído para maximizar su retención de masa por un campo magnético y la concentración de plata.
- Establecer la concentración y el periodo de exposición que maximiza la reducción bacteriana del nanocomposito plata-magnetita contra *Escherichia coli* y *Enterococcus faecalis*.
- Comparar la estructura, composición elemental, morfología y saturación magnética de las nanopartículas de magnetita con el nanocomposito plata-magnetita para confirmar la incorporación de las nanopartículas de plata.
- Determinar la actividad antibacteriana del nanocomposito plata-magnetita sobre la reducción de la concentración de enterococos fecales, coliformes totales, coliformes fecales y *Escherichia coli* en agua residual urbana posterior al tratamiento secundario.

5. METODOLOGÍA

5.1 Material vegetal

La albahaca fresca *Ocimum basilicum* (Lamiaceae) se obtuvo de la empresa FreshQro ubicada en Plomeros 51-A Peñuelas, Querétaro, Querétaro.

5.2 Métodos

5.2.1 Síntesis del nanocomposito plata-magnetita

5.2.1.1 Síntesis verde de nanopartículas de plata

Las nanopartículas de plata (AgNPs) se prepararon usando una infusión de *Ocimum basilicum* (Lamiaceae). La infusión se preparó con 1 g de hoja fresca lavada que se hirvió en 10 mL de agua destilada, durante 2 min, después la infusión se colocó en un baño de hielo. La infusión se filtró con papel con tamaño de poro de 8 μm (Cytiva Whatman) y se ajustó el pH a 12 ± 0.2 usando una solución de NaOH 1M (JT Baker). La infusión de *O. basilicum* y una solución de AgNO_3 (Sigma Aldrich), se esterilizaron a 120°C y 15 psi durante 15 min. Después, a temperatura ambiente, se agregó el AgNO_3 a la infusión en concentración tal que se obtuvo una concentración final 1 mM.

La infusión con el nitrato de plata se agitó a 160 rpm por 24 h protegida de la luz. La absorbancia de la solución se midió en un intervalo de longitudes de onda de 335 – 700 nm en espectrofotómetro HACH DR6000 (Centeno-Chávez et al., 2023; Flores-Suárez et al., 2021). La concentración de la muestra se determinó con una curva de calibración en el intervalo de 2 a 12 mg/L ($R^2 = 0.9886$) que se encuentra en el Anexo 1. Las nanopartículas de plata usadas en la curva de calibración fueron AgNPs comerciales de 10 nm de diámetro, estabilizadas en citrato de sodio con absorbancia máxima a 388 nm (Sigma aldrich).

5.2.1.2 Síntesis de nanopartículas de magnetita recubiertas con quitosano

La síntesis de las nanopartículas de magnetita recubiertas con quitosano (MNPs) se realizó de acuerdo con lo reportado previamente (Sandoval-Cárdenas et al., 2023) sustituyendo el extracto de *Sargassum* spp. por quitosano. Se empleó una concentración de 3.6×10^{-3} mol de hierro de en una proporción molar 2:1 (Fe^{3+} : Fe^{2+}) de cloruro ferroso (Fisher Scientific) y cloruro férrico (Fisher Scientific) con quitosano (Sigma Aldrich, EUA Product Number: 417963 CAS Number: 9012-76-4) al 0.5 % (p/v), cada ingrediente sólido se añadió a una solución de ácido acético al 3 % y se mezcló a 100 rpm a 70 °C hasta su disolución.

La solución hierro-quitosano se dispersó por ultrasonificación al 70 % de amplitud durante 10 min. Después la solución de hierro-quitosano se precipitó añadiendo una solución de NaOH al 20 % (p/v) y etanol al 96 % (v/v) en una relación 1:4, respectivamente. La solución básica-etanólica se mezcló con la solución hierro-quitosano en proporción 1:1. La mezcla alcalina se homogenizó usando un agitador en vórtice durante 30 s y, después se agitó a 60 rpm durante 18 h a temperatura ambiente (23 a 25 °C).

El precipitado se recuperó por centrifugación a 1,600 x g durante 15 min y se lavó con una solución de amortiguador de fosfatos (PBS, fórmula por litro: 8 g NaCl, 0.2 g KCl, 1.45 g Na_2HPO_4 , 0.24 g KH_2PO_4 , JT Baker, EUA) 50 mM a pH 7 hasta neutralización. El sólido neutralizado se recuperó por centrifugación y se lavó con etanol al 96 % (v/v) en relación de volumen 1:1. El sólido recuperado por centrifugación se secó en horno a 80 °C durante 5 h y se pulverizó usando un mortero y pistilo.

Finalmente, el polvo se tamizó utilizando un tamiz con apertura de 180 μm , se lavó 1 g de polvo agitando en vórtice con agua destilada hasta su clarificación, se recuperó con un imán de neodimio de 1.5 T (0.5 mm largo x 1.5 mm de diámetro). La cantidad de nanocomposito retenido se reportó como porcentaje de masa atraída (% p/p) y se calculó con la ecuación 2.

$$\% \frac{p}{p} = \frac{\text{masa de nanocomposito atraída}}{\text{masa total obtenida}} \times 100 \quad (E2)$$

5.2.1.3 Evaluación del efecto de la concentración de AgNPs, MNPs y glutaraldehído en la cantidad de AgNPs y retención de masa del nanocomposito plata-magnetita

Las concentraciones de AgNPs, MNPs y glutaraldehído (Fisher Scientific) para la síntesis del nanocomposito plata-magnetita se determinaron mediante un diseño y análisis factorial 2^3 que se muestra en el Cuadro 5 de la sección 5.3. Las condiciones de síntesis del nanocomposito que resultaron en el mayor porcentaje de masa retenida por un minuto y la mayor cantidad de AgNPs en el nanocomposito se seleccionaron para la producción del nanocomposito para usos posteriores en este proyecto.

El entrecruzamiento se realizó según lo reportado previamente (Sandoval-Cárdenas et al., 2023). Las AgNPs, MNPs y glutaraldehído se agitaron en vórtice 10 s cada 10 min durante 1 h, en amortiguador de acetatos 0.5 M pH 4.5 a temperatura ambiente. Después, el nanocomposito se dejó sedimentar durante 15 min y se recuperó con un imán.

5.2.2 Evaluación del tiempo de contacto y la concentración sobre la actividad antibacteriana

La actividad antibacteriana del nanocomposito se evaluó en cultivos de bacterias Gram negativas y Gram positivas usando *Escherichia coli* y *Enterococcus faecalis* respectivamente. La metodología propuesta por Lazić et al., (2019) se realizó con algunas modificaciones.

El cultivo bacteriano se preparó resembrando los microorganismos en 20 mL de caldo métodos estándar y se incubaron por 14 h a 37 °C. Después, el inóculo se centrifugó a 1735 xg (Hermle Z 300 K) durante 20 min a 4 °C. La pastilla celular se

lavó con solución salina (NaCl al 0.85 %) estéril, se centrifugó nuevamente y se resuspendió en agua residual sintética cuya composición se muestra en el Cuadro 3.

Cuadro 3. Composición de agua residual sintética basada en las directrices de la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OECD, 2001).

Compuesto	Concentración (mg/L)
Peptona	160
Extracto de carne	110
Urea	30
Fosfato de potasio dibásico	28
Cloruro de sodio	7
Cloruro de calcio dihidratado	4
Sulfato de magnesio heptahidratado	2

La suspensión bacteriana se diluyó en matraces de 50 ml para obtener 5 mL con una concentración de 1×10^7 UFC/mL (unidades formadoras de colonias / mL). Después, se agregó el nanocomposito a 10, 5, 2 y 1 g/L y se agitó a 200 rpm durante 40 min.

Una vez terminada la agitación se separó el nanocomposito de la suspensión bacteriana y se tomaron 100 μ L de muestra, tras diluciones seriadas se sembró por extensión una alícuota de 100 μ L en cajas Petri con Agar Métodos Estándar. Las cajas inoculadas se incubaron a 37 °C durante 24 a 36 h y se contaron las UFC. El porcentaje de reducción microbiana se calculó empleando la siguiente Ecuación 3.

$$R = \log_{10}(C_0) - \log_{10}(C) \text{ (E3)}$$

Dónde C_0 es el número de UFC en la muestra control (sin nanocomposito) y C es el número de UFC en el tratamiento con nanocomposito.

5.2.3 Caracterización del nanocomposito plata-magnetita

La caracterización estructural de las nanopartículas obtenidas se realizó mediante difracción de rayos X de polvos (Difractometro Anton Par, XRDynamic 500). La presencia de grupos funcionales asociados al recubrimiento o síntesis se realizó mediante espectros de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR) en el rango de $550 - 4000 \text{ cm}^{-1}$, con parámetros de operación de 40 barridos por análisis y resolución de 16 en el equipo Nicolet iS5, Thermo scientific. La morfología de los productos sintetizados se evaluó mediante microscopía electrónica de transmisión (microscopio JEOL modelo JEM-1010 a 80 kV) y microscopía electrónica de barrido (Hitachi SU8230 de emisión de campo frío (CFE) SEM/STEMJ). La composición elemental fue determinada mediante espectroscopía de rayos X por dispersión de energía (EDS, Bruker XFlash 6160) acoplada al SEM. Para el análisis TEM las AgNPs (diluidas en relación 1:10), las MNPs y el nanocomposito plata magnetita (1 mg/L) y se sonicaron por 15 min, después 10 μL se montaron sobre una rejilla de cobre recubierta con Lacey carbon y Formvar, y se dejó secar a 30°C protegida de la luz. En el caso del SEM-EDS Las AgNPs, MNPs y nanocomposito plata-magnetita (2 mg aproximadamente) se montaron sobre un cilindro/bala de aluminio con cinta de carbono y se usó aire comprimido para eliminar el excedente. Las propiedades magnéticas de las nanopartículas fueron determinadas mediante un magnetómetro de muestra vibrante a 300 K con un campo máximo de $\pm 30 \text{ kOe}$ usando un equipo de medición de propiedades físicas (Physical Property Measurement System, PPMS) DynaCool-9.

5.2.4 Determinación de la actividad antibacteriana del nanocomposito en agua residual urbana con tratamiento secundario

La muestra de agua residual urbana con tratamiento secundario se obtuvo del Centro de Investigación y Desarrollo en Electroquímica Querétaro ubicado en Parque Tecnológico Querétaro SN, 76703 San Fandila, Qro., de acuerdo con la norma mexicana NMX-AA-003-1980 que establece los lineamientos generales y recomendaciones para muestrear las descargas de aguas residuales. Se emplearon

guantes estériles y mascarilla como medidas de seguridad durante el muestreo.

Las muestras fueron recolectadas en recipientes estériles de 5 L. El recipiente fue enjuagado antes de efectuar el muestreo con la ayuda de un recipiente muestreador y se transfirieron 3 L de agua residual con tratamiento secundario. Las muestras fueron trasladadas y mantenidas a 4 ± 2 °C hasta su uso dentro de las 48 h posteriores a su recolección. Antes del uso en pruebas, el agua se mantuvo a temperatura ambiente para ser atemperadas.

El nanocomposito a 10 g/L fue añadido en 20 mL de agua residual con tratamiento secundario, se mantuvo 40 min a 20 rpm en agitación orbital (Maxi mix plus, Thermolyne). El porcentaje de reducción bacteriana se determinó mediante el número más probable de coliformes totales (CT), fecales (CF), *Escherichia coli* y enterococos fecales de acuerdo con la NMX-AA-042-SCFI-2015.

Cada muestra de agua se diluyó en agua peptonada con factor de 10, obteniendo las diluciones 10^{-1} , 10^{-2} y 10^{-3} . Después, cada dilución se inoculó en tubos con caldo lauril sulfato (DIBICO, México) y campanas Durham y se incubaron a 37°C durante 48 h. Transcurridas 48 h se observó la formación de gas y se sembró una muestra de los tubos con presencia de gas en medio de confirmación de coliformes totales y coliformes fecales, caldo lactosa lauril bilis verde brillante y caldo EC (*Escherichia coli*), respectivamente.

Los tubos con caldo lactosa lauril bilis verde brillante (DIBICO, México) se incubaron a 37°C y los tubos con caldo EC (DIBICO, México) se incubaron a 44.5 °C, ambos durante 36 h. La presencia de *E. coli* se confirmó sembrando del caldo EC con presencia de gas en agua peptonada e incubando a 44 °C durante 36 h. Finalizada la incubación se agregó reactivo de kovacs para la prueba de indol y aquellos tubos con formación de un halo rojo fueron reconocidos como positivo para *E. coli*.

La determinación de enterococos fecales en agua urbana con tratamiento secundario se realizó de acuerdo con la NMX-AA-167-SCFI-2017. La muestra de agua se diluyó en agua peptonada en diluciones 10^{-1} , 10^{-2} y 10^{-3} . Después, tres

tubos con caldo azida dextrosa (DIBICO, México) fueron inoculados y se incubaron a $35\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$. Después de 48 h los tubos que presentaron turbidez se consideraron positivos y se confirmaron con subcultivo en cajas de Petri con agar bilis esculina (BEA). Las cajas se incubaron a $35\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 24 h. La confirmación de la presencia de enterococos fecales se confirmó con la presencia de colonias con halos de color café negruzco. Las colonias fueron transferidas a tubo con caldo infusión cerebro corazón con NaCl a 6.5 %, y se incubaron a $35\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante $48\text{ h} \pm 4\text{ h}$.

El número más probable se estimó a partir del número de tubos de cada serie de diluciones que fueron positivos en los medios confirmativos según el Cuadro 4.

Cuadro 4. Valores de NMP por cada 100 mL de muestra y 95 % de límite de confianza (para diversas combinaciones de resultados positivos cuando se utilizan tres diluciones de muestra, 10^{-1} , 10^{-2} y 10^{-3}). Obtenida de la NMX-AA-167-SCFI-2017.

Número de tubos que dieron reacción positiva			NMP por 100 mL	Límite de confianza al 95 %		Número de tubos que dieron reacción positiva			NMP por 100 mL	Límite de confianza al 95 %	
10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}		Inf.	Sup.	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}		Inf.	Sup.
0	0	0	< 3	---	---	3	0	0	23	4	120
0	0	1	3	< 1	3	3	0	1	39	7	130
0	1	0	3	< 1	13	3	0	2	64	15	379
1	0	0	4	< 1	20	3	1	0	43	7	210
1	0	1	7	1	21	3	1	1	75	14	230
1	1	0	7	1	23	3	1	2	120	30	380
1	1	1	11	3	36	3	2	0	93	15	380
1	2	0	11	3	36	3	2	1	150	30	440
2	0	0	9	1	36	3	2	2	210	35	470
2	0	1	14	3	37	3	3	0	240	36	1300
2	1	0	15	3	44	3	3	1	460	71	2400
2	1	1	20	7	89	3	3	2	1100	150	4800
2	2	0	21	4	47	3	3	3	≥ 2400	---	---
2	2	1	28	10	149						

Las concentraciones de antibióticos utilizadas en agar métodos estándar fueron basadas en puntos de corte clínicos establecidos por The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, 2023), dado que se evaluó la presencia y reducción de bacterias resistentes a antibióticos en muestras de agua residual sin identificación previa de los microorganismos presentes.

La detección de bacterias resistentes a amoxicilina (16 µg/mL), claritromicina (4 µg/mL), y ciprofloxacino (2 µg/mL) fueron evaluados mediante conteo de UFC/mL, de diluciones seriadas del agua residual con tratamiento secundario sembrada en agar métodos estándar suplementado con el antibiótico. El antibiótico fue adicionado al agar líquido a 40 °C previo a su disposición en las cajas Petri.

Con el fin de evaluar el efecto del nanocompuesto plata-magnetita en el agua residual, se determinaron diversos parámetros fisicoquímicos antes y después del tratamiento. El peso del nanocompuesto utilizado en cada ensayo se registró en miligramos. La concentración de plata libre en solución se cuantificó en partes por millón (ppm) con tiras reactivas Bori's silver check (SenSafe). Además, los sólidos disueltos totales (SDTs, ppm) fueron medidos con el instrumento A1 portable TDS & EC METER al que se añadió 4 mL a temperatura ambiente, la demanda química de oxígeno (DQO, mg/L) fue determinada con los viales de digestión para DQO (HATCH) de rango alto (20 – 1500 mg/L). Para el análisis, se colocaron 2 mL de muestra de agua residual en un vial y se agitaron por inmersión. Posteriormente, las muestras se calentaron a 150 °C durante 2 h en el equipo HACH DRB200. Después del enfriamiento a temperatura ambiente durante 20 min, se procedió a medir la absorbancia en el espectrofotómetro HACH DR6000. El color verdadero se determinó por espectrofotometría a tres longitudes de onda características (436, 525 y 620 nm). A partir de la absorbancia (A) obtenida en unidades arbitrarias (u.a.), se calculó el coeficiente de absorción espectral (α) mediante la relación $\alpha = 2.303 A/l$, considerando una celda de 1 cm de recorrido óptico. El pH se determinó mediante tiras indicadoras de pH 0 – 14 MQuant®.

5.3 Diseño experimental y análisis de datos.

El efecto de la concentración de AgNPs, MNPs y glutaraldehído se evaluó mediante un diseño factorial 2^3 con tres réplicas y controles negativos como se muestra en el Cuadro 5. Las variables de respuesta fueron la concentración de AgNPs en el nanocomposito y la masa retenida por un imán de neodimio. La cantidad de AgNPs será determinada de forma indirecta al calcular la reducción en la concentración de AgNPs en el medio al atraer el nanocomposito con un imán.

Cuadro 5. Diseño experimental 2^3 . Concentraciones de AgNPs, MNPs y glutaraldehído (Glut) a evaluar con el diseño experimental.

Tratamiento	AgNPs	MNPs	Glut
1, 9 y 17	-1	-1	-1
2, 10, y 18	+1	-1	-1
3, 11 y 19	-1	+1	-1
4, 12 y 20	+1	+1	-1
5, 13 y 21	-1	-1	+1
6, 14 y 22	+1	-1	+1
7, 15 y 23	-1	+1	+1
8, 16 y 24	+1	+1	+1

Las pruebas se realizaron de forma aleatoria por triplicado y los resultados se expresaron como la media $\pm$ desviación estándar.

El análisis de varianza de una vía (ANOVA) se aplicó para evaluar la actividad antibacteriana en función del tiempo de contacto y la concentración del nanocompuesto plata-magnetita en cultivos de *E. coli* y *E. faecalis*. Posteriormente, se realizó una comparación de medias mediante la prueba de Tukey ($p = 0.05$). Los grupos con diferencias significativas se indican con letras distintas, y los resultados se presentan con sus respectivas desviaciones estándar de la media.

Las micrografías obtenidas por TEM fueron analizadas mediante el software ImageJ

para determinar el tamaño y la distribución de las nanopartículas. Al menos 170 partículas fueron medidas en al menos 7 micrografías diferentes con el fin de obtener una representación estadísticamente significativa. A partir de estas mediciones se calcularon los valores promedio, la desviación estándar y el rango de tamaños de partícula. La distribución se representó en forma de histograma y se ajustó a una curva de tipo Gaussiano para describir la dispersión del tamaño. La comparación de tamaños se realizó por ANOVA de una vía y comparación de medias por la prueba de Tukey ($p = 0.05$).

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 Síntesis del nanocomposito plata-magnetita.

