

Ing. José Luis  
Aguilar Salinas

Evaluación del efecto bactericida del dióxido de titanio a  
través de Diseño de Experimentos

2012



Universidad Autónoma de Querétaro  
Facultad de Ingeniería

Evaluación del efecto bactericida del dióxido de titanio a  
través de Diseño de Experimentos

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el Título de  
Maestro en Ingeniería de Calidad

Maestría en Ingeniería de calidad

Presenta

Ing. José Luis Aguilar Salinas



Universidad Autónoma de Querétaro  
Facultad de Ingeniería  
Maestría en Ingeniería de Calidad

## Evaluación del efecto bactericida del dióxido de titanio a través de Diseño de Experimentos

### TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de

Maestro en Ingeniería de Calidad

#### Presenta:

Ing. José Luis Aguilar Salinas

#### Dirigido por:

Dr. José Santos Cruz

#### SINODALES

Dr. José Santos Cruz  
Presidente

\_\_\_\_\_  
Firma

M. Ana Elsa Hinojosa  
Secretario

\_\_\_\_\_  
Firma

M. Luis Lucia  
Vocal

\_\_\_\_\_  
Firma

Dr. Juan Bosco Hernández Zaragoza  
Suplente

\_\_\_\_\_  
Firma

M. Guillermo Hiyane Nashiro  
Suplente

\_\_\_\_\_  
Firma

\_\_\_\_\_  
Nombre y Firma  
Director de la Facultad

Dr. Irineo Torres Pacheco  
Nombre y Firma  
Director de Investigación y  
Posgrado

Centro Universitario  
Querétaro, Qro.  
Diciembre 2012  
México

## RESUMEN

Se realizó la verificación del efecto bactericida que posee el dióxido de titanio contra *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853 a través de Diseño de Experimentos. El ensayo se realizó irradiando con luz ultravioleta con longitud 354 nanómetros y tiempos de exposición de 60 y 90 minutos en solución acuosa. El dióxido de titanio fue obtenido a través de sintetizar isopropoxido de titanio del que se pueden obtener múltiples aplicaciones en la industria y contar con un método alternativo de desinfección de superficies e instrumentos. El inóculo fue preparado en caldo nutritivo e incubado durante 16 horas a una temperatura de 36 grados centígrados.

Los resultados obtenidos confirman que los dos factores seleccionados reducen la densidad poblacional hasta en un 99.94 % de la bacteria *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853 con lo que se concluye que el dióxido de titanio tiene un efecto bactericida.

**(Palabras clave:** Efecto Bactericida, Dióxido de Titanio, *Pseudomona aeruginosa*)

## SUMMARY

Was verified the bactericidal effect that has the Titanium dioxide against *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853 through design of experiments. The test was performed by irradiating with ultraviolet light with 354 nanometers and exposure times of 60 and 90 minutes in aqueous solution. The Titanium dioxide was obtained through synthesize titanium isopropoxide which can obtain multiple applications in the industry and we can count whit a alternative method for surfaces and instruments disinfection. The inoculum was prepared in nutrient broth for 16 hours with 36 grades Celsius.

The results obtained confirm that the two factors selected reduce the density population until 99.94% of *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853, with that we conclude that de titanium dioxide has a bactericidal effect.

**(Key words:** Bactericidal effect, Titanium dioxides, *Pseudomona aeruginosa*)

**A mi Esposa, Padres y Hermanos  
Por su apoyo incondicional y constantes enseñanzas**

## **AGRADECIMIENTOS**

A los Doctores José Santos Cruz, Juan Ramiro Pacheco Aguilar, Sandra Mayén por abrirme las puertas en la realización de esta tesis así como de su paciencia, enseñanza desinteresada y pasión que transmiten en cada una de las tareas que desarrollan.

# INDICE

	<b>Página</b>
Resumen	i
Summary	ii
Dedicatorias	iii
Agradecimientos	iv
Indice	v
Índice de cuadros	vii
Índice de figuras	viii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISION DE LITERATURA	4
2.1 Infecciones Nosocomiales	4
2.2 <i>Pseudomona aeruginosa</i>	7
2.3 Calidad del producto	8
2.4 Radiación ultravioleta	10
2.5 Dióxido de titanio	11
2.6 Número más probable	13
2.7 Diseño de experimentos	13
2.8 Hipótesis	17
2.9 Objetivos	17
III. METODOLOGÍA	18
3.1 Materiales y equipo	18
3.2 Esterilizar material	18
3.3 Síntesis de dióxido de titanio	19
3.4 Caracterización del material	20
3.5 Preparación de inóculo	21
3.6 Determinación de la densidad celular inicial	22
3.7 Definición del diseño de experimentos	23
3.8 Realización del experimento	25

IV.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	28
4.1	Resultados	28
4.2	Discusión	33
4.3	Conclusiones	35
4.4	Recomendaciones	36
	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.	37
	APÉNDICE	43

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tablas</b>		<b>Página</b>
1	Microorganismos aislados de las infecciones Nosocomiales en orden de frecuencia.	5
2	Estadística asociada a Infecciones Nosocomiales	6
3	Factores seleccionados	23
4	Diseño Factorial	24
5	Resultados	28
6	Viabilidad perdida Pseudomona aeruginosa	32
7	Tiempos de irradiación de 15 y 30 minutos	43

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura</b>		<b>Página</b>
1	Esterilización del material	18
2	Síntesis del dióxido de titanio	19
3	Gráfica de reflectancia	20
4	Valor característico de banda prohibida TiO <sub>2</sub>	20
5	Máquina de incubación	21
6	Máquina de centrifugado	22
7	Lámpara de luz ultravioleta	25
8	Tubos esterilizados	25
9	Irradiación de Tratamientos	26
10	Evaluación de la presencia de <i>Pseudomona aeruginosa</i>	27
11	Análisis de Varianza	28
12	Modelo lineal general	29
13	Valores p	30
14	Interacción de los factores	30
15	Factores principales	31
16	Efectos significativos a 15 y 30 minutos	43



## I. INTRODUCCIÓN

La salud más que una definición es un derecho que se debe garantizar para cada individuo, la insatisfacción de la misma imposibilita el desarrollo tanto de la persona como de las entidades. Cada hombre cualquiera que sea su ocupación debería tener un compromiso social a través de las actividades que desempeña día con día ya que esto constituye un valor para la formación de mejores sociedades.

En las últimas décadas hemos experimentado un aumento en la longevidad de los individuos, sin embargo también es un hecho ineludible que esto no ha sido acompañado con una mejor calidad de vida siendo esta definida como la percepción subjetiva, influenciada por el estado de salud actual, de la capacidad para realizar aquellas actividades importantes para el individuo (Schumaker, Naughton, 1996).

Sin embargo este concepto tan difícil de precisar y más aun homologar por estar supeditado a la percepción individual, siendo esta el resultado del entorno e historial acumulado durante el andar de la vida de tal forma de manera general utilizaremos el concepto de calidad de vida como la percepción que cada sujeto tiene al desenvolverse e interactuar de manera física y social de modo individual o colectivo. Como lo menciona Laura Schnatzmann “La calidad de vida es una noción eminentemente humana que se relaciona con el grado de satisfacción que tiene la persona con su situación física, su estado emocional, su vida familiar, amorosa, social, así como el sentido que le atribuye a su vida entre otras cosas” (Schwartzmann Laura, 2003).

Uno de los aspectos que afectan de manera directa esta percepción son las enfermedades que nos aquejan y que necesitamos atender en centros especializados, sin embargo existen aquellas que pueden ser adquiridas en los mismos centros y son conocidas como Infecciones Nosocomiales (IN) y han

desatado un interés particular y de estudio en los últimos años. Por tal motivo es imprescindible el desarrollo de mecanismos que minimicen y/o erradiquen sus efectos.

Aunado a lo anterior Livermore DM (2002) mencionan que la resistencia de las bacterias hacia los antibióticos ha venido en aumento sobre todo en los pacientes ingresados a las áreas de cuidados intensivos.

Uno de los microorganismos que ha presentado incrementos de presencia es la *Pseudomona aeruginosa* de acuerdo a estudios realizados en Estados Unidos (Survillance Network Database) entre los años 1998 y 2000 reporto un incremento de 62 %, por tal motivo toma relevancia el desarrollo de nuevas de alternativas para abatir la presencia bacteriana sin el uso de antibióticos pero con eficacias sobresalientes.

De esto se desprende la importancia de desarrollar metodologías alternativas que hagan frente a la presencia de microorganismos y que a su vez no represente ningún riesgo para la salud .

El presente trabajo tuvo como objeto realizar la validación del efecto bactericida del Dióxido de titanio, específicamente con la bacteria gram negativa *Pseudomona aeruginosa*. La investigación se desarrollo en los laboratorios de la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Querétaro.

La comprobación del experimento se realizo a través de llevar acabo la síntesis del dióxido de titanio a partir de isopropóxido de titanio y posteriormente obtención de polvo el cual fue utilizado en solución acuosa.

La *Pseudomona aeruginosa* utilizada fue la ATCC 27853. Esta bacteria fue incubada durante 16 horas y depositada en tubos con una densidad poblacional de  $4.2 \times 10^6$  bacterias.

Posteriormente se llevo acabo la irradiación con luz ultravioleta de 354 nanómetros por tiempos de 60 y 90 minutos, se definió evaluar dicho experimento mediante un diseño de experimentos con 1 replica. El conteo de las bacterias fue realizado a través de la metodología del Número Mas Probable (NMP) mediante este método se realizan diluciones decimales y se determina la densidad poblacional del ensayo.

Se realizó el experimento de forma continua y con cada uno de los tratamientos de igual forma por la propia naturaleza del experimento, los resultados muestran un efecto bactericida importante en tiempos de exposición de 90 minutos.

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1 Infecciones Nosocomiales

“Las Infecciones Nosocomiales (IN) son consecuencia directa de la atención médica y se definen como aquellas que no estaban presentes o en periodo de incubación al momento en que el paciente ingresó al hospital”. (Ponce de León et al, 1999).

En Estados Unidos las Infecciones Nosocomiales se presentan en el 5.7% de los ingresos lo que representa 2.5 millones de pacientes (Harley RW et al, 1985). En México Ponce de León (1993) revela que en promedio las infecciones nosocomiales se encuentran entre un 10 % - 15 % lo que en términos de pacientes asciende a 750 000 casos de los cuales el 5 % de los mismos son mortales.

Los factores relevantes en los pacientes que influyen en la posibilidad de contraer una infección comprenden la edad, el estado de inmunidad, cualquier enfermedad subyacente, los pacientes con enfermedad crónica como tumores malignos, leucemia, diabetes mellitus, insuficiencia renal, o síndrome de inmunodeficiencia adquirida (sida) tienen una mayor vulnerabilidad a las infecciones por agentes patógenos oportunistas. Estos últimos son infecciones por microorganismos normalmente inoocuos que forman parte de la flora bacteriana normal del ser humano. (G. Ducel, , 2003).

Un seguimiento en el hospital Lic. Adolfo López Mateos realizado en el 2008 revelo que en un ejercicio en el cual se aislaron 1785 microorganismos de los cuales el 65 % fueron bacterias, 34.8 % hongos y 0.02 % virus (Tabla 1). Se destaca que el microorganismo *Pseudomona aeruginosa* se encuentra en el segundo lugar (Colmenero María de las Luz, Sánchez Alfredo, 2008). De igual

forma (M Bodi y J. Garnacho, 2007) menciona que *Pseudomona Aeruginosa* representa uno de los microorganismos responsables de Bacteriemia, Neumonía asociada a ventilación mecánica (NAV) (Cheol – In K, Hong – Bin K , et al) teniendo altos porcentajes de mortalidad y morbilidad los cuales oscilan entre 18% y 61% y confirma que su impacto sea mayor en pacientes neutropénicos e inmunodeprimidos.

Tabla 1 Microorganismos aislados de las infecciones nosocomiales en orden de frecuencia

Agente	Número de aislamientos	Porcentaje
Ninguno	1225	39.63%
<i>Candida albicans</i>	538	28.83%
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	370	19.83%
<i>Staphylococcus aureus</i>	172	9.22%
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	171	9.16%
<i>Klebsiella</i>	154	8.25%
<i>Escherichia coli</i>	135	7.23%
<i>Torulopsis glabrata</i>	38	2.04%
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	33	1.77%
<i>Candida parapsilosis</i>	28	1.50%
Otros	227	12.17%
Total	1866	100.00%

Colmenero Estrada Maria de Jesús

Estudios realizados en Estados Unidos muestran que las infecciones Nosocomiales pueden ocasionar estadías de entre 4 y 68 días lo cual ocasiona gastos adicionales que fluctúan entre los \$ 1833.00 y \$14 626.00 dólares (Chaudhuri AK, 1993). En México se realizó un estudio durante 12 meses en 1997 en cuidados intensivos de dos hospitales con el objeto de determinar los costos a los cuales se incurre por una Infección Nosocomial, los resultados muestran que durante el año se presentaron 102 casos de IN cuyo costo fue de 9, 353, 255

pesos y de donde obtenemos que el costo promedio por infección asciende a \$ 91 698.00 pesos, estos costos representan el 13.49 % del total del presupuesto asignado a estos hospitales (Navarrete Susana, Armengol Gerardo, 1999). Estos gastos merman de manera significativa el nivel de atención del hospital ya que con estas cantidades de dinero se podrían estar prestando mejores servicios y atención al usuario de manera resumida y para realizar una mejor comparación estos datos se presentan en la tabla 2.