6.1.1 Síntesis verde de nanopartículas de plata

Con el fin de obtener un nanocomposito plata-magnetita se sintetizaron nanopartículas de plata (AgNPs) a partir de una infusión de *Ocimum basilicum* de acuerdo con la metodología reportada. La infusión de *O. basilicum* obtenida tuvo un color amarillo como se muestra en la Figura 3 (A), que cambió a café al ajustar el pH a 12 (Figura 3B). El color de la infusión cambio nuevamente a café oscuro al finalizar la agitación durante 24 h a 160 rpm después de la adición de AgNO_3 (Figura 3C).

Qamar et al., (2024) reportaron resultados similares al sintetizar AgNPs con infusión de *O. basilicum* donde la infusión pasó de color café oscuro a un color negro. El cambio de color en la infusión a café oscuro fue considerado como el primer indicador de la presencia de AgNPs en la solución (Dhaka et al., 2023). Este cambio se debe a la resonancia del plasmón de superficie, que confirma la reducción de los iones Ag^+ a Ag^0 en forma de nanopartículas (Abdelkhalek et al., 2022; Deepa et al., 2017). La infusión de *O. basilicum* es rica en compuestos antioxidantes que son responsables de la reducción de la Ag^+ como los fenoles y flavonoides (Qaeed et al., 2023).



Figura 3. Cambio de color de la solución en el proceso de síntesis de las AgNPs. Infusión obtenida de *O. basilicum* (A), ajuste a pH 12 (B), solución al finalizar las 24 h de agitación después de la adición de AgNO_3 (C).

La síntesis de las AgNPs se confirmó por espectroscopia UV-Vis con un barrido de absorbancia de 335 a 600 nm. Los espectros de absorción de los lotes 1 y 2 de AgNPs sintetizadas (Figura 4 de color morado, y 2 de color azul), mostraron una banda de absorción con absorbancia máxima a los 390 y 373 nm que no son visibles en el espectro UV-Vis de la infusión de *O. basilicum* (roja).

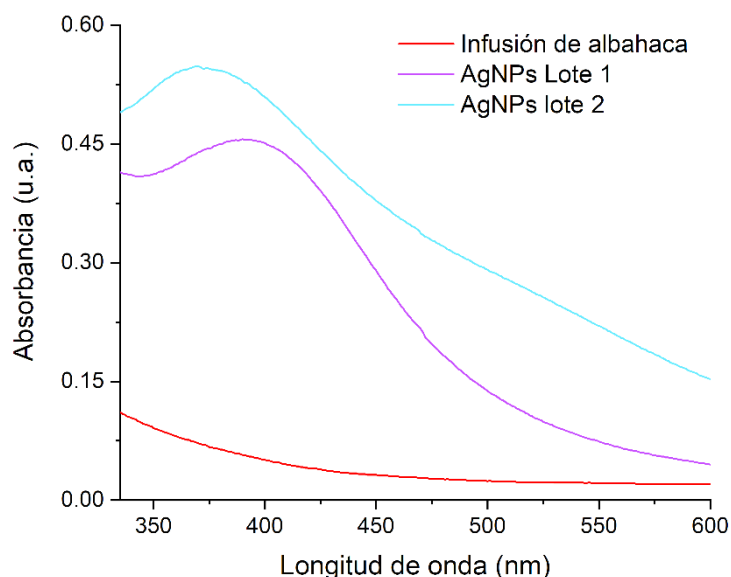


Figura 4. Espectro UV-Vis de las AgNPs sintetizadas. Infusión de *O. basilicum* (rojo) y AgNPs sintetizadas (lote 1, morado y lote 2 azul).

Las AgNPs generalmente presentan una banda de resonancia de plasmón de superficie alrededor de los 350 a 500 nm. Esta banda de resonancia de plasmón de superficie es la vibración combinada de los electrones en la banda de conducción de las AgNPs que está en resonancia con las ondas de luz (Dhaka et al., 2023), por lo que se confirmó la presencia de AgNPs.

La concentración de AgNPs sintetizadas se determinó con una curva de calibración a partir de un estándar de AgNPs de 10 nm de diámetro con absorbancia máxima a

388 nm. La concentración estimada de AgNPs sintetizadas en el primer y segundo lote fueron 137 ± 0.9 y 125 ± 7.0 mg/L, respectivamente.

6.1.2 Síntesis de nanopartículas de magnetita recubiertas con quitosano

Las nanopartículas de magnetita recubiertas con quitosano fueron sintetizadas con el objetivo de obtener un material magnético estable, para su posterior incorporación en el nanocompuesto plata–magnetita. La Figura 5 muestra el cambio de color del material tras el proceso de lavado. El polvo inicial tamizado presentó una tonalidad café rojiza (Figura 5A) y mostró una retención de masa del 100 % al ser atraído por un imán de neodimio. El material lavado adquirió una tonalidad negra (Figura 5B) característica de la magnetita (Eldeeb et al., 2023). La masa recuperada del proceso de lavado fue del 27.3 ± 0.6 % de la masa inicial, lo que sugiere la eliminación de material no magnético que se encontraba adherido a la magnetita. El análisis granulométrico del polvo de magnetita lavado mostró que la mayor parte de las partículas presentaron un tamaño entre 63 y 250 μm , con una retención del 61 %. Las fracciones retenidas en los tamices de 250, 500 y 850 μm representaron porcentajes por debajo de 5 %, lo que indica una distribución dominada por partículas finas.

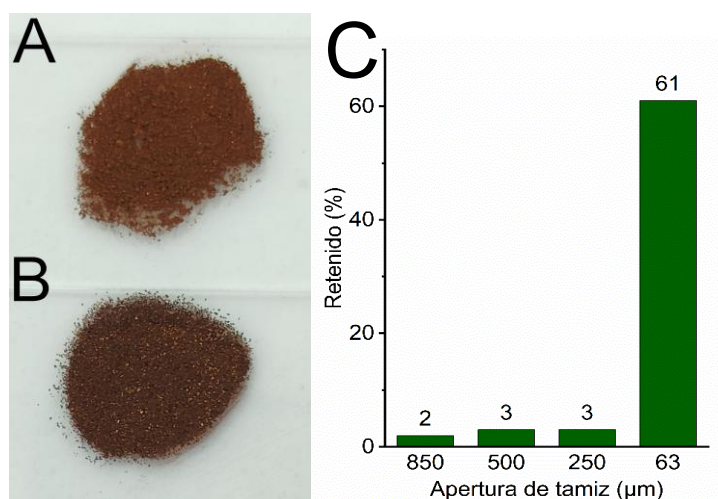


Figura 5. Polvo obtenido tras (A) la síntesis de magnetita (B) después del proceso de lavado y (C) distribución granulométrica del material.

6.1.3 Evaluación del efecto de la concentración de AgNPs, MNPs y glutaraldehído en la cantidad de AgNPs y retención de masa imantada del nanocomposito plata-magnetita

Las concentraciones de AgNPs, MNPs y glutaraldehído se evaluaron en un diseño factorial 2³ con el fin de obtener un nanocomposito con la mayor recuperación de masa y la mayor concentración de AgNPs. El

Cuadro 6 resume la significancia estadística de los factores e interacciones sobre el porcentaje de AgNPs en el nanocomposito plata-magnetita, mientras que la Ecuación 4 representa el modelo ajustado para la variable respuesta correspondiente.

Cuadro 6. Análisis de varianza para el porcentaje de AgNPs en nanocomposito.

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Modelo	7	1132.63	161.804	49.79	0.000
Lineal	3	984.46	328.153	100.97	0.000
AgNPs	1	590.04	590.042	181.55	0.000 ♦
MNPs	1	376.04	376.042	115.71	0.000 ♦
Glut	1	18.37	18.375	5.65	0.030 ♦
Interacciones de 2 términos	3	141.13	47.042	14.47	0.000
AgNPs*MNPs	1	57.04	57.042	17.55	0.001 ♦
AgNPs*Glut	1	7.04	7.042	2.17	0.160
MNPs*Glut	1	77.04	77.042	23.71	0.000 ♦
Interacciones de 3 términos	1	7.04	7.042	2.17	0.160
AgNPs*MNPs*Glut	1	7.04	7.042	2.17	0.160
Error	16	52.00	3.250		
Total	23	1184.63			

♦: Efecto significativo sobre la respuesta, GL: grados de libertad, SC Ajust: Suma de cuadrados ajustada, MC ajust: Media de cuadrados ajustada.

$$\begin{aligned} \text{\% de AgNPs en nanocomposito} &= -14.83 + 428 \text{ AgNPs} + 11.7 \text{ MNPs} + 11.3 \text{ Glut} + 56 \text{ AgNPs*MNPs} + \\ &144 \text{ AgNPs*Glut} - 6.7 \text{ MNPs*Glut} - 1444 \text{ AgNPs*MNPs*Glut} \end{aligned} \quad (\text{E4})$$

Los tres efectos principales con fueron estadísticamente significativos ($p < 0.05$) como se muestra en el análisis de varianza del

Cuadro 6. Indicando la relevancia de las variables seleccionadas en la síntesis del nanocomposito plata-magnetita. Las MNPs y el glutaraldehído contribuyen a la unión de AgNPs como soporte de anclaje y agente entrecruzante, respectivamente. La mayor contribución fue dada por las AgNPs con un coeficiente de 428 (Ecuación 4), lo que señala que el porcentaje de AgNPs es directamente proporcional a la concentración de AgNPs empleadas en el proceso de síntesis.

En cuanto a la interacción entre factores, se observó que las interacciones dobles AgNPs*MNPs (56) y MNPs*Glut (-6.7) fueron significativas. El primer caso sugiere que al aumentar la concentración de MNPs en la síntesis, incrementan los sitios de unión a los que pueden unirse las AgNPs. Por el contrario, el aumento en la concentración de las MNPs respecto al glutaraldehído hay menor porcentaje de AgNPs entrecruzadas posiblemente por la competencia por grupos amino en el quitosano para entrecruzamiento.

El mayor porcentaje de AgNPs ($> 21\%$) en el nanocomposito se obtiene con la mayor concentración de AgNPs (+1), Glut (+1) y la menor concentración de MNPs (-1) como se muestra en la Figura 6.

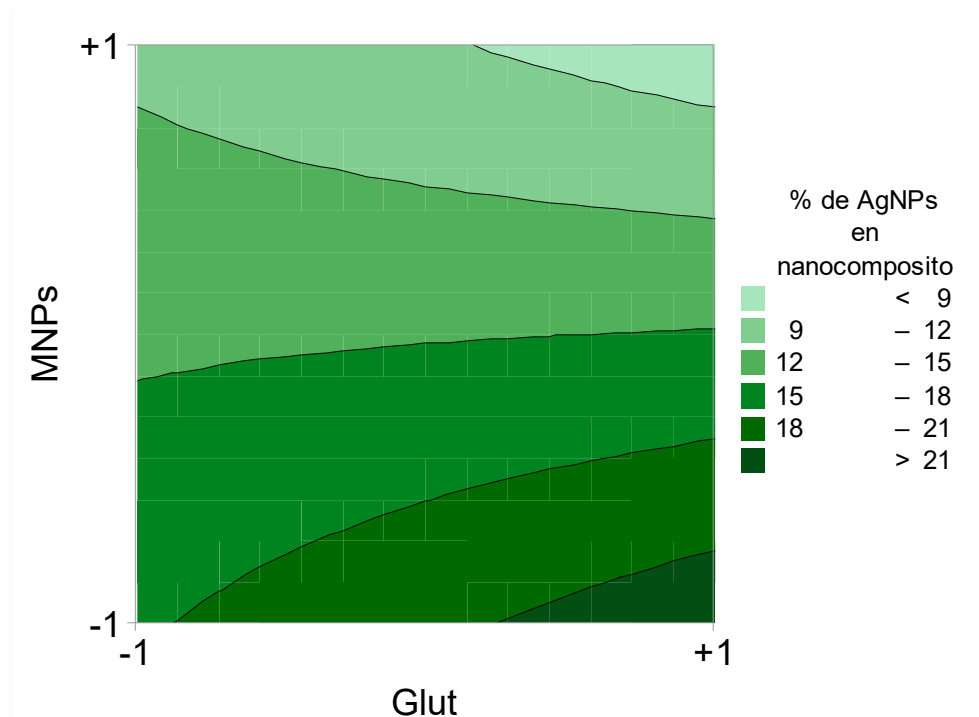


Figura 6. Gráfica de contorno MNP (g/L) contra Glut (%) para el porcentaje de AgNPs en el nanocomposito plata-magnetita con AgNPs +1 como valor fijo.

El Cuadro 7 resume la significancia estadística de los factores e interacciones sobre el porcentaje de masa recuperada del nanocomposito plata-magnetita, mientras que la Ecuación 5 (E5) representa el modelo ajustado para la variable respuesta correspondiente.

Cuadro 7. Análisis de varianza para el porcentaje de masa de plata-magnetita recuperado.

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Modelo	7	8678.6	1239.81	6.52	0.001
Lineal	3	4360.7	1453.57	7.64	0.002
AgNPs	1	863.3	863.25	4.54	0.049 ♦
MNPs	1	3273.0	3272.99	17.20	0.001 ♦
Glut	1	224.5	224.46	1.18	0.294
Interacciones de 2 términos	3	4132.4	1377.47	7.24	0.003
AgNPs*MNPs	1	0.9	0.87	0.00	0.947
AgNPs*Glut	1	893.5	893.50	4.70	0.046 ♦
MNPs*Glut	1	3238.0	3238.05	17.02	0.001 ♦
Interacciones de 3 términos	1	185.5	185.53	0.98	0.338
AgNPs*MNPs*Glut	1	185.5	185.53	0.98	0.338
Error	16	3044.1	190.26		
Total	23	11722.8			

♦: Efecto significativo sobre la respuesta, GL: grados de libertad, SC Ajust: Suma de cuadrados ajustada, MC ajust: Media de cuadrados ajustada.

$$\begin{aligned} \text{\% de} & 309.2 - 2758 \text{ AgNPs} - 721 \text{ MNPs} - 245.1 \text{ Glut} + 5688 \\ \text{recuperación de} & \text{AgNPs*MNPs} + 3110 \text{ AgNPs*Glut} + 798 \text{ MNPs*Glut} - 7414 \\ \text{nanocomposito} = & \text{AgNPs*MNPs*Glut} \end{aligned} \quad (E5)$$

Los efectos principales AgNPs y MNPs para el porcentaje de masa retenida fueron estadísticamente significativos ($p < 0.05$) según el análisis ANOVA del Cuadro 7. Los coeficientes de dichos efectos fueron negativos con valores -2758 y -721 , respectivamente, como se muestra en la Ecuación 5. Este resultado señala que el incremento en la concentración de AgNPs y MNPs disminuye la masa recuperada de nanocomposito plata-magnetita.

El mayor efecto sobre las AgNPs en la recuperación del nanocomposito está dado por las AgNPs, hasta 3.8 veces mayor que el de las MNPs. Al adherir un componente no magnético, la atracción del nanocomposito por el imán es menor. Al aumentar la concentración de MNPs también incrementamos los sitios de unión y favorecemos este fenómeno. De manera similar, el nanocomposito compuesto por magnetita funcionalizada con extracto de *Sargassum* spp. y EDTA, desarrollado por

Sandoval-Cárdenas et al., (2023) mostró menor atracción de masa por un imán tras adicionar el extracto de *Sargassum* y EDTA a la superficie de las MNPs. La reducción fue atribuida a la masa no magnética que proporciona el EDTA al nanocomposito, efecto que también se observó al adsorber mercurio. Yeamsuksawat et al., (2021), reportaron la disminución de 60.06 emu/g a 40.39 emu/g en la saturación magnética de MNPs al recubrirlas con quitosano, que posteriormente fue entrecruzado con glutaraldehído. El incremento en el grosor del recubrimiento resulta en la disminución de la capacidad del nanocomposito de ser atraído por un imán (Arévalo-Cid et al., 2022).

Las interacciones dobles AgNPs × glutaraldehído y MNPs × glutaraldehído mostraron efectos significativos y positivos sobre el porcentaje de masa atraído con un imán. La concentración baja de AgNPs y glutaraldehído reduce la cantidad de AgNPs unida a las MNPs, lo que se traduce como mayor recuperación del nanocomposito. La interacción MNPs x Glut funciona de forma similar. La baja concentración de MNPs y glutaraldehído, reduce sitios de unión y reacción entrecruzante, limitando la unión de AgNPs y favoreciendo la recuperación del nanocomposito.

El mayor porcentaje de masa atraída se obtiene con la menor concentración de las tres variables AgNPs (-1), MNPs (-1) y glutaraldehído (-1) como se muestra en la gráfica de contorno de la Figura 7.

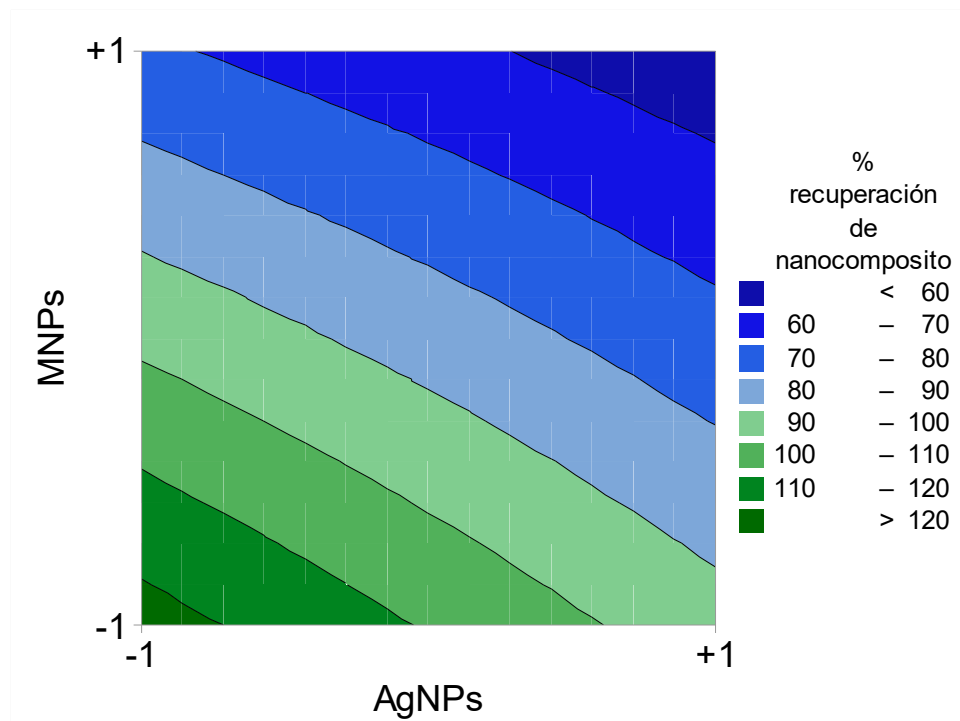


Figura 7. Gráfica de contorno MNPs (g/L) contra AgNPs (g/L) para el porcentaje de recuperación del nanocomposito plata-magnetita con un imán de neodimio 1.5 T, el valor fijo usado fue Glut -1.

El modelo de predicción para el efecto de la concentración de AgNPs, MNPs y glutaraldehído sobre el porcentaje de AgNPs en el nanocomposito y el porcentaje de masa atraída por un imán, se ajustaron a una ecuación polinomial de primer grado con una R^2 de 96 y 74 %, respectivamente.