Tabla 2 Estadística asociada a Infecciones Nosocomiales

<b>Pais</b>	<b>% de Ingresos con Infección Nosocomial</b>	<b>Número de Infecciones Nosocomiales por año.</b>	<b>Gastos promedio por Infección Nosocomial (pesos)</b>
<b>México</b>	10 % - 15 %	0.75 millones de personas	\$ 91, 698
<b>Estados Unidos</b>	5.70%	2.5 millones de personas	\$ 24,745 - \$ 197,451

Se han hecho esfuerzos para abatir este problema como lo menciona Ponce de León y colaboradores en donde compararon un programa de vigilancia y reporte de infecciones contra un programa que, además, incluía el establecimiento de medidas de control, y encontraron una disminución de 22% en el número de Infecciones Nosocomiales, lo cual representó un ahorro anual de 34 824 000 pesos (Ponce de León RS, et al, 1986).

## **2.2 *Pseudomona aeruginosa***

La *Pseudomona aeruginosa* es un bacilo gram-negativo aerobio (Kinska DL, Guilligan PH, 1999) el cual ha sido aislado del suelo, plantas, animales, agua, incluso humanos, considerado como un patógeno oportunista y requiere nutrimentos mínimos para sobrevivir, es tolerante a una amplia variedad de condiciones físicas y es resistente a agentes microbianos, es causante de diferentes enfermedades en el ser humano desprendidas de alteraciones en las defensas del individuo (Gales A.C., Jones R.N., Turnidge J., Rennie R., Ramphal R, 1999).

*Pseudomona aeruginosa* es una bacteria causante de enfermedades Nosocomiales (Harris A, Torres-Viera C, Venkataraman L, DeGirolami P, Samore M, Carmeli Y., 1999). La National Nosocomial Infection Surveillance menciona que en los datos recolectados entre el 1986 y 1998 fue el segundo causante de neumonía nosocomial, el tercero de infecciones urinarias, el cuarto de infecciones quirúrgicas y el séptimo patógeno aislado en la sangre (National Nosocomial Infection Surveillance, 1998).

Lo anterior exige la generación de nuevos productos y aunque en el mercado existen productos de limpieza a base de ácidos y bases existe la gran necesidad de un esfuerzo físico considerable aunado a que la mayoría de productos en el mercado de desinfección están catalogados como cancerígenos, productos que en Europa están prohibidos por ser perjudicables para la salud.

Es por ello que se requiere el desarrollo de un producto que realice la función de auto limpieza con miras a que las superficies no representen una fuente de contagio desprendido de la falta de cultura y conciencia de cada individuo. El dióxido de titanio por su capacidad de actuar como fotocatalizador es un candidato idóneo para funcionar como agente fungicida o bactericida ofreciendo la posibilidad de mantener las superficies libres de microorganismos.

### **2.3 Calidad del producto**

En las últimas décadas se han tenido avances tecnológicos importantes lo que ha generado grandes beneficios a la investigación, desarrollo de conocimiento y por ende nuevas tecnologías, tal es el caso de la modificación de materiales con elementos que mejoran su desempeño u ofrecen características adicionales. A través de la historia la calidad ha venido evolucionando hasta convertirse en piedra angular de las organizaciones mas reconocidas al día de hoy, no es para nadie desconocido que la calidad ha permitido alcanzar desarrollo y crecimiento así como un aumento considerable en la competitividad. A partir de 1970, los fabricantes japoneses, con la ayuda de consultores estadounidenses, como W. Edwards Deming y Joseph Juran, empezaron a hacer de la calidad una prioridad competitiva (Krejewski Judie, Ritzman Barbara, 2010).

Actualmente existen múltiples definiciones de Calidad, cada una de estas parecieran estar ligadas a la idiosincrasia de cada individuo al cumplimiento de expectativas reales o imaginarias que traen como resultado sensaciones de justicia o inequidad en cada uno de los mismos. Como menciona Bárbara W Tuchman (1993) “ Calidad es lograr o alcanzar el más alto nivel en vez de contentarse con lo chapucero o lo fraudulento ”

En la actualidad estas expectativas son cambiantes y cada vez más exigentes siendo reflejo del ritmo frenético en el que la misma sociedad esta inmersa, es ineludible que en las ultimas décadas el consumidor se ha vuelto un ente más analítico, consciente y demandante de cada uno de los productos que adquiere ya que no solo elegirá un producto por el cumplimiento de las especificaciones, precio y fechas de entrega sino aquellos productos que exceden sus expectativas impactando esto en su calidad de vida y el estatus que le genera dentro de la misma sociedad.

David A. Garvin en 1989 (Montgomery Douglas C., 2005) desarrolló un concepto el cual bautizó con el nombre de 8 dimensiones de la calidad, estas dimensiones se encuentran enfocadas en el producto y de las cuales se describe:

1. **Funcionamiento** ¿El producto funciona para lo que fue concebido?

Cientes potenciales usualmente evalúan un producto para determinar si este desarrolla funciones específicas y que tan bien las desarrolla.

2. **Confiabilidad** ¿Qué tan seguido falla el producto?

Productos complejos, como muchos aparatos, automóviles o aeroplanos pueden requerir algunas reparaciones a lo largo de su vida útil.

3. **Durabilidad** ¿Qué tanto tiempo el producto dura?

La edad efectiva de tiempo de vida. Los clientes obviamente quieren productos que funcionen satisfactoriamente a lo largo de un periodo prolongado de tiempo.

4. **Servicio** ¿Qué tan fácil es reparar el producto?

Existen muchas industrias en las cuales el punto de vista de calidad de los clientes esta directamente influenciado por que tan rápido y económica una reparación o rutina es realizada.

5. **Estética** ¿Cómo se ve el producto?

Esto es la apariencia visual del producto, tales como estilo, color, forma, empaque, etc.

6. **Características** ¿Qué es lo que el producto hace?

Usualmente, el consumidor asocia una alta calidad con los productos que tienen características adicionales, esto es esas que se tienen mas allá de las que la competencia tiene.

7. **Calidad Percibida** ¿Cual es la reputación de la compañía o de sus productos?

En muchos casos, los clientes dependen de la reputación de la compañía, esta reputación es claramente influenciada por las fallas que son visibles para él publico o “recalls” y como el cliente es tratado cuando ocurre este tipo de fallas.

**8. Cumplimiento a Estándares** ¿El producto esta hecho exactamente como el diseñador lo planeo?

Pensamos en productos de alta calidad como aquellos que alcanzan los requerimientos que plantean y/o que exceden nuestras expectativas.

## **2.4 Radiación ultravioleta**

La radiación ultravioleta es generada por el sol o a través de fuentes luminosas artificiales, dicha radiación crea ondas de alta frecuencia que conllevan gran contenido energético, por su longitud de onda la radiación ultravioleta se clasifica en:

Radiación Ultravioleta A : también llamada “luz negra” , próxima o de onda larga se caracteriza por tener longitudes entre 320 – 400 nm (nanómetros) del espectro electromagnético

Radiación Ultravioleta B : de onda media o de radiación de quemadura solar, con longitudes de onda entre 280 - 320 nm.

Radiación Ultravioleta C : de onda corta o radiación germicida, entre 200 – 280 nm (Amado Fúlver, Carballo Beatriz, Londoño Juan Luis, Restrepo Hernando, Silva José Ignacio, 1997). La radiación C tiene su máximo punto de emisión a 254 nm y en cuyo pico presenta su mayor acción germicida (Artes F., Allende A., 2005).

Como lo menciona Snowball y Hornsey (1988) la acción de irradiar con luz ultravioleta C consiste en el daño que esta causa a la estructura del ADN generando mutaciones que bloquean la reproducción celular la cual si no es reparada conduce a la muerte celular.

## 2.5 Dióxido de titanio

Actualmente se requieren productos innovadores que ofrezcan ventajas a los usuarios en cada uno de los rubros en los que el hombre se desenvuelve el campo ambiental no ha sido la excepción, actualmente existen un número considerable de productos que a través de investigaciones y la aplicación de técnicas bien instrumentadas han dado como resultado productos que ofrecen nuevas características enfocadas a la mejora de su funcionalidad y en los últimos años a la sustentabilidad.

Un caso particular es el de los productos utilizados para el tratamiento de contaminantes, las técnicas utilizadas pueden dividirse en físicas, químicas y biológicas. Dentro de las técnicas físicas y químicas se encuentran las llamadas Tecnologías Avanzadas de Oxidación (TAO) (Doménech X, Jardim W, Litter Marta, 2001). Estas se basan en procesos fisicoquímicos capaces de producir cambios profundos en la estructura química de los contaminantes, mediante la generación de especies transitorias muy reactivas, principalmente el radical hidroxilo HO<sup>•</sup>.

En el caso muy particular del uso de semiconductores el dióxido de titanio (TiO<sub>2</sub>) es utilizado para el tratamiento de aguas (Fujishima A., Honda K., 1972) en donde se le dio uso a las propiedades fotocatalíticas que presenta este semiconductor con ayuda del sol o una fuente de energía ultravioleta para su descontaminación. Un semiconductor lo podemos definir en cuanto a sus propiedades fisicoquímicas como un material con conductividad intermedia entre los metales y los aislantes ( $1 \times 10^{-6}$  y  $1 \times 10^8$   $\Omega$ -cm respectivamente) o sus propiedades en estado sólido que es su ancho de banda prohibida entre 0.1-6 eV (Mckelvey J.P, 1994).

La característica que se explorará será la de fotocatalizador con la cual este tiene la capacidad de degradar compuestos orgánicos. La fotocatalisis es una Tecnología Avanzada de Oxidación que busca transformar cuantitativamente la materia orgánica logrando la mineralización completa de ésta. Se basa en la absorción directa o indirecta de energía radiante (luz visible o ultravioleta) por un sólido (un semiconductor de banda ancha). En la región interfacial entre el sólido excitado y el contaminante a degradar, tienen lugar reacciones de óxido-reducción que propician la destrucción de éste (Fujishima A., Honda K., 1972). De otra forma, la fotocatalisis consiste en la absorción de radiación ultravioleta o visible, para la generación de un par hueco-electrón en el semiconductor por la transición de electrones de la banda de valencia (BV) a la banda de conducción (BC), y la participación de las especies foto generadas en reacciones óxido-reducción en las que el hueco en la BV es fuertemente oxidante y el electrón en la BC es moderadamente reductor (Doménech X, Jardim W, Litter Marta, 2001).

En el caso de microorganismos desde bacterias hasta virus, la interacción con las moléculas de agua y oxígeno absorbidas en la superficie de la partícula, generan en el medio los iones superóxido ( $O_2^-$ ) y los radicales hidroxilo ( $OH^-$ ) de corta duración y altamente reactivos, que reaccionan con los tejidos externos de microorganismos tales como las bacterias rompiendo sus cadenas de ADN y generando una destrucción del mismo (Fujishima, Rao T., Tryk D., 2000).

Esta propiedad ha sido explorada por algunos grupos de investigación, existen aplicaciones como en esmaltes (Abad Pablo, Restrepo Carlos, 2006) en donde explora la factibilidad de diseñar un producto el cual es aplicado sobre piezas cerámicas y en cuyo estudio utiliza *Escherichia coli* como microorganismo. Películas antibacteriales (Miron C., Roca A., Hoisie S., Cazorici P, Sirgui L., 2004) en esta investigación se hace énfasis en ver los resultados sobre bacterias como *Diplococcus pneumoniae*, *Staphylococcus* y *Escherichia coli*. En recubrimientos de áreas urbanas en Japón (Osrum L., 2010). En azulejos brillantes y opacos para ver la afectación que tiene sobre la *Salmonella* (Szcawinski Jacek, Tomaszewski

Henryk, Tracz Agnieszka Jackowska, Szczawinska Malgorzata Ewa, 2010). En Brackets cerámicos para la ortodoncia (Özyldiz F et al, 2010). C.Y. Flores (2010) hace referencia al uso de dióxido de titanio modificado con plata con el objeto de reducir el riesgo de infección de implantes ya que es esta una de las principales causas de falla de aceptación por parte del organismo.