Las condiciones optimizadas para mantener la mayor cantidad de nanocomposito se establecieron dando una importancia de 10 al porcentaje de masa atraída por un imán y de 1 al porcentaje de AgNPs en el nanocomposito, con el objetivo de reducir al máximo la liberación de AgNPs y iones de plata en el agua a tratar. Los valores correspondientes fueron los siguientes: AgNPs (-1), MNPs (-1) y glutaraldehído (-0.99). El nanocomposito resultante de estas condiciones experimentales, en las que se prioriza la recuperación del material, fueron las seleccionadas para evaluar su actividad antibacteriana.

6.2 Evaluación del tiempo de contacto y la concentración del nanocomposito sobre la actividad antibacteriana

El nanocompuesto seleccionado, que presentaba la mayor retención de masa mediante un imán, fue evaluado para determinar el tiempo mínimo necesario para reducir la mayor cantidad de bacterias. La evaluación de la actividad antibacteriana de dicho nanocomposito se realizó mediante retos microbianos agitando a 200 rpm en agua residual sintética a una concentración de 1 g/L en diferentes tiempos (40, 60 y 80 min) con *E. coli* y *E. faecalis*. La concentración inicial se ajustó a 0.5 unidades de la escala de McFarland que correspondieron a $2 \times 10^8 \pm 8.7 \times 10^7$ UFC/mL de *E. faecalis* y $6.47 \times 10^6 \pm 2.63 \times 10^6$ UFC/mL de *E. coli*. Los resultados obtenidos se muestran en la Figura 8.

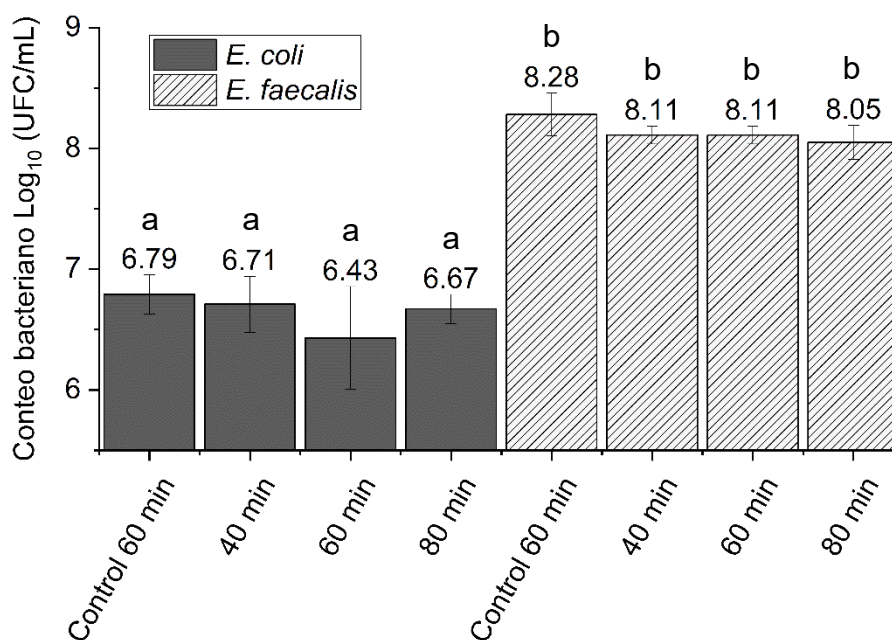


Figura 8. Ensayo de reto microbiano del nanocomposito plata-magnetita a diferentes tiempos contra *E. faecalis* y *E. coli*. El grupo control es la cepa respectiva sin contacto con el nanocomposito. Las barras con diferente letra indican diferencia significativa entre tratamientos (prueba HSD de Tukey, $p < 0.05$)

No se encontró diferencia significativa entre los tratamientos y el grupo control sin nanocomposito. De estos resultados se estableció el tiempo de contacto a 40 min al no encontrarse diferencia significativa con los otros tiempos evaluados. Así mismo para asegurar la actividad antibacteriana se establecieron las condiciones de síntesis de nanocompositos en base al porcentaje de plata del nanocomposito plata-magnetita y se evaluó el doble de la concentración del nanocomposito (2 g/L).

La Figura 9 muestra los nanocompositos seleccionados para la evaluación. El nanocomposito A, señalado con un círculo verde, corresponde al nanocomposito previamente seleccionado por presentar la mayor retención de masa con un imán. El nanocomposito B fue seleccionado porque presentó la mayor concentración de AgNPs reportada, 23.1 ± 2.5 %. El nanocompositos C fue seleccionado dando un nivel de importancia 1:1 a ambas variables de respuesta y al demostrar actividad antibacteriana significativa en pruebas preliminares a pesar de tener un porcentaje de plata apenas por encima del nanocomposito A con valores de 7.4 ± 0.4 (C) y 4.9 ± 0.5 % (A), respectivamente.

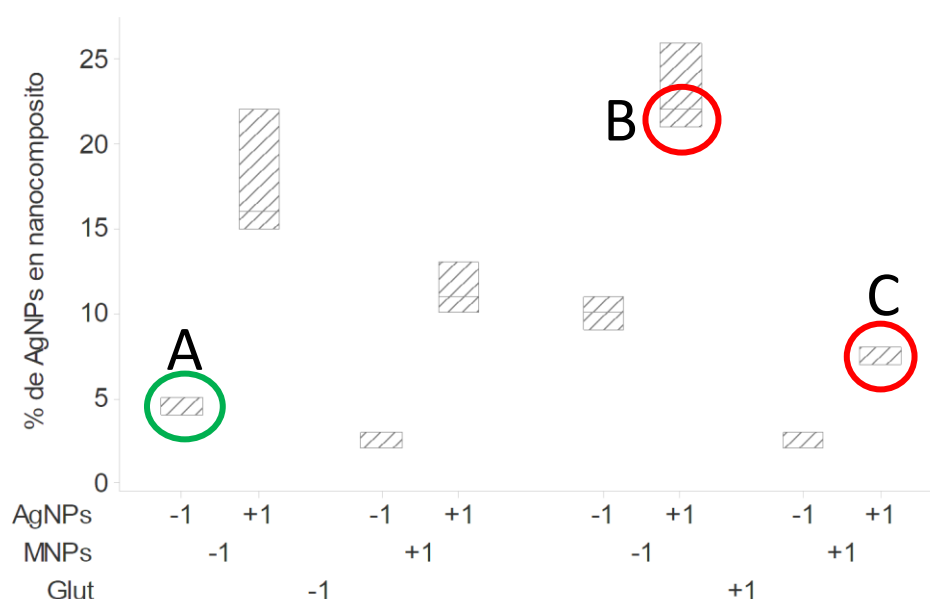


Figura 9. Grafica de caja del % de AgNPs en el nanocomposito plata-magnetita en los diferentes tratamientos según el diseño factorial 2^3 .

Los resultados del ensayo de reto microbiano de los nanocompositos B y C se muestran en la Figura 10. Dicho ensayo se realizó contra *E. faecalis*, debido a que mostró una mayor resistencia en ensayos preliminares realizados con el nanocomposito C. Los nanocompositos mostraron reducción bacteriana significativa respecto al control sin nanocomposito (*E. faecalis*), pero no hubo diferencia significativa entre ambos tratamientos, por lo que se estableció la síntesis del nanocomposito C ya que se obtuvo aproximadamente 3 veces más material. El aumento en la concentración de AgNPs en el nanocomposito no promovió su actividad antibacteriana. Este resultado se puede explicar con lo demostrado por Šuljagić et al., (2022) quienes resaltaron que una distribución uniforme de la plata en una matriz de óxido de hierro influye más en la actividad antimicrobiana que la cantidad total de plata presente.

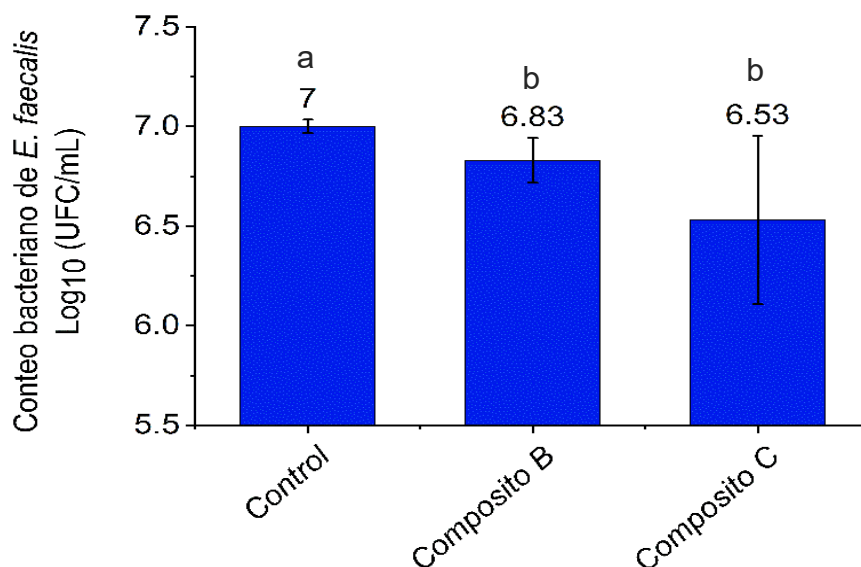


Figura 10. Ensayo de reto microbiano con *E. faecalis* después de 40 min evaluando los nanocompositos B y C a 2 g/L. El grupo control es *E. faecalis* sin contacto con el nanocomposito. Las barras con diferente letra indican diferencia significativa entre tratamientos (prueba HSD de Tukey, $p < 0.05$).

La concentración inicial de inóculo para los ensayos de reto microbiano fue de $1.21 \times 10^7 \pm 8.5 \times 10^6$ UFC/mL de *E. coli* y de 1×10^7 UFC/mL para *E. faecalis*. La concentración del nanocomposito C necesaria para eliminar la mayor cantidad de bacterias en 40 min se determinó con tres diferentes concentraciones (2, 5 y 10 g/L) contra *E. coli* y *E. faecalis*. Además, se evaluó la actividad antibacteriana de las MNPs en estas concentraciones y de las AgNPs a 0.1 g/L equivalente a las AgNPs estimadas en 2 g/L de nanocomposito. No se incluyeron controles con AgNPs equivalentes a las concentraciones de 5 y 10 g/L de nanocomposito, debido a que estas exceden la concentración madre disponible de AgNPs.

La evaluación del nanocomposito, MNPs y AgNPs contra *E. coli* se muestra en la Figura 11. La concentración de 10 g/L de nanocomposito logró la mayor reducción bacteriana, de $6.44 \log_{10}$ equivalente a una reducción del 99.99996 %. Mientras que, 5 y 2 g/L lograron reducir en 4.64 y $4.08 \log_{10}$ equivalentes a reducciones de, 99.998 y 99.99 %, sin diferencia significativa entre ambos tratamientos. La concentración de *E. coli* disminuyó al aumentar la concentración del nanocomposito, aunque la reducción bacteriana mostró una relación no lineal con la concentración del nanocomposito.

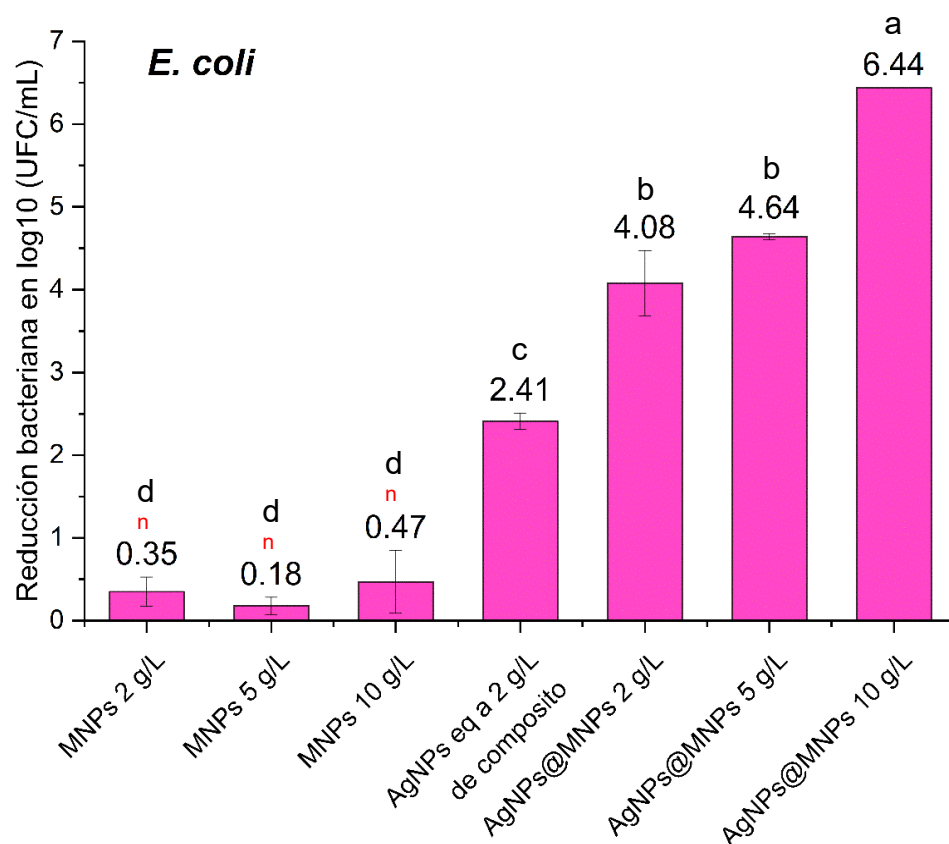


Figura 11. Reducción logarítmica (log₁₀ UFC/mL) de *E. coli* después de 40 min de contacto con MNPs, AgNPs y nanocomposito plata-magnetita a diferentes concentraciones. Los datos representan la media $\pm$ desviación estándar de tres réplicas independientes. Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes. ns: la diferencia respecto al conteo del cultivo control no fue significativa.

El nanocomposito a 2 g/L mostró 1.7 veces mayor reducción bacteriana respecto a su equivalente en AgNPs (0.1 g/L). No se observó actividad antibacteriana significativa de las MNPs frente a *E. coli* en las concentraciones evaluadas, 2, 5 y 10 g/L.

La evaluación del nanocomposito, MNPs y AgNPs en *E. faecalis* se muestra en la Figura 12. La actividad antibacteriana del nanocomposito frente a *E. faecalis*, fue

evaluada a concentraciones de 2, 5 y 10 g/L, obteniéndose reducciones de 0.47, 0.76 y 0.95 $\log_{10}$, respectivamente. Los tratamientos no presentaron diferencia significativa entre sí, ni respecto a las AgNPs (1.09 $\log_{10}$ de reducción). Por otro lado, la concentración de 2 g/L de nanocomposito plata-magnetita no presentó diferencia significativa con respecto al control negativo (sin nanopartículas), lo que sugiere una eficacia limitada contra *E. faecalis* a bajas concentraciones.

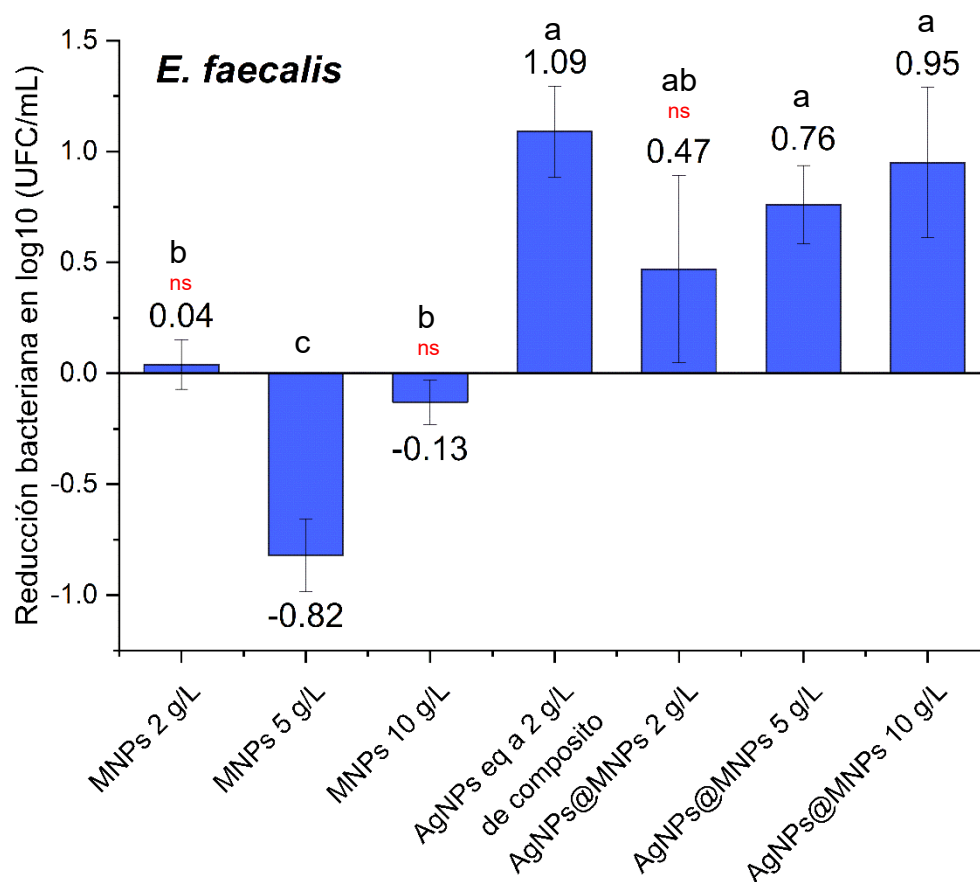


Figura 12. Reducción logarítmica ($\log_{10}$ UFC/mL) de *E. faecalis* después del tratamiento con MNPs, AgNPs y nanocomposito plata-magnetita a diferentes concentraciones. Los datos representan la media $\pm$ desviación estándar de al menos tres réplicas independientes. Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes. ns: la diferencia respecto al conteo del cultivo control no fue significativa.

Los resultados obtenidos mostraron una mayor eficacia antibacteriana del nanocomposito frente a *E. coli* que contra *E. faecalis*. Este comportamiento puede estar influenciado por múltiples factores estructurales y fisiológicos propios de cada cepa, así como por el mecanismo dominante de acción de las AgNPs en el nanocomposito (Bruna et al., 2021; Rodrigues et al., 2024).

Las AgNPs se encuentran unidas de forma covalente a agregados de magnetita que no pueden penetrar al interior de las células bacterianas y tampoco se espera su separación del nanocomposito como AgNPs libres. Por lo tanto, se infiere que el mecanismo de acción bactericida del nanocomposito plata-magnetita se basa principalmente en la liberación de iones Ag^+ desde las AgNPs inmovilizadas, así como en su interacción superficial con la membrana bacteriana.

Las AgNPs con tamaños ≤ 10 nm presentan una mayor tasa de liberación de Ag^+ debido a su elevada relación superficie-volumen que facilita su oxidación y disolución, a su vez favoreciendo la actividad antimicrobiana (Casals et al., 2025; Platania et al., 2022). Las AgNPs sintetizadas presentaron un tamaño promedio de 10.7 nm (Figura 15), dentro de este rango crítico, lo que sugiere una liberación eficiente de iones de plata desde el nanocomposito.