## **2.6 Número más probable**

La metodología del número más probable permite estimar la densidad poblacional sin llevar a cabo un conteo ni de colonias ni de células de forma individual, sino más bien es un método que indica la existencia o extinción del microorganismo.

La técnica del número más probable se encuentra basada en la determinación de la presencia o inexistencia de microorganismos en diferentes alícuotas desprendidas de diluciones decimales realizadas de manera consecutiva. Su presencia es determinada a través de transformaciones que el microorganismo genera en el medio en el cual es inoculado.

## **2.7 Diseño de experimentos**

El diseño de experimentos se define como un conjunto de técnicas activas que manipulan el proceso para inducirlo a proporcionar la información que se requiere para mejorarlo (Gutiérrez Humberto, De la Vara Román, 2004). Otra definición maneja que el diseño de experimentos es la aplicación del método científico para generar conocimiento acerca de un sistema o proceso. En el diseño experimental se planea un conjunto de pruebas experimentales de manera que los datos generados puedan ser analizados estadísticamente para poder obtener conclusiones válidas y objetivas.

Montgomery (2004) comenta que el diseño de experimentos ha tenido cuatro eras. La **primera** fue la Agrícola en la cual Sir Ronald A. Fisher en los años 20's y 30's desarrollo los 3 principios básicos del diseño experimental:

1. Realización de replicas, lo cual se entiende por la repetición del experimento básico y permite obtener una estimación del error experimental así como estimar el efecto de un factor en el experimento.
2. La aleatorización la cual forma parte fundamental del uso de los métodos estadísticos en el diseño experimental e involucra tanto la asignación de material experimental como el orden en el que se realizan las corridas todo esto con el objetivo de considerar los promedios de los efectos de los factores extraños que pudieran presentarse durante la realización del experimento.
3. Formación de Bloques lo cual es una técnica de diseño para mejorar la precisión de las comparaciones entre los factores de interés y “ aislar” de cierta forma los factores que no son caso de estudio.

La **segunda** Era o Industrial se presenta con el desarrollo de la metodología de superficie de respuesta (MSR) por parte de Box y Wilson los cuales introdujeron el concepto de *inmediatez y secuencialidad*.

Donde la inmediatez tiene que ver en que se observe que en la industria el experimentador puede obtener información de la variable de respuesta casi de inmediato. La secuencial va ligada al hecho que el experimentador puede obtener información clave de un grupo de corridas y planear el siguiente experimento.

La **tercera** era comienza a finales de los 70's con el trabajo de Genichi Taguchi lo que denomino el diseño paramétrico robusto es decir:

1. Hacer procesos insensibles a los factores ambientales o de otra especie que son difíciles de controlar.

2. Fabricar productos insensibles a la variación que se transmite por los componentes
3. Determinar los niveles de las variables del proceso que obliguen a la media a un valor deseado reduciendo al mismo tiempo la variabilidad en torno a este valor.

La **cuarta** era comienza después de las aportaciones de Genichi Taguchi y las controversias desatadas a partir de sus aportaciones lo cual ha traído como consecuencia un renovado interés en el diseño de experimentos y en el desarrollo de nuevas técnicas para los problemas experimentales del ámbito industrial.

Actualmente existen diferentes enfoques del diseño de experimentos (Tanco Martín, Viles Elisabeth, Pozueta Lourdes, 2009) Enfoque Clásico, Enfoque de Taguchi, Enfoque de Shainin, los cuales presentan ventajas y desventajas sin embargo cualquiera de ellos representa una mejor opción que la estrategia factor a la vez el cual es a todas luces menos eficiente y mas costoso por consecuencia.

Ventajas del diseño de experimentos (Montgomery Douglas C, 1991).

- El número de pruebas requerido puede determinarse con certeza y a menudo puede reducirse.
- La exactitud de las conclusiones se conoce con una precisión matemática definida.
- La comparación de los efectos de los cambios es más precisa debido a la agrupación de resultados.
- Debe enfocarse la atención a las interrelaciones y a la estimación y cuantificación de fuentes de variabilidad en los resultados.
- Se enfatiza respecto a las alternativas anticipadas y respecto a la planeación sistemática, permitiendo la ejecución por etapas y la producción única de datos útiles para el análisis en combinaciones posteriores.

Adicional a esto Montgomery (2004) comenta que las pautas para diseñar experimentos son:

1. Identificación y enunciación del problema
2. Elección de los factores, los niveles y los rangos
3. Selección de la variable de respuesta
4. Elección del diseño experimental
5. Realización del experimento
6. Análisis estadístico de los datos
7. Conclusiones y recomendaciones

Objetivos del Diseño de Experimentos (Montgomery Douglas C, 1991).

1. Determinar cuales son la variables que tienen mayor influencia sobre la respuesta "Y".
2. Determinar cual es el ajuste de las "X's" que tiene mayor influencia para que "Y" este casi siempre cerca del valor deseado.
3. Determinar cual es el ajuste de las "X's" que tiene mayor influencia para que la variabilidad de y sea reducida.
4. Determinar cual es el ajuste de las "X's" que tiene mayor influencia para que los efectos de las variables no controlables  $z_1, z_2, z_3, \dots, z_q$  sean mínimos.

El Diseño de Experimentos nos permitirá evaluar la característica de funcionalidad en la aplicación de películas de dióxido de titanio y cuya meta será realizar la comprobación de que el producto a través de la adición de una característica (fungicida) excedería las expectativas del cliente.

El producto será evaluado a través de la utilización de un diseño de experimentos el cual nos permitirá discernir la afectación que se tiene con la utilización de películas de dióxido de titanio.

## **2.8 Hipótesis**

El uso de Dióxido de Titanio expuesto a luz ultravioleta afecta de manera significativa la bacteria *Pseudomona aeruginosa* siendo significativo un valor p menor a 0.05.

## **2.9 Objetivos**

1. Determinar si la aplicación de dióxido de titanio afecta de manera significativa la presencia de *Pseudomona aeruginosa*.
2. Determinar si el tiempo de irradiación con luz ultravioleta afecta de manera significativa la existencia de *Pseudomona aeruginosa*.
3. Determinar si el dióxido de titanio irradiado con luz ultravioleta puede considerarse como un compuesto desinfectante.

### III. METODOLOGÍA

El experimento se realiza en el laboratorio de Químico Agrícola y en el de Ingeniero Químico en Materiales ubicados en la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Querétaro.

#### 3.1 Materiales y equipo

1. Caja porta muestras
2. Vaso de precipitados
3. Vasos para muestras
4. Jabón Líquido
5. Tubos de ensayo
6. Agua destilada
7. Isopropóxido de Titanio marca Aldrich    Peso Molar (g/mol) 284.86  
Densidad (g/mL) .955, Pureza (%) 97.

#### 3.2 Esterilizar material

1. Lavar cada uno de los materiales con jabón extrán
2. Cubrir cada uno de los contenedores con papel aluminio esto con el fin de no contaminarlos con el mismo condensado del vapor.
3. Esterilizar el material colocándolo a 121 ° C y una presión de 1.15 Libras durante 15 minutos.



Figura 1 Esterilización del material

### 3.3 Síntesis de Dióxido de titanio.

La síntesis de la solución precursora se lleva a cabo de acuerdo a lo que menciona Sandra Mayen (2006) como se describe a continuación.

Solución precursora de dióxido de titanio ( $\text{TiO}_2$ ) :

1. Disolver isopropóxido de titanio en atmósfera inerte (de nitrógeno de ultra-alta-pureza) en etanol (concentración 1M).
2. Mantener la solución en agitación constante, agregar 1 mL de  $\text{HNO}_3$  0.05 M y 5 moles de agua desionizada por mol de isopropóxido.
3. Retirar la solución de la atmósfera inerte.
4. Dejar reposar la solución por 2 horas.
5. Evaporar los solventes a una temperatura de 60 °C por 1 hora en atmósfera abierta.
6. Sinterizar el polvo obtenido en el paso 5 en atmósfera abierta a una temperatura de 450 °C por 2 horas.
7. Dejar enfriar hasta temperatura ambiente y almacenar.

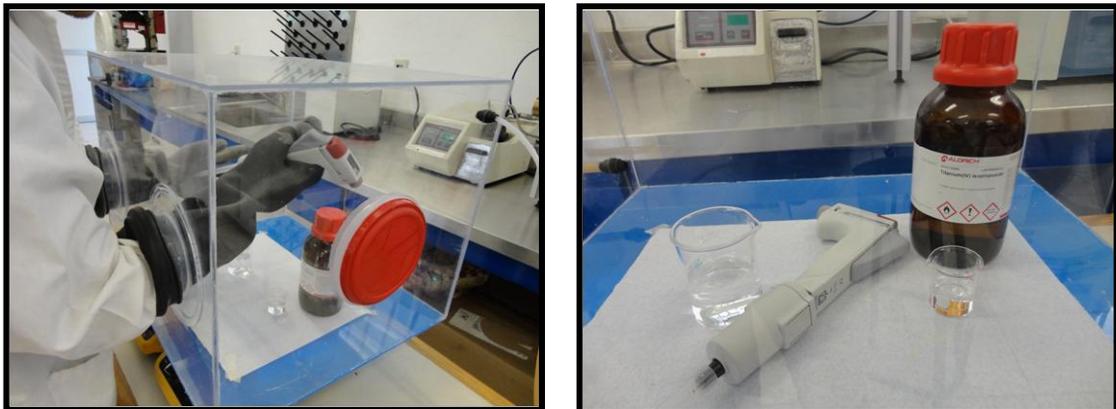


Figura 2 Síntesis de dióxido de titanio

### 3.4 Caracterización del material

Se comprueba que el compuesto obtenido es efectivamente dióxido de titanio mediante un espectro de reflectancia (figura 3).

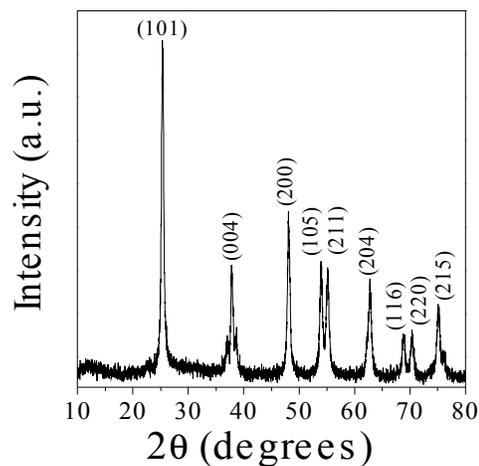


Figura 3 Gráfica de reflectancia

De igual forma se obtiene el valor de la banda prohibida obteniendo un valor de 3.18 eV (figura 4) el cual es un valor característico del dióxido de titanio y con lo cual se reafirma que el compuesto obtenido es dióxido de titanio.

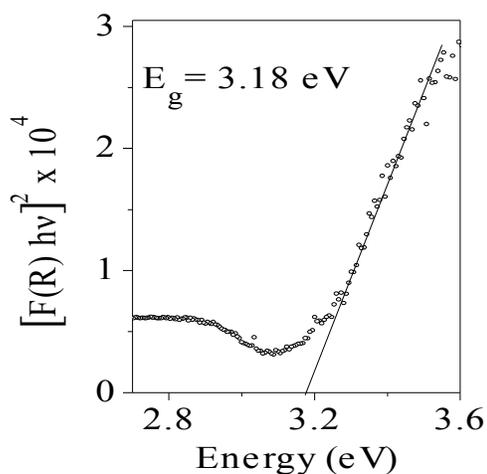


Figura 4 Valor característico de banda prohibida TiO<sub>2</sub>

### 3.5 Preparación del inoculo

1. Llenar un vaso hasta 125 mL con la solución preparada.
2. Tomar un palillo y raspar la bacteria de la cepa, la cepa utilizada fue *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853.
3. Depositar el palillo en el frasco con la solución nutritiva y disolver en un mínimo de volumen en tubos previamente esterilizados
4. Colocar la *Pseudomona* en la Maquina de agitación (figura 5) a una temperatura de 36 grados centígrados y 150 revoluciones por minuto y durante 16 horas.