La bacteria *E. coli* presenta una mayor carga negativa en su membrana debido a la presencia de lipopolisacáridos, grupos fosfato y pirofosfato, lo que favorece la atracción electrostática con especies cargadas positivamente, como los iones Ag^+ liberados por las AgNPs o los grupos amino protonados del quitosano en las MNPs, facilitando así su interacción con la membrana bacteriana y potenciando el efecto antimicrobiano (Skłodowski et al., 2023; Yeamsuksawat et al., 2021).

Bajo el pH neutro del agua residual sintética los grupos amino del quitosano en el nanocomposito se encuentran mayormente desprotonados lo que limita su capacidad bactericida (Yilmaz Atay, 2020). Tal como se observó en los resultados, no se registró una reducción significativa por parte de las MNPs en comparación con el control negativo. En este contexto, la función del recubrimiento de quitosano en las MNPs podría restringirse a facilitar la interacción inicial con la superficie

celular (Yeamsuksawat et al., 2021).

La sinergia mostrada por la magnetita y las AgNPs en forma de nanocomposito podría estar relacionada con la capacidad de los grupos amino en el recubrimiento de las MNPs para interactuar con *E. coli* y facilitar la liberación de iones Ag^+ directamente sobre la membrana.

La mayor actividad del nanocompuesto plata-magnetita podría estar relacionada con la capacidad de los grupos amino en el recubrimiento de las MNPs para interactuar con *E. coli* y facilitar la liberación de iones Ag^+ directamente sobre la membrana. De esta forma evitando la unión de los iones Ag^+ con ligandos inorgánicos del medio, como cloruros o sulfuros, y con compuestos orgánicos presentes en la materia orgánica disuelta, que reducen su efectividad antibacteriana (Kędziora et al., 2018; Smith et al., 2021).

En contraste, *E. faecalis* presenta una pared celular rica en peptidoglicano, menor permeabilidad y una carga superficial menos negativa, lo que reduce la interacción del nanocomposito plata-magnetita y de los iones Ag^+ (Lv et al., 2023; Platania et al., 2022; Wu et al., 2021).

Los resultados presentados en este trabajo resultados concuerdan con lo reportado por (Lv et al., 2023), quienes señalaron que la desintegración de la membrana en *E. faecalis* permite la entrada de iones Ag^+ y es clave para su acumulación intracelular. Por tanto, aunque las AgNPs inmovilizadas pueden liberar iones de plata activos, la efectividad de este mecanismo frente a *E. faecalis* podría verse limitada por la baja penetración y acumulación de los iones de Ag^+ . En cambio, *E. coli*, al no poseer barreras tan robustas, muestra una respuesta más sensible incluso frente a la menor concentración evaluada de nanocomposito.

La adición de plata a los nanocompositos de magnetita se ha reportado como un factor clave para potenciar su actividad antimicrobiana. En el estudio de Dabagh et al., (2023), la incorporación de Ag en un nanocomposito conformado por plata, sílice (SiO_2), y MNPs (Fe_3O_4) permitió disminuir significativamente la concentración

mínima bactericida en comparación con los materiales sin plata (Fe_3O_4 y $\text{SiO}_2@\text{Fe}_3\text{O}_4$). Mientras que estos últimos requerían concentraciones superiores a 1 g/L para inhibir el crecimiento bacteriano, el nanocomposito con plata alcanzó valores de 0.2 g/L frente a *S. aureus* y 0.3 g/L contra *E. coli*, lo que confirma el efecto determinante de la plata en la acción bactericida. El mecanismo propuesto incluye la liberación de iones Ag^+ , capaces de interactuar con enzimas y proteínas esenciales, así como la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS), que provocan desestabilización de la membrana, pérdida de control osmótico y daño a proteínas y material genético.

En contraste con los resultados obtenidos en esta investigación, el nanocomposito $\text{Ag}@\text{SiO}_2@\text{Fe}_3\text{O}_4$ mostró una mayor eficacia contra *S. aureus* (Gram positivas) que frente a *E. coli* (Gram negativa). Esta diferencia se la atribuyeron a la diferencia en la sensibilidad bacteriana entre Gram positivas y Gram negativas, al considerar que las bacterias Gram negativas presentan una mayor resistencia debido a su envoltura celular más compleja (doble membrana y espacio periplásmico).

Distintos nanocompositos han mostrado un comportamiento diferenciado que sugiere que la respuesta no es uniforme dentro de esta clasificación (Q. Fang et al., 2020; Lazić et al., 2019; Sandupatla et al., 2021; Yeamsuksawat et al., 2021; Yildiz et al., 2020). En el caso particular del estudio de Dabagh et al., (2023), factores como el tamaño del nanocomposito (~ 90 nm) y su carga superficial negativa (potencial Z de - 34 mV) pudieron favorecer una mayor adhesión a la superficie de *S. aureus*, aumentando su sensibilidad al tratamiento.

Considerando que la eficacia antibacteriana del nanocomposito está estrechamente relacionada con sus propiedades fisicoquímicas, se realizó la caracterización estructural, morfológica, elemental y superficial.

6.3 Caracterización del nanocomposito plata-magnetita

6.3.1 Análisis estructural por difracción de rayos X

La estructura cristalina de las MNPs y del nanocomposito plata-magnetita fue identificada mediante análisis de difracción de rayos X (XRD), asignando los picos observados a las fases correspondientes de magnetita (Fe_3O_4) y plata metálica. En la Figura 13 se presentan los patrones de difracción obtenidos, donde se confirma la incorporación de ambas fases en el nanocomposito.

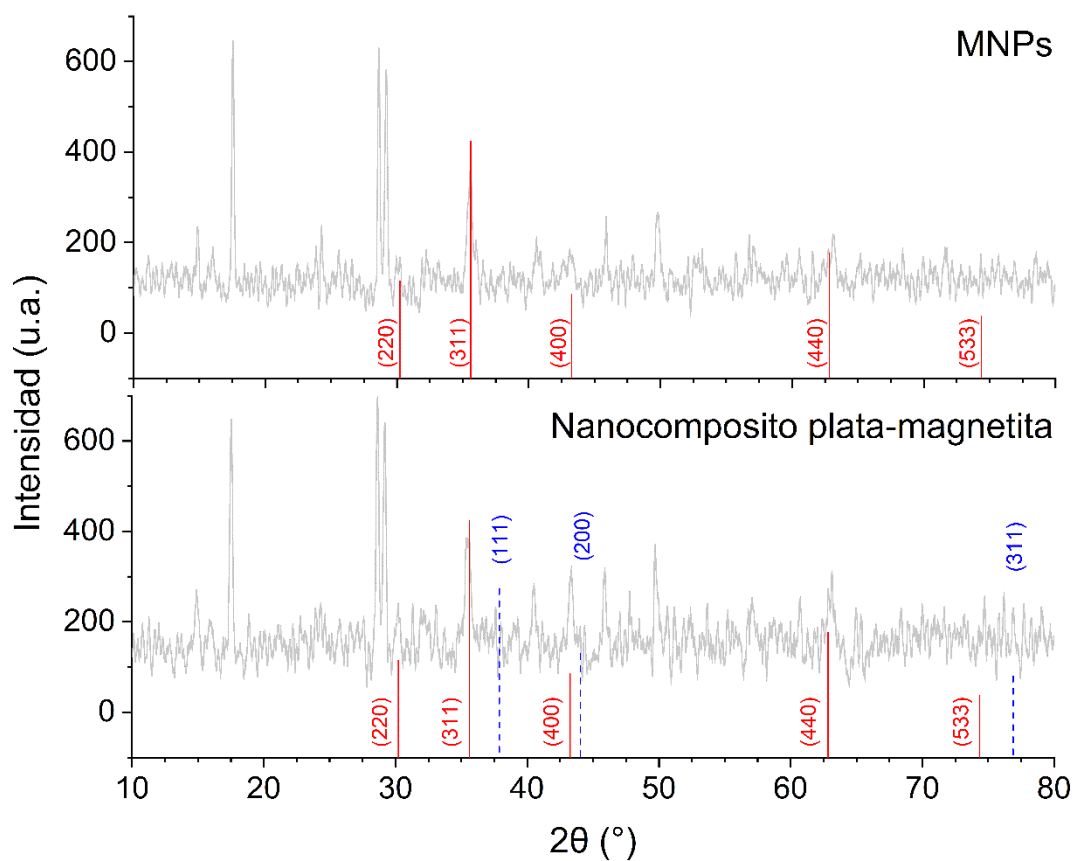


Figura 13. Patrones de difracción de MNPs y del nanocomposito plata-magnetita.

Planos cristalinos correspondientes a las MNPs se muestran en rojo con línea sólida y los de la plata se muestran en color azul con línea punteada.

En el patrón de XRD de la magnetita, los picos de mayor fiabilidad en la asignación de fase fueron $2\theta = 30.24^\circ$, 35.59° y 74.34° , correspondientes a los planos cristalográficos (220), (311) y (533), respectivamente (color rojo, línea sólida). También se identificaron señales de menor intensidad en $2\theta = 43.13^\circ$ y 62.76° , asociadas a los planos (400) y (440). Para el nanocomposito, los picos de mayor fiabilidad de la magnetita se observaron en $2\theta = 30.3^\circ$, 35.61° , 53.67° y 62.85° , asignados a los planos (220), (311), (422) y (440); las señales de menor coincidencia con el patrón de referencia fueron $2\theta = 37.32$, 43.19 , 57.17 , 74.28 y 79.28° , están asociadas a los planos (222), (400), (511), (533) y (444), respectivamente. Estos resultados concuerdan con la carta PDF No. 00-023-0616, correspondiente a la estructura cúbica de espinela inversa de la magnetita. El difractograma obtenido para las MNPs mostró los planos cristalográficos característicos de la fase Fe_3O_4 , aunque con picos poco definidos y un nivel considerable de fondo difuso, lo que indica una cristalinidad deficiente (Sandupatla et al., 2021).

Los resultados obtenidos confirmaron que la estructura cristalina de la magnetita se conservó tras la incorporación de AgNPs en el nanocomposito. La coincidencia de los picos más intensos con los planos característicos de la magnetita (220), (311), (400) y (440) indica que la fase espinela inversa cúbica de Fe_3O_4 no se alteró durante el proceso de funcionalización demostrando que el entrecruzamiento con las AgNPs no afecta su estabilidad estructural (Dabagh et al., 2023).

En el patrón de difracción del nanocomposito se identificaron picos correspondientes a las AgNPs en $2\theta = 38.01^\circ$, 44.01° y 76.9° , correspondientes a los planos (111), (200) y (311), de una estructura cúbica centrada en las caras (fcc), de acuerdo con el archivo PDF No. 00-901-3046; Sin embargo, estos picos presentaron baja intensidad y definición, lo cual se atribuye a la baja concentración de plata en el nanocomposito (porcentaje atómico de 0.22 %), lo que limita la contribución relativa de esta fase a la señal del difractograma (Taufiq et al., 2020).

En conjunto, los resultados indican que el método de síntesis empleado permitió

obtener un nanocomposito bifásico, donde la fase magnética se mantiene estable y la presencia de plata, aunque baja, queda evidenciada por sus picos característicos en el difractograma.

6.3.2 Análisis de grupos funcionales por espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier

El análisis mediante espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) se realizó para identificar los grupos funcionales presentes en las AgNPs, las MNPs y el nanocomposito plata-magnetita, así como para evidenciar la reacción de entrecruzamiento entre los grupos amino del quitosano en las MNPs y los compuestos orgánicos del extracto de *O. basilicum* en las AgNPs. La Figura 14 muestra el espectro FTIR de las MNPs, AgNPs y nanocomposito plata-magnetita.

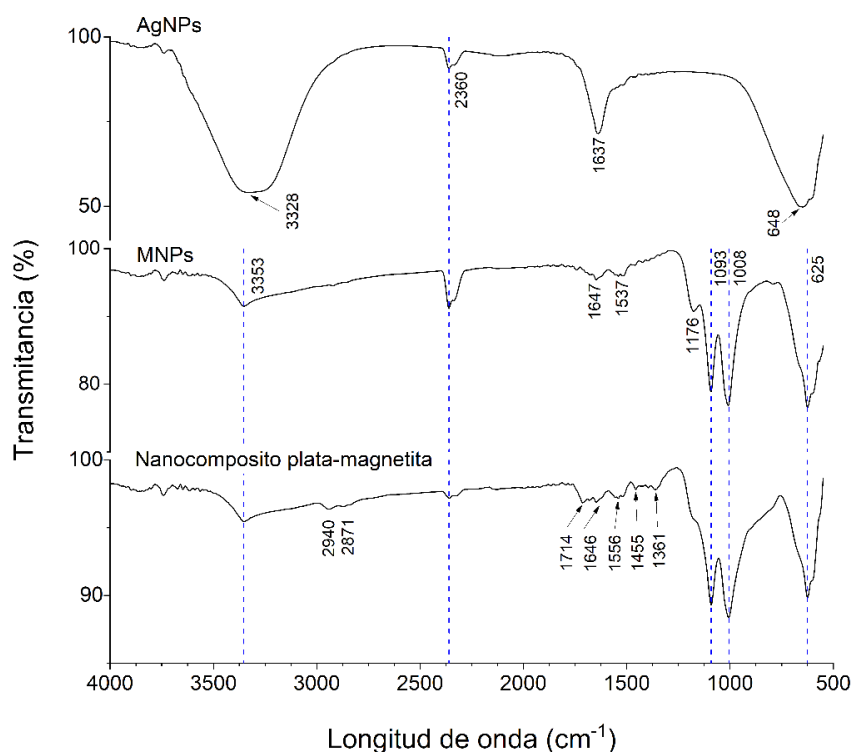


Figura 14. Espectro FTIR de las AgNPs, MNPs y del nanocomposito plata-magnetita.

En las AgNPs se identificó una banda en 3328 cm^{-1} , atribuida al estiramiento O-H/N-H de grupos hidroxilo y amino, lo que indica la presencia de alcoholes y fenoles. La banda en 2360 cm^{-1} se relacionó con la absorción residual de CO_2 . La banda en 1637 cm^{-1} corresponde al estiramiento C=O o N-H asociado a compuestos fenólicos y/o proteicos (amida I), mientras que la señal en 648 cm^{-1} se asignó a vibraciones fuera del plano C-H de compuestos aromáticos (Pirtarighat et al., 2019; Qamar et al., 2024).

En las MNPs recubiertas con quitosano se observó una banda en 3353 cm^{-1} , correspondiente al estiramiento de O-H y N-H del quitosano. Las señales en 1647 cm^{-1} y 1536 cm^{-1} se asignaron a las vibraciones de flexión del grupo amino. Las bandas en 1176 y 1093 cm^{-1} se atribuyeron al estiramiento C–O–C de polisacáridos (García et al., 2024; Pham et al., 2016), mientras que la banda en 1008 cm^{-1} se relacionó con el efecto combinado del estiramiento C-O y C-N en polisacáridos y aminas primarias. Finalmente, la señal en 625 cm^{-1} se asignó a la vibración de estiramiento Fe–O, característica en la magnetita (Liu et al., 2023; Pham et al., 2016; Taheri et al., 2025).

En el nanocomposito plata-magnetita se conservaron bandas propias de la magnetita, como las de en 3353 cm^{-1} (O–H/N–H), 1091 y 1006 cm^{-1} (C–O–C y C–O), y 1646 cm^{-1} (Amida I) y la banda en 625 cm^{-1} (Fe–O). Además, aparecieron nuevas señales en 2940 y 2871 cm^{-1} , correspondientes a estiramientos C–H alifáticos del glutaraldehído (CH y CH_2); en 1714 cm^{-1} , asociada a C=O de carbonilos; en 1556 cm^{-1} , atribuida a la flexión en tijera de N-H de aminas primarias entrecruzadas; y en 1455 y 1361 cm^{-1} , asignadas a vibraciones C–O y C–N de grupos alcohol y amino del quitosano, respectivamente (Galan et al., 2021; Li et al., 2023; Pham et al., 2016; Taheri et al., 2025). Las nuevas bandas observadas en el nanocomposito plata-magnetita confirman la incorporación del glutaraldehído y la formación de enlaces por entrecruzamiento. De forma similar, el ensanchamiento de las bandas en la región $1000\text{--}1100\text{ cm}^{-1}$ evidenciaron la contribución de los

grupos C–O–C del quitosano (Galan et al., 2021; Taheri et al., 2025).

6.3.2.1 Análisis de la morfología y tamaño de partícula por microscopía electrónica de transmisión

Las micrografías TEM permitieron caracterizar la morfología y el tamaño de las AgNPs, las MNPs y el nanocomposito plata-magnetita. En la Figura 15 (A–D), correspondiente a las AgNPs, se observó una morfología predominantemente esferoidal en ambos lotes sintetizados. En el lote 1 (AgNPs L1), la mediana fue de 10.9 nm (rango intercualitativo: 3.9 nm), con una media de 11.3 nm influenciada por una fracción de partículas grandes ($\sim 12\% > 17\text{ nm}$). En contraste, el lote 2 (AgNPs L2) presentó una mediana de 3.6 nm (rango intercualitativo: 1.9 nm), media de 6.3 nm y una fracción menor de partículas grandes ($\sim 9\% > 17\text{ nm}$). Estos resultados evidencian la reproducibilidad de la síntesis para obtener nanopartícula de menos de 30 nm, aunque con diferencias significativas en el tamaño característico de cada lote como se muestra en el Cuadro 8.

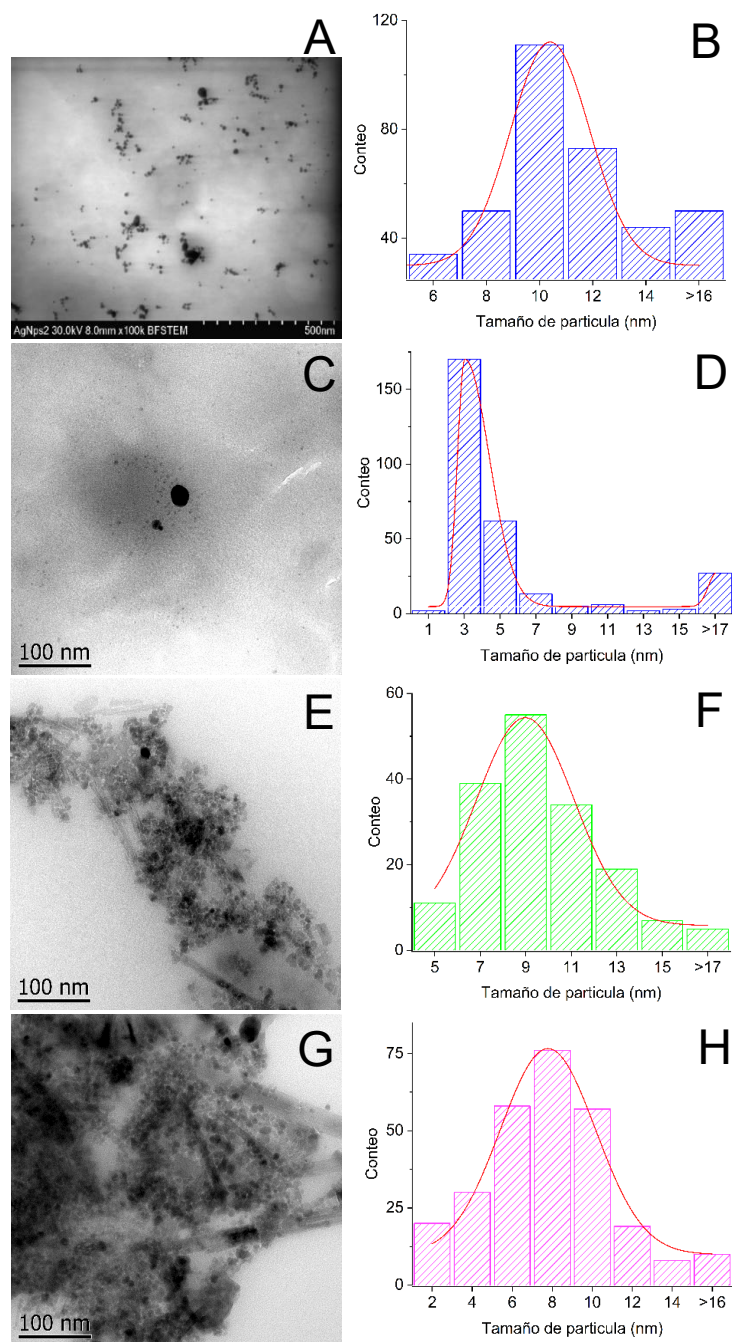


Figura 15. Micrografías TEM y distribuciones de tamaño de (A, B) AgNPs lote 1, (C, D) AgNPs lote 2, (E, F) MNPs y (G, H) nanocomposito plata-magnetita. El brillo y el contraste fueron ajustados digitalmente únicamente para mejorar la visualización de la morfología.

Cuadro 8. Tamaño promedio de partícula y agrupación estadística de AgNPs, MNPs y nanocompuesto plata-magnetita

Partícula	N	Media (nm)	Desviación estándar (nm)	Agrupación
AgNPs L1	362	11.3	3.6	A
AgNPs L2	290	6.3	7.8	B
MNPs	170	9.7	3.6	C
Nanocomposito plata-magnetita	278	8.1	3.7	D

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes

La morfología esferoidal de las AgNPs obtenidas en este estudio coincide con lo reportado por Ahmad et al., (2024), quienes utilizaron extractos acuosos de hojas de *Ocimum sanctum* y obtuvieron nanopartículas con un diámetro promedio de 10 nm y una distribución entre 4 y 98 nm. Por otro lado, Qamar et al., (2024) sintetizaron AgNPs con un tamaño promedio de 35 nm a partir de extractos acuosos de hojas y tallos de *O. basilicum*. Las diferencias observadas en el tamaño y la dispersión de las nanopartículas respecto a estos estudios pueden atribuirse a la modificación alcalina (pH 12) de la infusión de *O. basilicum* utilizada en este trabajo, condición que no fue reportada en los trabajos mencionados previamente.

El pH es un factor determinante en la síntesis verde de AgNPs, ya que controla simultáneamente la velocidad de reducción y las características finales de las nanopartículas (Dhaka et al., 2023). En este estudio, trabajar a pH 12 permitió la conversión de Ag^+ a Ag^0 , lo que resultó en la formación de partículas con un tamaño promedio de 10.7 nm. Estos resultados coinciden con lo reportado previamente, donde condiciones alcalinas aumentan la disponibilidad de agentes reductores, favorecen la estabilidad coloidal mediante una carga superficial negativa y reducen la tendencia a la aglomeración (Fahim et al., 2024).

El tamaño de las AgNPs obtenidas sugiere un alto potencial antibacteriano, como se evidenció en la reducción de $2.41 \log_{10}$ de aproximadamente 10^7 UFC/mL de *E. coli* tras 40 minutos de exposición a una concentración de 0.1 g/L. Las nanopartículas con diámetros menores a 30 nm suelen exhibir una mayor eficacia bactericida, atribuida a su elevada relación superficie-volumen, que favorece tanto la interacción con la membrana celular como la liberación sostenida de iones Ag^+ (Crisan et al., 2021; Menichetti et al., 2023).

La micrografía representativa de las MNPs (Figura 15, E) mostró partículas de morfología esferoidal y algunas estructuras en forma de bastón que se encuentran aglomeradas. La distribución de tamaño (Figura 15, F) indicó un diámetro promedio de 9.7 ± 3.6 nm ($N = 170$), con un intervalo entre 4 y 15 nm, y un 3 % de partículas superiores a 16 nm. La metodología empleada en este estudio para las MNPs es consistente con lo reportado previamente por Díaz-Hernández et al., (2018) para la misma ruta de síntesis, donde se obtuvo un tamaño promedio de partícula de 8.5 ± 0.14 nm, valor que concuerda con el intervalo observado en nuestros resultados. Además de las partículas esferoidales, en nuestras micrografías TEM se evidenció la presencia de estructuras alargadas con morfología de bastón.

La aparición de esta segunda morfología podría estar asociada a variaciones locales en la nucleación y crecimiento de los cristales de magnetita, posiblemente influenciadas por el elevado pH alcalino empleado en la síntesis, que favorece un crecimiento anisotrópico. Además, la formación de bastones en las síntesis de MNPs a veces viene acompañado de hematita como fase secundaria (Mona et al., 2024). En este sentido, la coexistencia de morfologías esferoidales y bastonadas en nuestras micrografías podría relacionarse con la deficiente cristalinidad detectada en DRX.

En el caso del nanocomposito plata-magnetita (Figura 15, G y H), se identificaron partículas con morfología similar a la magnetita también aglomeradas, pero acompañadas de nanopartículas más pequeñas atribuibles a la incorporación de AgNPs. La distribución de tamaño ($N = 278$) presentó un valor promedio de $8.1 \pm$

3.7 nm, con un rango aproximado de 2 a 16 nm.

El tipo de síntesis para incorporar la plata en las MNPs influye sobre el tamaño final de nanocomposito. En algunos casos, la adición simultánea de ambos reactivos durante la síntesis provoca una disminución en el diámetro de las nanopartículas debido a la menor disponibilidad de precursor de hierro. En contraste, cuando la plata forma recubrimientos sobre los núcleos de magnetita, se ha reportado un incremento en el tamaño de partícula. Esto resalta la influencia crítica de las condiciones de síntesis en las características morfológicas del nanocomposito (Dabagh et al., 2023; Najafpoor et al., 2020). En el presente estudio no se observó una variación significativa en el diámetro promedio de las nanopartículas tras la incorporación de AgNPs a las MNPs. La distribución de tamaños del nanocomposito (8.1 ± 3.7 nm) se mantuvo dentro del intervalo observado para las MNPs (9.7 ± 3.6 nm), con amplia superposición en los rangos intercuartílicos. Estos resultados sugieren que la incorporación de AgNPs no fue suficiente para inducir un recubrimiento apreciable ni modificar el tamaño de las MNPs.

6.3.2.2 Microscopia electrónica de barrido de alta resolución y espectroscopía de energía dispersiva

La Figura 16 muestra las imágenes SEM representativas de las MNPs y del nanocomposito plata-magnetita antes y después del tratamiento antimicrobiano. En la imagen (A), correspondiente a las MNPs sin AgNPs, se observa una morfología granular aglomerada. La imagen (B) muestra el nanocomposito plata-magnetita sin contacto con bacterias, donde se evidencia una morfología más compacta atribuible a la incorporación de AgNPs (Abdo, 2021). Posterior al tratamiento con *E. coli* y *E. faecalis* (imágenes C, D y E), se observaron restos celulares y morfología de células dañadas, que indica la interacción directa entre el nanocomposito y las bacterias. Estos daños estructurales apoyan la idea del efecto antibacteriano del nanocomposito relacionado al daño de la membrana celular (Ge et al., 2019). Además, se pudo observar otra morfología del nanocomposito plata-magnetita de bastón alargado irregular (D). El tamaño del polvo de nanocomposito plata-

magnetita presento el 60.1 % de partículas entre 63 y 250 μm , y el 39.9 % de partículas con tamaño menor a 69 μm de los cuales se calcularon por SEM con tamaño promedio de 56 nm y desviación estándar de 32 nm.

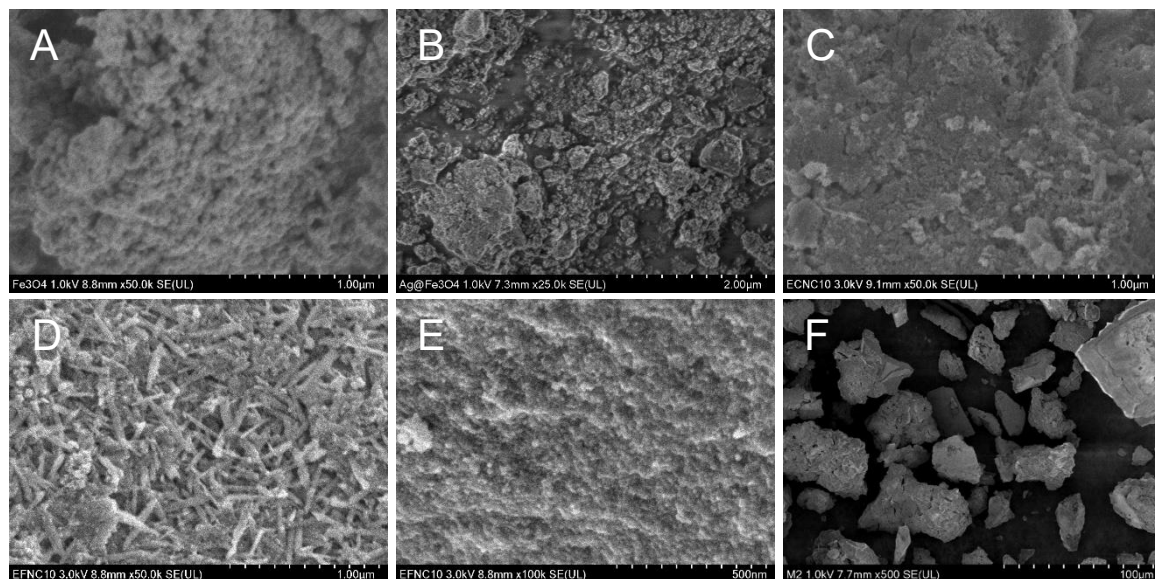
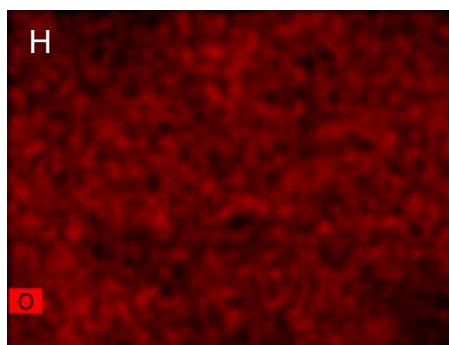
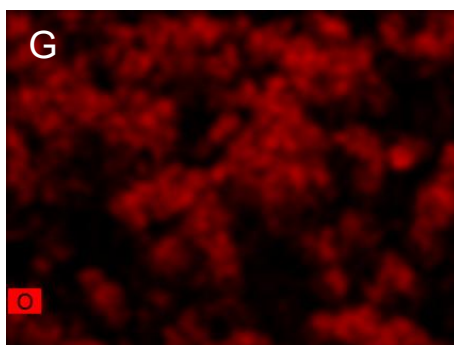
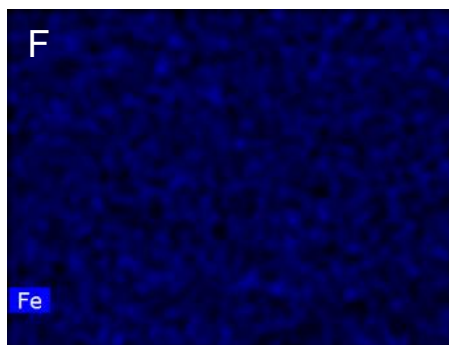
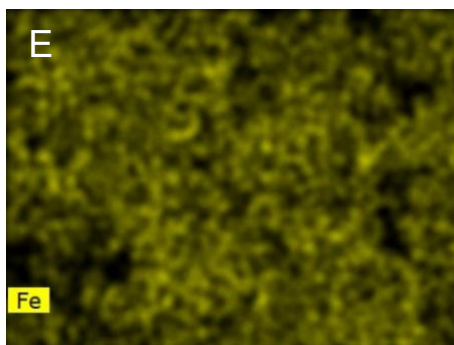
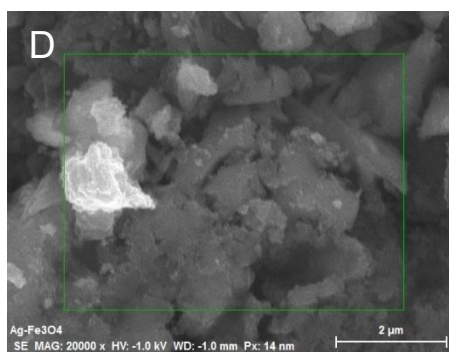
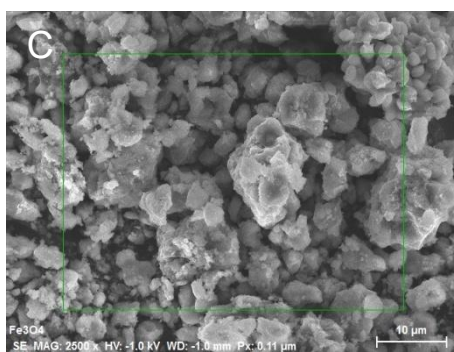
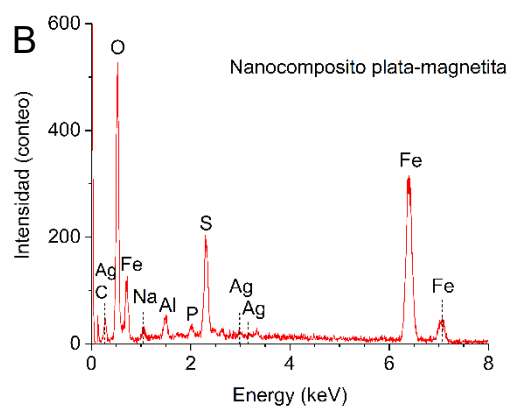
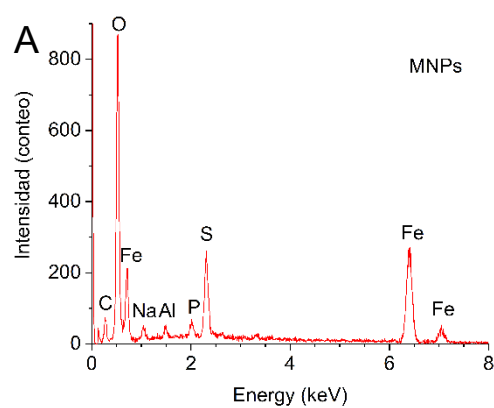


Figura 16. Imágenes SEM de las MNPs y el nanocomposito plata-magnetita antes y después del tratamiento antimicrobiano. (A) MNPs, (B) Nanocomposito sin tratar, (C) nanocomopostio después de tratamiento contra *E. coli*, (D,E), contra *E. faecalis* y (F) nanocomposito, vista a baja magnificación.

La espectroscopía de dispersión de energía de rayos X (EDS) acoplada a la microscopía electrónica de barrido (SEM) se utilizó para confirmar la composición elemental del nanocomposito. La presencia de varios elementos en las MNPs y el nanocomposito plata-magnetita caracterizados por el espectro EDS se muestran en la Figura 17 (A y B). La muestra correspondiente a las MNPs mostró señales intensas correspondientes a hierro y oxígeno, lo cual es consistente con la presencia de óxido de hierro (Fe_3O_4). Los picos correspondientes a carbono, sodio, fósforo y azufre podrían estar asociados a impurezas residuales. El aluminio detectado se atribuyó al material de soporte usado en el análisis. Los picos característicos de la

plata confirmaron su incorporación en la matriz magnética.

El mapeo elemental de las MNPs y del nanocomposito plata-magnetita se muestran en la Figura 17. Los elementos mapeados fueron el hierro (E y F), oxígeno (G y H) y plata (I). En las MNPS los mapas de distribución elemental muestran la presencia homogénea de hierro y oxígeno, confirmando la formación del óxido de hierro. En la muestra correspondiente al nanocompuesto plata-magnetita, además de Fe y O, se observa la señal característica de plata (Ag), la cual se distribuye de manera uniforme sobre la superficie, lo que confirma su incorporación en el nanocompuesto. La intensidad de Ag está ausente en la magnetita pura, lo que valida que la señal corresponde a la adición de nanopartículas de plata en el material compuesto.



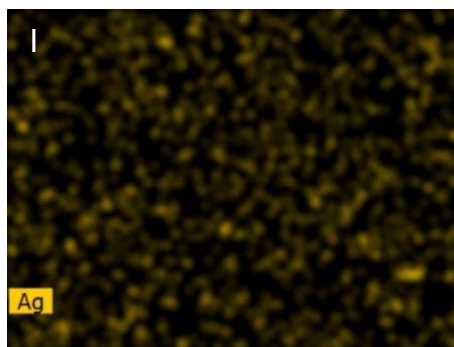


Figura 17. Imágenes SEM-EDS de las MNPs sin modificar y del nanocompuesto plata-magnetita. (A, B) Espectros EDS correspondientes a la magnetita y al nanocompuesto, respectivamente. (C, D) Imágenes SEM de la magnetita y del nanocompuesto. (E, F) Mapas de distribución de Fe y O en la magnetita; (G, H, I) Mapas de Fe, O y Ag en el nanocompuesto, obtenidos mediante análisis EDS.

El porcentaje atómico de las MNPs y el nanocomposito plata magnetita antes y después del contacto con *E. coli* y *E. faecalis* se cuantificó por EDS como se muestra en el Cuadro 9. El nanocomposito plata-magnetita mostró una concentración atómica de plata de 0.22 % antes del tratamiento antimicrobiano. Después de la exposición del nanocomposito a *E. coli* y *E. faecalis*, se observó una disminución notable en el contenido de Ag, reduciéndose a 0.05 % y 0.02 %, respectivamente. Esta disminución sugiere una posible liberación de iones Ag^+ durante el tratamiento, lo cual es consistente con su participación en el mecanismo antimicrobiano.

Cuadro 9. Porcentaje de concentración atómica de los elementos detectados mediante EDS en la magnetita sin modificar y en el nanocomposito plata-magnetita, antes y después del tratamiento contra *E. coli* y *E. faecalis*.

% Concentración atómica				
Elemento	Magnetita	Nanocomposito plata-magnetita		
		Sin tratar	Contra <i>E. coli</i>	Contra <i>E. faecalis</i>
O	58.89	47.39	78.3	74.38
Fe	19.04	29.36	12.85	17.68
Ag	0	0.22	0.05	0.02
Na	2.18	1.88	3.09	2.59
P	0.9	0.58	0.46	0.78
S	4.91	6.5	5.25	4.22

% Concentración atómica: La proporción relativa del número de átomos de cada elemento detectado en una región específica de la muestra, sin considerar sus masas atómicas.