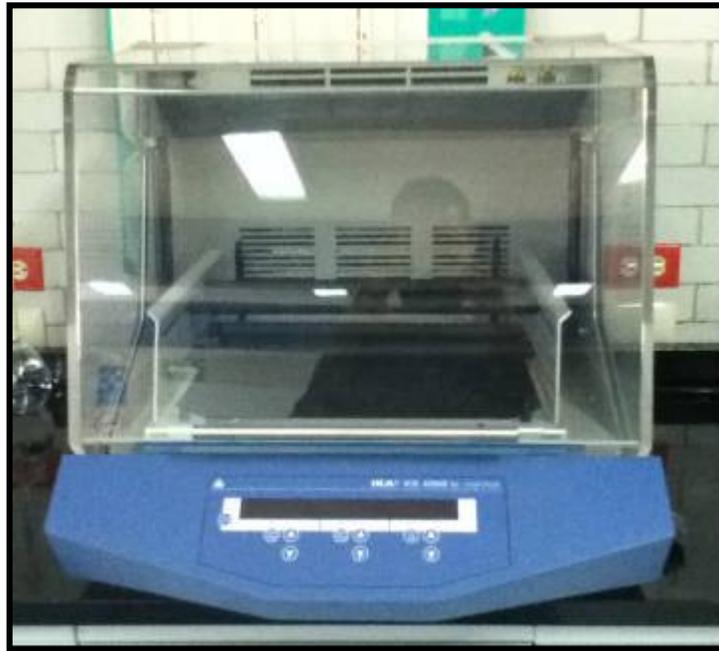


Figura 5 Maquina de incubación

5. Obtener la pastilla de células mediante centrifugación con ayuda de la máquina de centrifugado (figura 6) durante 10 minutos a 3100 revoluciones por minuto y/o 1228 fuerzas g.



Figura 6 Máquina de centrifugado

### 3.6 Determinación de la densidad celular inicial

1. Se hicieron disoluciones decimales de tal forma que al colocar 1 mL en la cámara de Neubauer se pudiera hacer el conteo.
2. Se realiza el conteo de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) con ayuda de un microscopio obteniendo una densidad celular inicial de  $4.24 \times 10^7$  bacterias.
3. Se hace una disolución decimal de tal forma que nuestra densidad celular comienza en  $4.24 \times 10^6$  bacterias.

### 3.7 Definición del diseño de experimentos

#### 3.7.1 Identificación y enunciación del problema

Se requiere determinar si el Dióxido de Titanio y la exposición a luz ultravioleta afectan de manera significativa la presencia de *Pseudomona aeruginosa*.

#### 3.7.2 Elección de los factores, los niveles y los rangos

Se seleccionan 2 Factores con dos niveles (ver tabla 3) siendo el primero el dióxido de Titanio cuyos niveles se definieron como bajo aquel que en el cual no hay presencia de dióxido de titanio y alto en el cual si existe presencia de dióxido de titanio en una concentración de 0.5 mg/L. El segundo factor es el tiempo de irradiación con luz ultravioleta con longitud de onda de 365 nanómetros cuyo nivel bajo fue definido en 60 minutos de exposición y el nivel alto en 90 minutos continuos de exposición. Cada uno de los niveles fueron definidos en base a la revisión bibliografía publicada de *Pseudomona aeruginosa*.

Tabla 3 Factores seleccionados

Factores	Nivel Bajo	Nivel Alto
Dióxido de Titanio	Sin TiO <sub>2</sub>	Con TiO <sub>2</sub>
Tiempo Irradiación con Luz UV	60 min	90 min

#### 3.7.3 Selección de la variable de respuesta

La variable de respuesta esta definida en densidad poblacional de *Pseudomona aeruginosa* desprendida del conteo a través de la metodología del Número Más Probable y esta se encuentra definida en número de bacterias.

### 3.7.4 Elección del diseño experimental

Dado que solo se analizarán 2 factores con dos niveles se realiza un diseño factorial completo con 2 factores, 8 corridas, 2 Replicas ( tabla 4 ).

Tabla 4 Diseño Factorial

StdOrder	RunOrder	CenterPt	Blocks	Recubrimiento	Tiempo
2	1	1	1	Con TiO2	60
6	2	1	1	Con TiO2	60
5	3	1	1	Sin TiO2	60
7	4	1	1	Sin TiO2	90
3	5	1	1	Sin TiO2	90
1	6	1	1	Sin TiO2	60
4	7	1	1	Con TiO2	90
8	8	1	1	Con TiO2	90

Dada la naturaleza del experimento solo se requerirán 4 tratamientos los cuatro restantes serán exactamente los 4 iniciales solo que estos se expondrán 30 minutos adicionales a la luz ultravioleta ya que la bacteria tiende a reproducirse a través del tiempo y de no realizarse así arrojaría resultados diferentes.

### 3.8 Realización del experimento

3.8.1 Se coloca la lámpara de luz ultravioleta de 9 w (ver figura 7) a una distancia de 4 cm sobre las soluciones elaboradas con una longitud de 365 nanómetros.



Figura 7 Lámpara de luz ultravioleta

3.8.2 Se preparan los tratamientos colocando en tubos esterilizados 100 microlitros de células, 350 microlitros de  $\text{TiO}_2$  y 550 microlitros de Agua. En aquellos tratamientos en los cuales no consideran  $\text{TiO}_2$  estaban comprendidos por 100 microlitros de células y 900 microlitros de agua (figura 8).



Figura 8 Tubos esterilizados

3.8.3 Dada la naturaleza del experimento solo se prepararon 4 tratamientos ya que los 4 restantes fueron los mismos pero con una exposición de 30 minutos adicionales por la naturaleza misma del experimento ya que al tratar con bacterias estas tienden a reproducirse a través del tiempo lo cual de no ser considerado podría ocasionar un error al momento de analizar los datos