Aunque se ha planteado que la actividad antibacteriana de las AgNPs es proporcional a su concentración, en el caso de los nanocompositos, dicha actividad no depende exclusivamente del contenido de plata. Por ejemplo, Lazić et al., (2019) emplearon un nanocomposito con 42 % de plata a una concentración de 2 g/L, logrando una reducción del 65 % de *E. coli* a partir de 10^5 UFC/mL. En contraste, en el presente estudio, se obtuvo una reducción del 99.99 % frente a *E. coli* a partir de una concentración de 10^7 UFC/mL utilizando la misma concentración de nanocomposito, pero con solo 0.22 % de plata.

Resultados similares se observan al comparar los trabajos de Sandupatla et al., (2021) y Hartati et al., (2022). Sandupatla et al., (2021) reportaron un nanocomposito de AgNPs y MNPs con 31.1 % de plata, que a 1 g/L mostró zonas de inhibición de 7 mm y 4 mm contra *E. coli* y *Bacillus subtilis*, respectivamente. En cambio, el

nanocomposito desarrollado por Hartati et al., (2022), con un contenido de plata de apenas 5.2 %, generó halos de inhibición de aproximadamente 19 mm contra *E. coli* y 16 mm frente a *Bacillus cereus*.

Estas comparaciones refuerzan la idea de que el porcentaje de plata en el nanocomposito no es el principal factor determinante de su efectividad antimicrobiana. Variables como el tamaño y forma de las AgNPs, la liberación efectiva de iones Ag^+ , la naturaleza del soporte, la sinergia con otros componentes y las condiciones del medio, podrían tener un papel más relevante que el contenido total de plata incorporado.

6.3.3 Análisis de las propiedades magnéticas por magnetometría de muestra vibrante

Las propiedades magnéticas del nanocompuesto fueron evaluadas mediante un magnetómetro de muestra vibrante (VSM) a temperatura ambiente (300 K), con el fin de determinar su comportamiento frente a campos magnéticos externos. En la Figura 18 se muestra la curva de magnetización (M–H) obtenida al aplicar un campo magnético en el rango de $\pm 30,000$ Oe. La magnetización de saturación (M_s) fue de aproximadamente 20 emu/g para las MNPs sin modificar y disminuyó a cerca de 16 emu/g tras la incorporación de nanopartículas de plata.

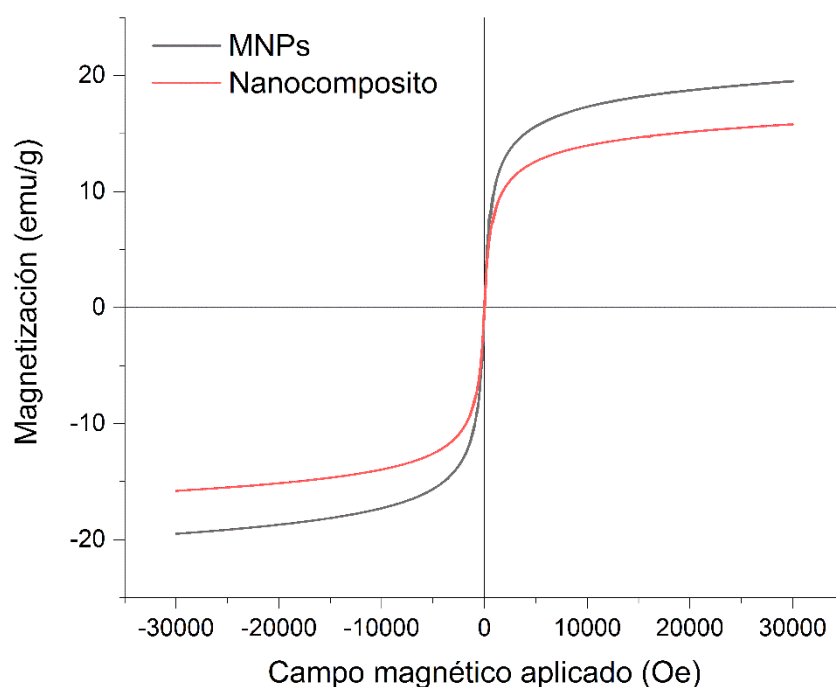


Figura 18. Curva de magnetización de las MNPs y del nanocomposito plata-magnetita.

El valor máximo teórico de M_s para la magnetita es de 98 emu/g; sin embargo, este valor tiende a disminuir significativamente debido a efectos de tamaño, recubrimiento superficial y la estructura cristalina del material (Nguyen et al., 2021). La magnetización de saturación obtenida para las MNPs fue menor a la reportada para magnetita pura, lo que se atribuye tanto al recubrimiento con quitosano, que constituye una fracción no magnética y reduce la respuesta neta por unidad de masa, como a la baja cristalinidad evidenciada en el análisis de DRX, donde además de los picos característicos se observó un nivel considerable de fondo difuso, indicativo de fases desordenadas o amorfas que limitan la orientación coherente de los dominios magnéticos (Ali et al., 2021).

Estos factores se suman al efecto de la morfología, ya que Baghshahi y Yousefi (2021) demostraron que las partículas cúbicas presentan mayor magnetización de saturación de 66.36 emu/g que las esféricas con 60.74 emu/g, mientras que las

bastonadas alcanzan valores significativamente menores (35.11 emu/g) debido a la anisotropía de forma y a la desviación de espines. De manera similar, Mona et al., (2024) reportaron que la formación de bastones suele presentar hematita lo que reduce la saturación magnética del material. En concordancia, la presencia de bastones y la cristalinidad deficiente observadas en nuestro caso explican la disminución de la magnetización de saturación respecto a lo esperado para magnetita altamente cristalina.

La M_s del nanocomposito disminuyó respecto a la magnetita con quitosano, lo cual es un comportamiento esperado tras la incorporación de fases no magnéticas. Por ejemplo, Dabagh et al., (2023) reportaron un valor de 78.5 emu/g para Fe_3O_4 puro, que disminuyó a 56.4 emu/g al recubrirse con sílice (SiO_2), y posteriormente a 43.8 emu/g al incorporar AgNPs. De manera similar, Fang et al., (2020) observaron una reducción de la M_s de 47.1 emu/g en Fe_3O_4 a 30.3 emu/g en un nanocomposito recubierto con polidopamina (PDA) y plata. Estas caídas en la respuesta magnética se atribuyen a la dilución del material magnético por fases diamagnéticas (como sílice, polímeros orgánicos o plata).

En el presente estudio, la disminución observada en la M_s se puede atribuir al recubrimiento orgánico (proveniente del extracto de *O. basilicum* y el quitosano), así como a la incorporación de AgNPs y el entrecruzamiento con glutaraldehído. A pesar de esta reducción, la saturación magnética fue suficiente para permitir la recuperación del nanocomposito mediante un imán, confirmando su aplicabilidad práctica en sistemas de separación en tratamiento de aguas.

Ambas muestras, MNPs y nanocomposito plata-magnetita, presentan una forma de curva sigmoide estrecha, centrada en el origen, característica de materiales superparamagnéticos. En ambos casos, tanto la coercitividad como la magnetización remanente fueron prácticamente nulas, lo que indica la ausencia de histéresis magnética. Este comportamiento confirma la naturaleza superparamagnética del material, consistente con partículas de magnetita de tamaño nanométrico, en las que los momentos magnéticos individuales pueden

alinearse bajo un campo aplicado, pero no conservan la magnetización una vez retirado (Nguyen et al., 2021; Yusoff et al., 2018). Esta propiedad es especialmente favorable para aplicaciones donde se requiere un control externo del movimiento del nanocompuesto sin retención magnética residual, como en separación magnética o sistemas dirigidos.

6.4 Determinación de la actividad antibacteriana del nanocomposito en agua residual urbana con tratamiento secundario

Los efectos antibacterianos del nanocomposito sobre diferentes grupos bacterianos presentes en agua residual secundaria fueron analizados, incluyendo mesófilos aerobios totales (MAT), coliformes totales (CT) y fecales (CF), *E. coli*, enterococos fecales (EF) y microorganismos resistentes a antibióticos (MRA) de uso común, como amoxicilina (AMX), ciprofloxacino (CIP) y claritromicina (CLR).

El tratamiento con el nanocomposito plata-magnetita mostró una reducción de la carga microbiana en las muestras de agua residual. Como se observa en la Figura 19, sobre la muestra 3 se presentaron los mayores efectos del nanocomposito plata-magnetita, alcanzando reducciones de hasta $1.19 \log_{10}$ en microorganismos resistentes a AMX de 2.15×10^4 UFC/mL y $1.16 \log_{10}$ para CLR y CIP de 8.20×10^4 UFC/mL. También se observaron reducciones en MAT ($1.00 \log_{10}$) y en *E. coli* ($0.66 \log_{10}$) en dicha muestra. En contraste, el nanocomposito plata-magnetita en las muestras 1 y 2 tuvo reducciones más limitadas por debajo de 0.81 y $0.43 \log_{10}$, respectivamente, sin actividad contra CF y *E. coli*.

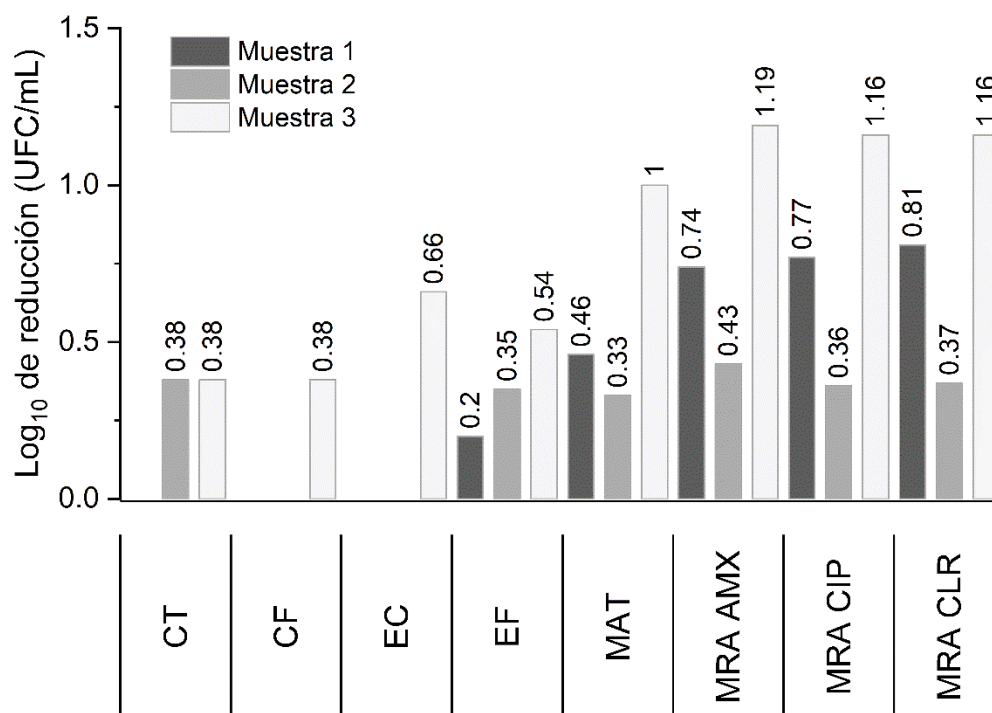


Figura 19. Reducción logarítmica ($\log_{10}$) de parámetros microbiológicos en tres muestras de agua residual tratadas con el nanocomposito plata-magnetita, en comparación con los controles sin tratamiento. Las reducciones se muestran a partir de una concentración inicial aproximada de 4 $\log_{10}$. Sobre cada barra se muestra el valor absoluto obtenido.

La variación en la efectividad antimicrobiana del nanocomposito fue relacionada a la carga orgánica del agua residual. En particular, las muestras 1 y 2 presentaron valores iniciales más elevados de DQO (176 y 489 mg/L, respectivamente) en comparación con la muestra 3 (110 mg/L), que mostró los mejores resultados como se muestra en el Cuadro 10. Este efecto puede atribuirse a la presencia de compuestos reductores en aguas residuales con alta DQO, que transforman los iones Ag^+ en formas menos reactivas, así como a la precipitación de la plata en forma de complejos insolubles con cloruros o sulfuros (Smith et al., 2021). Ambos fenómenos limitan la disponibilidad de Ag^+ y, en consecuencia, disminuyen la

eficacia bactericida del material.

Cuadro 10. Comparación de parámetros microbiológicos y fisicoquímicos en muestras de agua residual con tratamiento secundario con tratamiento de nanocomposito plata-magnetita y controles sin el tratamiento.

Parámetro	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
	05 de mayo de 2025	29 de mayo de 2025	5 de junio de 2025
	Sin nanocomposito /	Sin nanocomposito /	Sin nanocomposito /
	Con nanocomposito	Con nanocomposito	Con nanocomposito
Parámetros microbiológicos			
CT (NMP/100 mL)	1100 / >2400	1100 / 460	1100 / 460
CF (NMP/100 mL)	1100 / >2400	460 / 460	1100 / 460
EC (NMP/100 mL)	1100 / >2400	460 / 460	1100 / 240
EF (NMP/100 mL)	240 / 150	93 / 43	150 / 43
MAT (UFC/mL)	7.44×10^4 / 2.56×10^4	6.67×10^4 / 3.11×10^4	8.11×10^4 / 8.11×10^3
MRA CIP (UFC/mL)	6.20×10^4 / 1.06×10^4	3.85×10^4 / 1.67×10^4	8.2×10^4 / 5.7×10^3
MRA AMX (UFC/mL)	2.44×10^4 / 4.10×10^3	6.5×10^3 / 2.43×10^3	2.15×10^4 / 1.38×10^3
MRA CLR (UFC/mL)	8.10×10^4 / 1.26×10^4	6.31×10^4 / 1.52×10^4	8.20×10^4 / 5.70×10^3
Parámetros Fisicoquímicos			
Peso de composito (mg)	201.47 / 196.48	200.12 / 195.05	201.29 / 193.25
Plata libre (ppm)	< 0.005 / < 0.005	< 0.005 / < 0.005	< 0.005 / < 0.005
SDTs (ppm)	638 / 755	230 / 256	241 / 264
DQO (mg/L)	176 / 334	489 / 528	110 / 198
Color verdadero α			
436 nm	0.352 / 0.815	0.463 / 0.633	0.389 / 0.550
525 nm	0.210 / 0.620	0.253 / 0.433	0.136 / 0.396
620 nm	0.140 / 0.520	0.196 / 0.366	0.076 / 0.329
pH	7 / 7	7 / 6	7 / 6

SDT: Sólidos suspendidos totales

Otros procesos de desinfección también muestran pérdida de eficacia en matrices complejas. Por ejemplo, la luz UV que logró entre 4.5 y 6 log de reducción frente a *E. coli* en suspensiones bacterianas en condiciones controladas, pero en aguas residuales reales los valores se limitaron a valores entre 1 y 3.4 log (Collivignarelli et al., 2020). De forma similar, los procesos de desinfección convencionales como la cloración, la ozonización y la radiación UV reportan reducciones en rangos de 0.3 a 8, 0.3 a 4 y -0.3 a 8.3 log₁₀, respectivamente, moduladas por parámetros como la turbidez, pH, temperatura, solidos suspendidos totales, entre otros parámetros (Arden et al., 2024). En este contexto, el desempeño del nanocompuesto aún no es

comparable con el de estas tecnologías consolidadas.

La limitada eficacia frente a CT, CF y *E. coli* también puede explicarse por la capacidad de los coliformes, entre otras bacterias, de activar mecanismos de resistencia. Al igual que el recrecimiento descrito en procesos de cloración, las células lesionadas pueden recuperarse mediante respuestas antioxidantes, incluyendo enzimas y tioles de bajo peso molecular, lo que amortigua el efecto de iones Ag^+ y contribuye a la persistencia de los indicadores bacterianos (Gupta et al., 2022; Randall et al., 2015).

En cuanto a los MRA, el nanocomposito plata-magnetita mostró actividad antibacteriana pese a la resistencia específica de cada antibiótico. La amoxicilina, un β -lactámico que inhibe la síntesis de la pared celular al bloquear la formación de peptidoglicanos; el ciprofloxacino, una quinolona que interfiere en la replicación del DNA; y la claritromicina, un macrólido que inhibe la síntesis proteica al unirse a la subunidad ribosomal 50S (Casals et al., 2025). Aun así, el nanocomposito plata-magnetita logró reducciones cercanas a $1 \log_{10}$ frente a bacterias resistentes a los tres mecanismos, lo que sugiere que su acción antimicrobiana no depende de un único blanco molecular y puede superar, al menos parcialmente, las limitaciones de los antibióticos convencionales (Rodrigues et al., 2024). Cabe destacar que, aunque se ha señalado la posibilidad de co-resistencia a antibióticos y iones Ag^+ (Gillieatt & Coleman, 2024), esta asociación no se evaluó directamente en este trabajo.

En cuanto a los parámetros fisicoquímicos (Cuadro 10), se observó un ligero aumento en sólidos disueltos totales (SDTs) y en el color verdadero tras el tratamiento, probablemente asociado a la presencia del nanocomposito en suspensión. No obstante, la concentración de plata libre se mantuvo por debajo del límite de detección ($< 0.005 \text{ ppm}$), lo cual indica una liberación mínima del metal al medio. Este aspecto es relevante ya que reduce el riesgo de toxicidad ambiental y, junto con la alta recuperación magnética (96–98 %), sugiere la retención y posible reutilización del material.

En conjunto, los resultados muestran que el nanocompuesto plata-magnetita puede

contribuir a la reducción de la carga microbiana en agua residual secundaria, aunque su eficacia está modulada por las características de la matriz. La baja liberación de plata y la alta recuperabilidad magnética refuerzan su potencial como estrategia complementaria a los procesos de desinfección convencionales, ofreciendo ventajas tanto en seguridad ambiental como en la posibilidad de actuar frente a bacterias resistentes a antibióticos. Pese a los resultados obtenidos, es imperativo continuar con la mejora del nanocompuesto, tanto para reducir pérdidas de material como para incrementar su eficacia antimicrobiana, así como establecer las condiciones operativas que maximicen su actividad en agua residual.

7. CONCLUSIONES

La síntesis del nanocompuesto plata-magnetita mediante entrecruzamiento con glutaraldehído permitió integrar nanopartículas de plata a nanopartículas de magnetita conservando la capacidad de recuperación magnética para garantizar un bajo desprendimiento de plata al medio. La caracterización estructural y morfológica corroboró la formación del material compuesto y su composición elemental. Los ensayos demostraron que la acción del nanocompuesto plata-magnetita depende del tipo de bacteria, siendo *E. coli* más susceptible que *E. faecalis*. Los resultados sugieren que la actividad antibacteriana del nanocompuesto se relaciona principalmente con la liberación de iones Ag^+ y posibles interacciones directas con la membrana bacteriana, aunque este mecanismo deberá confirmarse en estudios posteriores. La eficacia antibacteriana del nanocompuesto está influenciada por las características de la matriz, lo que resalta la importancia de factores como la carga orgánica en aguas residuales. El nanocomposito mostró potencial contra microorganismos resistentes a antibióticos y su baja actividad ante coliformes fecales, totales, *E. coli* y enterococos fecales.

8. REFERENCIAS

- Abdelkhalek, A., El-Gendi, H., Alotibi, F. O., Al-Askar, A. A., Elbeaino, T., Behiry, S. I., Abd-Elsalam, K. A., & Moawad, H. (2022). *Ocimum basilicum*-mediated synthesis of silver nanoparticles induces innate immune responses against cucumber mosaic virus in squash. *Plants*, 11(20), 2707. <https://doi.org/10.3390/plants11202707>
- Abdo, N. I. (2021). Comparative study between magnetite nanoparticles and magnetite/silver as a core/shell nanostructure. *Advances in Nanoparticles*, 10(04), 115–122. <https://doi.org/10.4236/anp.2021.104008>
- Abid, N., Khan, A. M., Shujait, S., Chaudhary, K., Ikram, M., Imran, M., Haider, J., Khan, M., Khan, Q., & Maqbool, M. (2022). Synthesis of nanomaterials using various top-down and bottom-up approaches, influencing factors, advantages, and disadvantages: A review. *Advances in Colloid and Interface Science*, 300, 102597. <https://doi.org/10.1016/J.CIS.2021.102597>
- Adeel, M., Maniakova, G., & Rizzo, L. (2024). Tertiary/quaternary treatment of urban wastewater by UV/H₂O₂ or ozonation: Microplastics may affect removal of *E. coli* and contaminants of emerging concern. *Science of The Total Environment*, 907, 167940. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2023.167940>
- Ahmad, N., Ansari, M. A., Al-Mahmeed, A., Joji, R. M., Saeed, N. K., & Shahid, M. (2024). Biogenic silver nanomaterials synthesized from *Ocimum sanctum* leaf extract exhibiting robust antimicrobial and anticancer activities: Exploring the therapeutic potential. *Heliyon*, 10(15), e35486. <https://doi.org/10.1016/J.HELİYON.2024.E35486>
- Ahmed, M., Mavukkandy, M. O., Giwa, A., Elektorowicz, M., Katsou, E., Khelifi, O., Naddeo, V., & Hasan, S. W. (2022). Recent developments in hazardous pollutants removal from wastewater and water reuse within a circular economy. *Npj Clean Water*, 5(1), 12. <https://doi.org/10.1038/s41545-022-00154-5>
- Albolafio, S., Marín, A., Allende, A., García, F., Simón-Andreu, P. J., Soler, M. A., &

- Gil, M. I. (2022). Strategies for mitigating chlorinated disinfection byproducts in wastewater treatment plants. *Chemosphere*, 288, 132583. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.132583>
- Alegbeleye, O., & Sant'Ana, A. S. (2023). Microbiological quality of irrigation water for cultivation of fruits and vegetables: An overview of available guidelines, water testing strategies and some factors that influence compliance. *Environmental Research*, 220, 114771. <https://doi.org/10.1016/J.ENVRES.2022.114771>
- Ali, A., Shah, T., Ullah, R., Zhou, P., Guo, M., Ovais, M., Tan, Z., & Rui, Y. (2021). Review on recent progress in magnetic nanoparticles: Synthesis, characterization, and diverse applications. *Frontiers in Chemistry*, 9, 629054. <https://doi.org/10.3389/fchem.2021.629054>
- Anees Ahmad, S., Sachi Das, S., Khatoon, A., Tahir Ansari, M., Afzal, M., Saquib Hasnain, M., & Kumar Nayak, A. (2020). Bactericidal activity of silver nanoparticles: A mechanistic review. In *Materials Science for Energy Technologies* (Vol. 3, pp. 756–769). KeAi Communications Co. <https://doi.org/10.1016/j.mset.2020.09.002>
- Arden, S., McGaughy, K., Phillips, J., Hills, L., Chiang, E., Dumler, S., Ma, X. (Cissy), Jahne, M., & Garland, J. (2024). A unit process log reduction database for water reuse practitioners. *Water Research X*, 23, 100226. <https://doi.org/10.1016/j.wroa.2024.100226>
- Arévalo-Cid, P., Isasi, J., Caballero, A. C., Martín-Hernández, F., & González-Rubio, R. (2022). Effects of shell-thickness on the powder morphology, magnetic behavior and stability of the chitosan-coated Fe₃O₄ nanoparticles. *Boletín de La Sociedad Española de Cerámica y Vidrio*, 61(4), 300–312. <https://doi.org/10.1016/J.BSECV.2020.12.001>
- Baghshahi, S., & Yousefi, F. (2021). A new systematic approach to the morphology and magnetic properties of spherical, cubic, and rod-like magnetite

- nanoparticles. *Journal of Superconductivity and Novel Magnetism*, 34(7), 1949–1954. <https://doi.org/10.1007/s10948-021-05884-0>
- Bruna, T., Maldonado-Bravo, F., Jara, P., & Caro, N. (2021). Silver nanoparticles and their antibacterial applications. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(13), 7202. <https://doi.org/10.3390/ijms22137202>
- Caciandone, M., Niculescu, A. G., Grumezescu, V., Bîrcă, A. C., Ghica, I. C., Vasile, B. Ștefan, Oprea, O., Nica, I. C., Stan, M. S., Holban, A. M., Grumezescu, A. M., Anghel, I., & Anghel, A. G. (2022). Magnetite nanoparticles functionalized with therapeutic agents for enhanced ENT antimicrobial properties. *Antibiotics*, 11(5). <https://doi.org/10.3390/antibiotics11050623>
- Casals, E., Gusta, M. F., Bastus, N., Rello, J., & Puentes, V. (2025). Silver nanoparticles and antibiotics: A promising synergistic approach to multidrug-resistant Infections. *Microorganisms*, 13(4), 952. <https://doi.org/10.3390/microorganisms13040952>
- Centeno-Chávez, D., Sandoval-Cárdenas, D. I., García-Gasca, M. T. de J., Amaro-Reyes, A., & Santos-Cruz. José. (2023). *Entrecruzamiento de nanopartículas de plata con lectina recombinante por genipino* [Tesis de licenciatura, Universidad Autónoma de Querétaro]. <https://ri-ng.uaq.mx/handle/123456789/8968>
- Collivignarelli, M. C., Abbà, A., Miino, M. C., Caccamo, F. M., Torretta, V., Rada, E. C., & Sorlini, S. (2020). Disinfection of wastewater by UV-based treatment for reuse in a circular economy perspective. Where are we at? *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(1), 77. <https://doi.org/10.3390/ijerph18010077>
- CONAGUA. (2024). *Estadísticas del Agua en México 2023 Comisión Nacional del Agua* (2023rd ed.). Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales.
- Crisan, C. M., Mocan, T., Manolea, M., Lasca, L. I., Tăbăran, F.-A., & Mocan, L. (2021). Review on silver nanoparticles as a novel class of antibacterial

- solutions. *Applied Sciences*, 11(3), 1120. <https://doi.org/10.3390/app11031120>
- Dabagh, S., Haris, S. A., Isfahani, B. K., & Ertas, Y. N. (2023). Silver-decorated and silica-capped magnetite nanoparticles with effective antibacterial activity and reusability. *ACS Applied Bio Materials*, 6(6), 2266–2276. <https://doi.org/10.1021/acsabm.3c00122>
- Das, C., Sen, S., Singh, T., Ghosh, T., Paul, S. S., Kim, T. W., Jeon, S., Maiti, D. K., Im, J., & Biswas, G. (2020). Green synthesis, characterization and application of natural product coated magnetite nanoparticles for wastewater treatment. *Nanomaterials*, 10, 1–19. <https://doi.org/10.3390/nano10081615>
- de Boer, S., González-Rodríguez, J., Conde, J. J., & Moreira, M. T. (2022). Benchmarking tertiary water treatments for the removal of micropollutants and pathogens based on operational and sustainability criteria. *Journal of Water Process Engineering*, 46, 102587. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2022.102587>
- Deepa, M., Suryaprakash, T., & Kumar, P. (2017). Eco friendly green synthesized silver nanoparticle with *Ocimum basilicum* leaves aqueous extract. *Journal of Innovations in Pharmaceutical and Biological Sciences*, 4, 75–79.
- Dhaka, A., Chand Mali, S., Sharma, S., & Trivedi, R. (2023). A review on biological synthesis of silver nanoparticles and their potential applications. *Results in Chemistry*, 6, 101108. <https://doi.org/10.1016/j.rechem.2023.101108>
- Díaz-Hernández, A., Gracida, J., García-Almendárez, B., Regalado, C., Núñez, R., & Amaro-Reyes, A. (2018). Characterization of magnetic nanoparticles coated with chitosan: A potential approach for enzyme immobilization. *Journal of Nanomaterials*, 2018, 1–11. <https://doi.org/10.1155/2018/9468574>
- Durán-Sánchez, A., Álvarez-García, J., González-Vázquez, E., & Río-Rama, M. de la C. Del. (2020). Wastewater management: Bibliometric analysis of scientific literature. *Water (Switzerland)*, 12(11), 1–20. <https://doi.org/10.3390/w12112963>
- Dutta, N., Usman, M., Ashraf, M. A., Luo, G., & Zhang, S. (2022). Efficacy of

- emerging technologies in addressing reductive dechlorination for environmental bioremediation: A review. *Journal of Hazardous Materials Letters*, 3, 100065. <https://doi.org/10.1016/J.HAZL.2022.100065>
- Eldeeb, B. A., El-Raheem, W. M. A., & Elbeltagi, S. (2023). Green synthesis of biocompatible Fe₃O₄ magnetic nanoparticles using *Citrus sinensis* peels extract for their biological activities and magnetic-hyperthermia applications. *Scientific Reports*, 13(1), 19000. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-46287-6>
- European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. (2023). *EUCAST guidelines for detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance*. https://www.eucast.org/resistance_mechanisms
- Fahim, M., Shahzaib, A., Nishat, N., Jahan, A., Bhat, T. A., & Inam, A. (2024). Green synthesis of silver nanoparticles: A comprehensive review of methods, influencing factors, and applications. *JCIS Open*, 16, 100125. <https://doi.org/10.1016/j.jciso.2024.100125>
- Fang, C., & Naidu, R. (2023). A review of perchlorate contamination: Analysis and remediation strategies. *Chemosphere*, 338, 139562. <https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2023.139562>
- Fang, Q., Xu, K., Zhang, J., Xiong, Q., Duan, J., & Xuan, S. (2020). Hybrid polydopamine/Ag shell-encapsulated magnetic Fe₃O₄ nanosphere with high antibacterial activity. *Materials*, 13(17), 3872. <https://doi.org/10.3390/ma13173872>
- Flores-Suárez, A. G., Mandujano-González, V., Sandoval-Cárdenas, D. I., & García-Gasca, M. T. de J. (2021). *Caracterización de nanopartículas de plata sintetizadas con infusión de hoja de Ocimum basilicum*.
- Galan, J., Trilleras, J., Zapata, P. A., Arana, V. A., & Grande-Tovar, C. D. (2021). Optimization of chitosan glutaraldehyde-crosslinked beads or reactive blue 4 anionic dye removal using a surface response methodology. *Life*, 11(2), 85.

<https://doi.org/10.3390/life11020085>

- Garcia, S., Mabarroh, N., Cuana, R., Ardiyanti, H., Istiqomah, N. I., & Suharyadi, E. (2024). Detection of green-synthesized Fe₃O₄/ chitosan using spin valve GMR sensor with wheatstone bridge circuit. *Materials Science Forum*, 1114, 9–14. <https://doi.org/10.4028/p-7uIYDW>
- Ge, Y., Shen, W., Wang, X., Feng, H., & Feng, L. (2019). Synthesis and bactericidal action of Fe₃O₄/AgO bifunctional magnetic-bactericidal nanocomposite. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 563, 160–169. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2018.11.063>
- Gharaati, A. R., Allafchian, A., & Karimzadeh, F. (2023). Exploring the antibacterial potential of magnetite/quince seed mucilage/Ag nanocomposite: Synthesis, characterization, and activity assessment. *International Journal of Biological Macromolecules*, 249, 126120. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.126120>
- Gillieatt, B. F., & Coleman, N. V. (2024). Unravelling the mechanisms of antibiotic and heavy metal resistance co-selection in environmental bacteria. *FEMS Microbiology Reviews*, 48(4), fuae017. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuae017>
- Girilal, M., Mohammed Fayaz, A., Elumalai, L. K., Sathiyaseelan, A., Gandhiappan, J., & Kalaichelvan, P. T. (2018). Comparative stress physiology analysis of biologically and chemically synthesized silver nanoparticles on *Solanum lycopersicum* L. *Colloids and Interface Science Communications*, 24, 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.colcom.2018.02.005>
- Goshu, G., Koelmans, A. A., & de Klein, J. J. M. (2021). Performance of faecal indicator bacteria, microbial source tracking, and pollution risk mapping in tropical water. *Environmental Pollution*, 276, 116693. <https://doi.org/10.1016/J.ENVPOL.2021.116693>
- Gupta, V., Shekhawat, S. S., Kulshreshtha, N. M., & Gupta, A. B. (2022). A systematic review on chlorine tolerance among bacteria and standardization of their assessment protocol in wastewater. In *Water Science and Technology*

- (Vol. 86, Issue 2, pp. 261–291). IWA Publishing.
<https://doi.org/10.2166/wst.2022.206>
- Hartati, H., Subaer, S., Hasri, H., Wibawa, T., & Hasriana, H. (2022). Microstructure and antibacterial properties of chitosan-Fe₃O₄-AgNP nanocomposite. *Nanomaterials*, 12(20), 3652. <https://doi.org/10.3390/nano12203652>
- Hossain, S., Bahreini, B., Pasteur, E., Sadoh, A., Bala, R., & M Ravindra, N. (2024). Magnetotactic bacteria and magnetosomes – an overview. *Material Science & Engineering International Journal*, 8(3), 83–100. <https://doi.org/10.15406/mseij.2024.08.00241>
- Ioța, M.-A., Cursaru, L.-M., Șchiopu, A.-G., Tudor, I. A., Motoc, A.-M., & Piticescu, R. M. (2023). Fe₃O₄ Core–Shell Nanostructures with Anticancer and Antibacterial Properties: A Mini-Review. *Processes*, 11(7), 1882. <https://doi.org/10.3390/pr11071882>
- Issahaku, I., Tetteh, I. K., & Tetteh, A. Y. (2023). Chitosan and chitosan derivatives: Recent advancements in production and applications in environmental remediation. *Environmental Advances*, 11, 100351. <https://doi.org/10.1016/j.envadv.2023.100351>
- Jahan, B. N., Li, L., & Pagilla, K. R. (2021). Fate and reduction of bromate formed in advanced water treatment ozonation systems: A critical review. *Chemosphere*, 266, 128964. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128964>
- Joseph, T. M., Al-Hazmi, H. E., Śniatała, B., Esmaeili, A., & Habibzadeh, S. (2023). Nanoparticles and nanofiltration for wastewater treatment: From polluted to fresh water. *Environmental Research*, 238, 117114. <https://doi.org/10.1016/J.ENVRES.2023.117114>
- kazemi, S., Hosseingholian, A., Gohari, S. D., Feirahi, F., Moammeri, F., Mesbahian, G., Moghaddam, Z. S., & Ren, Q. (2023). Recent advances in green synthesized nanoparticles: from production to application. *Materials Today Sustainability*, 24, 100500. <https://doi.org/10.1016/J.MTSUST.2023.100500>

- Kędziora, A., Speruda, M., Krzyżewska, E., Rybka, J., Łukowiak, A., & Bugla-Płoskońska, G. (2018). Similarities and differences between silver ions and silver in nanoforms as antibacterial agents. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 19, Issue 2). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/ijms19020444>
- Kristanti, R. A., Hadibarata, T., Syafrudin, M., Yılmaz, M., & Abdullah, S. (2022). Microbiological contaminants in drinking water: Current status and challenges. *Water, Air, & Soil Pollution*, 233(8), 299. <https://doi.org/10.1007/s11270-022-05698-3>
- Kumar, S., Kumar, M., & Singh, A. (2021). Synthesis and characterization of iron oxide nanoparticles (Fe_2O_3 , Fe_3O_4): a brief review. *Contemporary Physics*, 62(3), 144–164. <https://doi.org/10.1080/00107514.2022.2080910>
- Kumari, S., Raturi, S., Kulshrestha, S., Chauhan, K., Dhingra, S., András, K., Thu, K., Khargotra, R., & Singh, T. (2023). A comprehensive review on various techniques used for synthesizing nanoparticles. *Journal of Materials Research and Technology*, 27, 1739–1763. <https://doi.org/10.1016/j.jmrt.2023.09.291>
- Lazić, V., Mihajlovski, K., Mraković, A., Illés, E., Stojiljković, M., Ahrenkiel, S. P., & Nedeljković, J. M. (2019). Antimicrobial activity of silver nanoparticles supported by magnetite. *ChemistrySelect*, 4(14), 4018–4024. <https://doi.org/10.1002/slct.201900628>
- Le, T. N., Tran, T. D., & Il Kim, M. (2020). A convenient colorimetric bacteria detection method utilizing chitosan-coated magnetic nanoparticles. *Nanomaterials*, 10(1). <https://doi.org/10.3390/nano10010092>
- Li, Q., Su, H., Yang, Y., Zhang, J., Xia, C., & Guo, Z. (2023). Adsorption property and mechanism of glutaraldehyde-crosslinked chitosan for removal of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid from water. *Environmental Science: Water Research & Technology*, 9(1), 294–307. <https://doi.org/10.1039/D2EW00638C>
- Liao, Y., Ji, W., Wang, Z., Tian, Y., Peng, J., Li, W., Pan, Y., & Li, A. (2024). Effects of alternative disinfection methods on the characteristics of effluent organic

- matter and the formation of disinfection byproducts. *Environmental Pollution*, 340, 122796. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2023.122796>
- Liu, G., Yu, R., Jiang, J., Ding, Z., Ma, J., & Liang, R. (2021). Robust immobilization of anionic silver nanoparticles on cellulose filter paper toward a low-cost point-of-use water disinfection system with improved anti-biofouling properties. *RSC Advances*, 11(9), 4873–4882. <https://doi.org/10.1039/d0ra09152a>
- Liu, Y., Zhang, X., & Zhao, L. (2023). Removal of tetracycline from water using ethylenediamine-modified magnetic chitosan. *Water Cycle*, 4, 179–191. <https://doi.org/10.1016/j.watcyc.2023.09.001>
- Lv, S., Fan, W., & Fan, B. (2023). Enhanced in vitro antibacterial effect against *Enterococcus faecalis* by using both low-dose cetylpyridinium chloride and silver ions. *BMC Oral Health*, 23(1), 299. <https://doi.org/10.1186/s12903-023-02972-6>
- Mabrouk, M., Abd El-Wahab, R. M., Beherei, H. H., Selim, M. M., & Das, D. B. (2020). Multifunctional magnetite nanoparticles for drug delivery: Preparation, characterisation, antibacterial properties and drug release kinetics. *International Journal of Pharmaceutics*, 587. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2020.119658>
- Makuei, M. S., & Peleato, N. M. (2023). Factors affecting particle-microorganism association and UV disinfection: Effect of source water, organics, and particle characteristics. *Journal of Water Process Engineering*, 56, 104335. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2023.104335>
- Mariadoss, A. V. A., Saravanakumar, K., Sathiyaseelan, A., Sivakumar, A. S., Zhang, X., Bin Choi, H., Jeong, M. S., Choi, M., & Wang, M. H. (2023). Cellulose-graphene oxide nanocomposites encapsulated with green synthesized silver nanoparticles as an effective antibacterial agent. *Materials Today Communications*, 35, 105652. <https://doi.org/10.1016/J.MTCOMM.2023.105652>
- Mazhar, M. A., Khan, N. A., Ahmed, S., Khan, A. H., Hussain, A., Rahisuddin,

- Changani, F., Yousefi, M., Ahmadi, S., & Vambol, V. (2020). Chlorination disinfection by-products in municipal drinking water – A review. In *Journal of Cleaner Production* (Vol. 273). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.123159>
- Menichetti, A., Mavridi-Printezi, A., Mordini, D., & Montalti, M. (2023). Effect of size, shape and surface functionalization on the antibacterial activity of silver nanoparticles. *Journal of Functional Biomaterials*, 14(5), 244. <https://doi.org/10.3390/jfb14050244>
- Mohammadi, H., Nekobahr, E., Akhtari, J., Saeedi, M., Akbari, J., & Fathi, F. (2021). Synthesis and characterization of magnetite nanoparticles by co-precipitation method coated with biocompatible compounds and evaluation of in-vitro cytotoxicity. *Toxicology Reports*, 8, 331–336. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2021.01.012>
- Mona, L. P., Songca, S. P., & Ajibade, P. A. (2024). Effects of temperature and precursor concentration on the morphological and optical properties of iron oxide nanoparticles. *Chemistry Africa*, 7(8), 4581–4591. <https://doi.org/10.1007/s42250-024-01057-3>
- More, P. R., Shinde, S., Cao, Z., Zhang, J., Pandit, S., De Filippis, A., Mijakovic, I., & Galdiero, M. (2024). Antibacterial applications of biologically synthesized *Pichia pastoris* silver nanoparticles. *Heliyon*, 10(4), e25664. <https://doi.org/10.1016/J.HELİYON.2024.E25664>
- Morrison, C. M., Hogard, S., Pearce, R., Gerrity, D., von Gunten, U., & Wert, E. C. (2022). Ozone disinfection of waterborne pathogens and their surrogates: A critical review. *Water Research*, 214, 118206. <https://doi.org/10.1016/J.WATRES.2022.118206>
- Najafpoor, A., Norouzian-Ostad, R., Alidadi, H., Rohani-Bastami, T., Davoudi, M., Barjasteh-Askari, F., & Zanganeh, J. (2020). Effect of magnetic nanoparticles and silver-loaded magnetic nanoparticles on advanced wastewater treatment

- and disinfection. *Journal of Molecular Liquids*, 303, 112640. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2020.112640>
- Naseem, T., & Durrani, T. (2021). The role of some important metal oxide nanoparticles for wastewater and antibacterial applications: A review. *Environmental Chemistry and Ecotoxicology*, 3, 59–75. <https://doi.org/10.1016/j.enceco.2020.12.001>
- Nguyen, M. D., Tran, H.-V., Xu, S., & Lee, T. R. (2021). Fe₃O₄ nanoparticles: Structures, synthesis, magnetic properties, surface functionalization, and emerging applications. *Applied Sciences*, 11(23), 11301. <https://doi.org/10.3390/app112311301>
- Niculescu, A. G., Chircov, C., & Grumezescu, A. M. (2022). Magnetite nanoparticles: Synthesis methods – A comparative review. *Methods*, 199, 16–27. <https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2021.04.018>
- Nie, P., Zhao, Y., & Xu, H. (2023). Synthesis, applications, toxicity and toxicity mechanisms of silver nanoparticles: A review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 253, 114636. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2023.114636>
- OECD. (2001). *OECD Guideline for the testing of chemicals, Test No. 303: Simulation Test – Aerobic Sewage Treatment: A: Activated Sludge Units; B: Biofilms*. https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-303-simulation-test-aerobic-sewage-treatment_9789264070424-en
- Pal, P., Pal, A., Nakashima, K., & Yadav, B. K. (2021). Applications of chitosan in environmental remediation: A review. In *Chemosphere* (Vol. 266). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128934>
- Pei, M., Zhang, B., He, Y., Su, J., Gin, K., Lev, O., Shen, G., & Hu, S. (2019). State of the art of tertiary treatment technologies for controlling antibiotic resistance in wastewater treatment plants. *Environment International*, 131, 105026. <https://doi.org/10.1016/J.ENVINT.2019.105026>
- Pham, X. N., Nguyen, T. P., Pham, T. N., Tran, T. T. N., & Tran, T. V. T. (2016).

Synthesis and characterization of chitosan-coated magnetite nanoparticles and their application in curcumin drug delivery. *Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology*, 7(4), 045010. <https://doi.org/10.1088/2043-6262/7/4/045010>

Pirtarighat, S., Ghannadnia, M., & Baghshahi, S. (2019). Biosynthesis of silver nanoparticles using *Ocimum basilicum* cultured under controlled conditions for bactericidal application. *Materials Science and Engineering C*, 98, 250–255. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2018.12.090>

Platania, V., Kaldeli-Kerou, A., Karamanidou, T., Kouki, M., Tsouknidas, A., & Chatzinikolaidou, M. (2022). Antibacterial effect of colloidal suspensions varying in silver nanoparticles and ions concentrations. *Nanomaterials*, 12(1). <https://doi.org/10.3390/nano12010031>

Qaeed, M. A., Hendi, A., Obaid, A. S., Thahe, A. A., Osman, A. M., Ismail, A., Mindil, A., Eid, A. A., Aqlan, F., Osman, N. M. A., AL-Farga, A., Al-Maaqar, S. M., & Saif, A. A. (2023). The effect of different aqueous solutions ratios of *Ocimum basilicum* utilized in AgNPs synthesis on the inhibition of bacterial growth. *Scientific Reports*, 13(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-023-31221-7>

Qamar, S. U. R., Virijević, K., Arsenijević, D., Avdović, E., Živanović, M., Filipović, N., Ćirić, A., & Petrović, I. (2024). Silver nanoparticles from *Ocimum basilicum* L. tea: A green route with potent anticancer efficacy. *Colloid and Interface Science Communications*, 59, 100771. <https://doi.org/10.1016/j.colcom.2024.100771>

Ramírez Aguirre, D. P., Flores Loyola, E., De la Fuente Salcido, N. M., Rodríguez Sifuentes, L., Ramírez Moreno, A., & Marszalek, J. E. (2020). Comparative antibacterial potential of silver nanoparticles prepared via chemical and biological synthesis. *Arabian Journal of Chemistry*, 13(12), 8662–8670. <https://doi.org/10.1016/J.ARABJC.2020.09.057>

Randall, C. P., Gupta, A., Jackson, N., Busse, D., & O'Neill, A. J. (2015). Silver

- resistance in Gram-negative bacteria: a dissection of endogenous and exogenous mechanisms. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 70(4), 1037–1046. <https://doi.org/10.1093/jac/dku523>
- Reddy, N., Li, H., Bethu, M., Ren, Z., & Zhang, Z. (2021). Phytosynthesis of silver nanoparticles using *Perilla frutescens* leaf extract, characterization and evaluation of antibacterial, antioxidant, and anticancer activities.pdf. *International Journal of Nanomedicine*, 16, 15–29.
- Rodrigues, A. S., Batista, J. G. S., Rodrigues, M. Á. V., Thipe, V. C., Minarini, L. A. R., Lopes, P. S., & Lugão, A. B. (2024). Advances in silver nanoparticles: a comprehensive review on their potential as antimicrobial agents and their mechanisms of action elucidated by proteomics. *Frontiers in Microbiology*, 15, 1440065. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1440065>
- Rodríguez-Félix, F., Graciano-Verdugo, A. Z., Moreno-Vásquez, M. J., Lagarda-Díaz, I., Barreras-Urbina, C. G., Armenta-Villegas, L., Olguín-Moreno, A., & Tapia-Hernández, J. A. (2022). Trends in sustainable green synthesis of silver nanoparticles using agri-food waste extracts and their applications in health. *Journal of Nanomaterials*, 2022(1), 1–37. <https://doi.org/10.1155/2022/8874003>
- Saladino, G. M., Hamawandi, B., Demir, M. A., Yazgan, I., & Toprak, M. S. (2021). A versatile strategy to synthesize sugar ligand coated superparamagnetic iron oxide nanoparticles and investigation of their antibacterial activity. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 613, 126086. <https://doi.org/10.1016/J.COLSURFA.2020.126086>
- Salih, S. J., & Mahmood, W. M. (2023). Review on magnetic spinel ferrite (MFe₂O₄) nanoparticles: From synthesis to application. In *Heliyon* (Vol. 9, Issue 6). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e16601>
- Samrot, A. V., Sahithya, C. S., Selvarani A, J., Purayil, S. K., & Ponnaiah, P. (2021). A review on synthesis, characterization and potential biological applications of superparamagnetic iron oxide nanoparticles. *Current Research in Green and*

- Sustainable Chemistry*, 4, 100042. <https://doi.org/10.1016/j.crgsc.2020.100042>
- Sandoval-Cárdenas, D. I., Pool, H., Favela-Camacho, S. E., Santos-Cruz, J., Campos-Guillén, J., Ramos-López, M. A., Rodríguez-deLeón, E., Urbina-Arroyo, J. V., & Amaro-Reyes, A. (2023). *Sargassum*@magnetite Composite EDTA-Functionalized for the Potential Removal of Mercury. *Polymers*, 15(6), 1405. <https://doi.org/10.3390/polym15061405>
- Sandupatla, R., Dongamanti, A., & Koyyati, R. (2021). Antimicrobial and antioxidant activities of phytosynthesized Ag, Fe and bimetallic Fe-Ag nanoparticles using *Passiflora edulis*: A comparative study. *Materials Today: Proceedings*, 44, 2665–2673. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.12.679>
- Saravanan, A., Deivayanai, V. C., Kumar, P. S., Rangasamy, G., Hemavathy, R. V., Harshana, T., Gayathri, N., & Alagumalai, K. (2022). A detailed review on advanced oxidation process in treatment of wastewater: Mechanism, challenges and future outlook. *Chemosphere*, 308, 136524. <https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2022.136524>
- Saravanan, A., Kumar, P. S., Karishma, S., Vo, D. V. N., Jeevanantham, S., Yaashikaa, P. R., & George, C. S. (2021). A review on biosynthesis of metal nanoparticles and its environmental applications. *Chemosphere*, 264. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128580>
- Shaumbwa, V. R., Liu, D., Archer, B., Li, J., & Su, F. (2021). Preparation and application of magnetic chitosan in environmental remediation and other fields: A review. *Journal of Applied Polymer Science*, 138(42). <https://doi.org/10.1002/app.51241>
- Singh, A. (2021). A review of wastewater irrigation: Environmental implications. In *Resources, Conservation and Recycling* (Vol. 168). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2021.105454>
- Siponen, S., Jayaprakash, B., Hokajärvi, A.-M., Gomez-Alvarez, V., Inkinen, J., Ryzhikov, I., Räsänen, P., Ikonen, J., Pursiainen, A., Kauppinen, A.,

- Kolehmainen, M., Paananen, J., Torvinen, E., Miettinen, I. T., & Pitkänen, T. (2024). Composition of active bacterial communities and presence of opportunistic pathogens in disinfected and non-disinfected drinking water distribution systems in Finland. *Water Research*, 248, 120858. <https://doi.org/10.1016/J.WATRES.2023.120858>
- Skłodowski, K., Chmielewska-Deptuła, S. J., Piktel, E., Wolak, P., Wollny, T., & Bucki, R. (2023). Metallic Nanosystems in the Development of Antimicrobial Strategies with High Antimicrobial Activity and High Biocompatibility. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 24, Issue 3). MDPI. <https://doi.org/10.3390/ijms24032104>
- Smith, D. S., Nasir, R., Parker, W., Peters, A., Merrington, G., van Egmond, R., & Lofts, S. (2021). Developing understanding of the fate and behaviour of silver in fresh waters and waste waters. *Science of The Total Environment*, 757, 143648. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143648>
- Some, S., Mondal, R., Mitra, D., Jain, D., Verma, D., & Das, S. (2021). Microbial pollution of water with special reference to coliform bacteria and their nexus with environment. *Energy Nexus*, 1, 100008. <https://doi.org/10.1016/J.NEXUS.2021.100008>
- Šuljagić, M., Milenković, M., Uskoković, V., Mirković, M., Vrbica, B., Pavlović, V., Živković-Radovanović, V., Stanković, D., & Andjelković, L. (2022). Silver distribution and binding mode as key determinants of the antimicrobial performance of iron oxide/silver nanocomposites. *Materials Today Communications*, 32, 104157. <https://doi.org/10.1016/J.MTCOMM.2022.104157>
- Taheri, M. A., Setoodehkhah, M., & Moradian, M. (2025). Sulfonated Schiff base immobilized on magnetite-chitosan as an efficient nanocatalyst for the synthesis of xanthene derivatives. *Scientific Reports*, 15(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-025-03308-w>

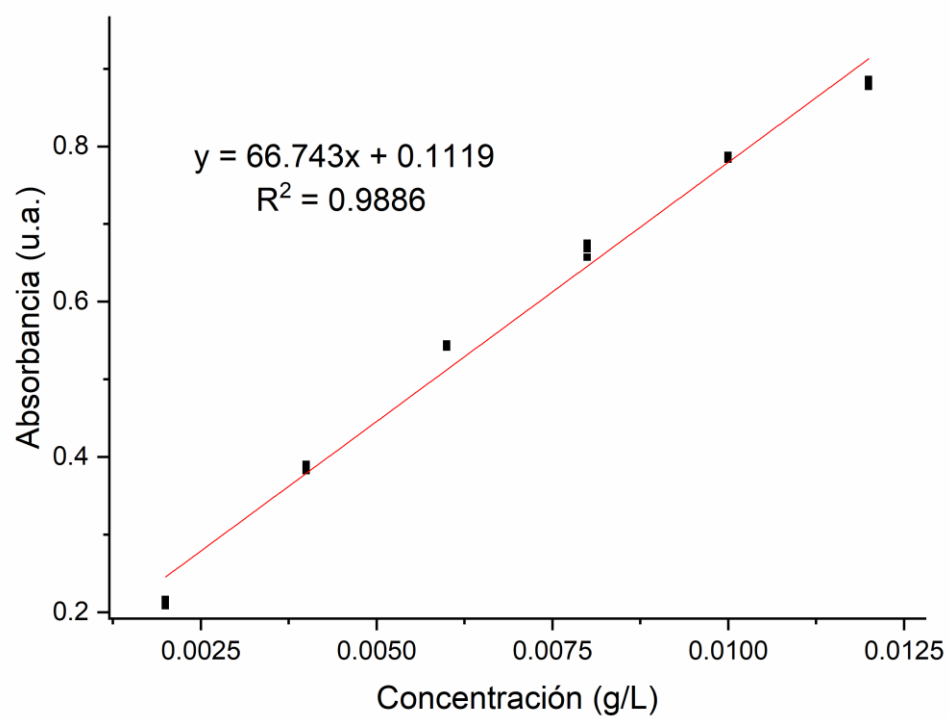
- Takman, M., Svahn, O., Paul, C., Cimbritz, M., Blomqvist, S., Struckmann Poulsen, J., Lund Nielsen, J., & Davidsson, Å. (2023). Assessing the potential of a membrane bioreactor and granular activated carbon process for wastewater reuse – A full-scale WWTP operated over one year in Scania, Sweden. *Science of the Total Environment*, 895. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.165185>
- Tang, K. H. D., & Hadibarata, T. (2021). Microplastics removal through water treatment plants: Its feasibility, efficiency, future prospects and enhancement by proper waste management. In *Environmental Challenges* (Vol. 5). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.envc.2021.100264>
- Taufiq, A., Saputro, R. E., Susanto, H., Hidayat, N., Sunaryono, S., Amrillah, T., Wijaya, H. W., Mufti, N., & Simanjuntak, F. M. (2020). Synthesis of Fe₃O₄/Ag nanohybrid ferrofluids and their applications as antimicrobial and antifibrotic agents. *Heliyon*, 6, e05813. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e05813>
- Vallinayagam, S., Rajendran, K., Lakkaboyana, S. K., Soontarapa, K., R. R., R., Sharma, V. K., Kumar, V., Venkateswarlu, K., & Koduru, J. R. (2021). Recent developments in magnetic nanoparticles and nano-composites for wastewater treatment. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 9(6), 106553. <https://doi.org/10.1016/J.JECE.2021.106553>
- Vitzilaiou, E., Kuria, A. M., Siegumfeldt, H., Rasmussen, M. A., & Knøchel, S. (2021). The impact of bacterial cell aggregation on UV inactivation kinetics. *Water Research*, 204, 117593. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2021.117593>
- Wei, J., Wang, S., Tang, W., Xu, Z., Ma, D., Zheng, M., & Li, J. (2023). Redox-directed identification of toxic transformation products during ozonation of aromatics. *Science of The Total Environment*, 901, 165929. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.165929>
- Wu, X., Ciannella, S., Choe, H., Strayer, J., Wu, K., Chalmers, J., & Gomez-Pastora, J. (2023). SPIONs magnetophoresis and separation via permanent magnets: Biomedical and environmental applications. *Processes*, 11(12), 3316.

<https://doi.org/10.3390/pr11123316>

- Wu, X., Fan, W., & Fan, B. (2021). Synergistic effects of silver ions and metformin against *Enterococcus faecalis* under high-glucose conditions in vitro. *BMC Microbiology*, 21(1), 261. <https://doi.org/10.1186/s12866-021-02291-2>
- Yeamsuksawat, T., Zhao, H., & Liang, J. (2021). Characterization and antimicrobial performance of magnetic Fe₃O₄@Chitosan@Ag nanoparticles synthesized via suspension technique. *Materials Today Communications*, 28, 102481. <https://doi.org/10.1016/j.mtcomm.2021.102481>
- Yew, Y. P., Shameli, K., Miyake, M., Ahmad Khairudin, N. B. B., Mohamad, S. E. B., Naiki, T., & Lee, K. X. (2020). Green biosynthesis of superparamagnetic magnetite Fe₃O₄ nanoparticles and biomedical applications in targeted anticancer drug delivery system: A review. *Arabian Journal of Chemistry*, 13(1), 2287–2308. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2018.04.013>
- Yildiz, A., Vatansever Bayramol, D., Atav, R., Ağirgan, A. Ö., Aydin Kurç, M., Ergünay, U., Mayer, C., & Hadimani, R. L. (2020). Synthesis and characterization of Fe₃O₄@Cs@Ag nanocomposite and its use in the production of magnetic and antibacterial nanofibrous membranes. *Applied Surface Science*, 521, 146332. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2020.146332>
- Yilmaz Atay, H. (2020). Antibacterial Activity of Chitosan-Based Systems. In *Functional Chitosan* (pp. 457–489). Springer Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-15-0263-7_15
- Yusoff, A., Salimi, M., & Jamlos, M. (2018). A review: Synthetic strategy control of magnetite nanoparticles production. *Advances in Nano Research*, 6(1), 1–19. <https://doi.org/10.12989/anr.2018.6.1.001>
- Zou, X., Li, P., Wang, X., Zheng, S., Dai, F., & Zhang, H. (2020). Silver nanoparticle and Ag⁺-induced shifts of microbial communities in natural brackish waters: Are they more pronounced under oxic conditions than anoxic conditions? *Environmental Pollution*, 258, 113686.

<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113686>

Anexos



Curva de calibración de AgNPs