3.8.4 Irradiar cada uno de los tratamientos el tiempo definido de acuerdo a la figura 9.

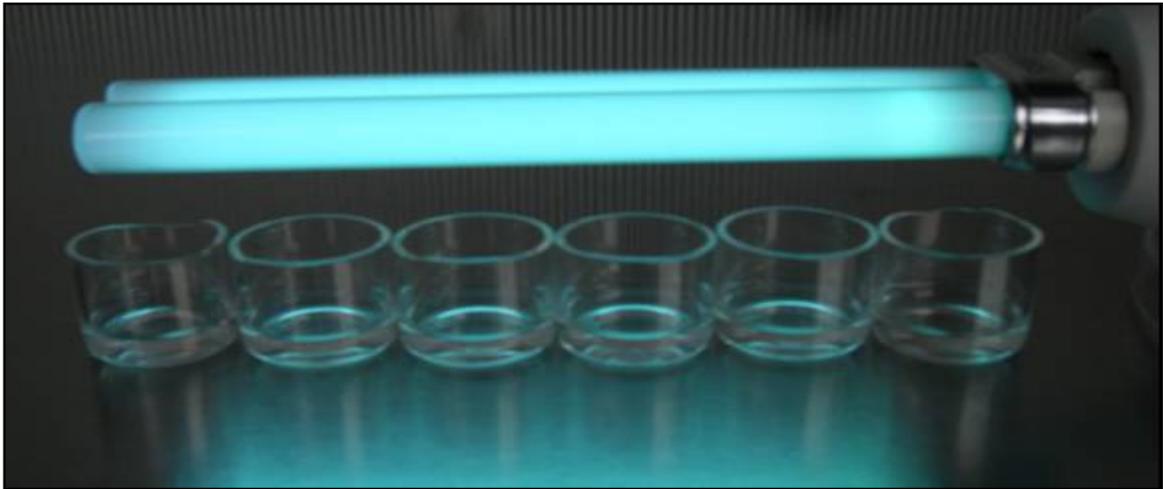


Figura 9 Irradiación de tratamientos

3.8.5 Una vez terminado el tiempo de exposición se procedió a realizar 5 diluciones decimales provenientes de los tratamientos irradiados con el fin de determinar mediante el método del número más probable la densidad poblacional de la *Pseudomonas aeruginosa*.

3.8.6 Se incuban las *Pseudomonas aeruginosas* en caldo nutritivo a una temperatura de 36 ° C, por 72 horas, después fueron registrados como positivos los tratamientos que presentaron un color verduzco (figura 10b) lo cual indica la presencia de *Pseudomona aeruginosa*.

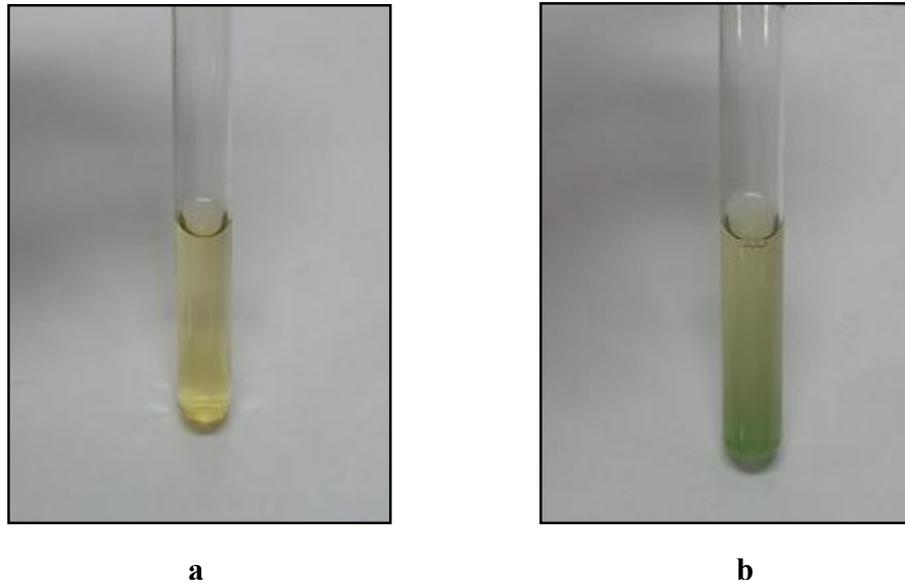


Figura 10 Evaluación de presencia de *Pseudomona aeruginosa*

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1 Resultados

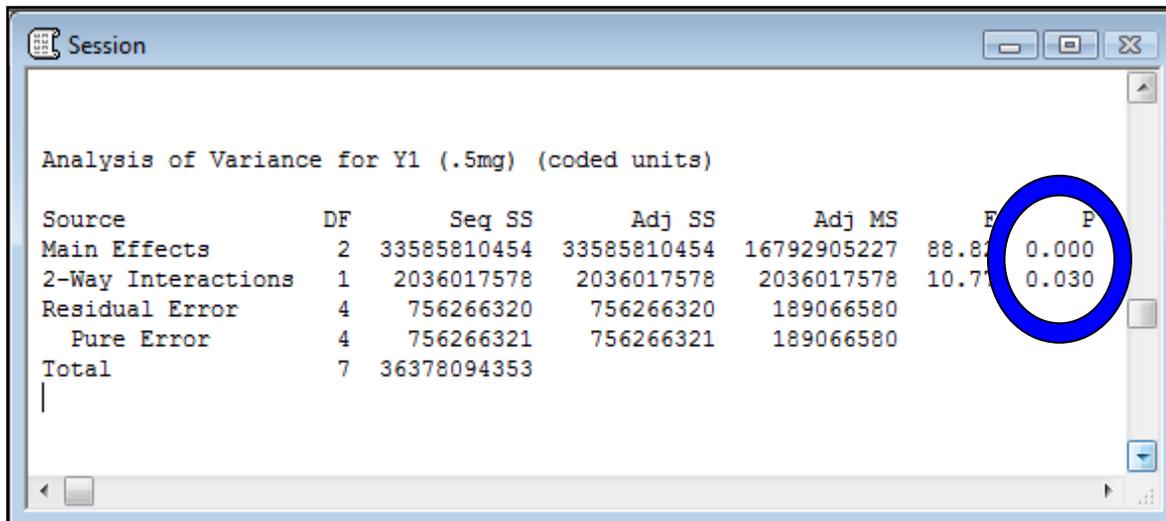
Desprendido del conteo realizado de *Pseudomona aeruginosa* se muestra en la tabla 5 las densidades poblacionales por cada tratamiento.

Tabla 5 Resultados

StdOrder	RunOrder	CenterPt	Blocks	Recubrimiento	Tiempo	Y1 (.5mg)
1	1	1	1	Sin Recubrimiento	60	169028
2	2	1	1	TiO2	60	12752
3	3	1	1	Sin Recubrimiento	90	107022
4	4	1	1	TiO2	90	47
5	5	1	1	Sin Recubrimiento	60	169028
6	6	1	1	TiO2	60	21589
7	7	1	1	Sin Recubrimiento	90	69148
8	8	1	1	TiO2	90	33

Se corre el análisis estadístico en el programa Minitab 15 con un nivel de confianza del 95% y cuyos resultados se describen a continuación:

La figura 11 se muestra una tabla de análisis de varianza en la cual se observa que tanto los factores principales como la interacción entre ellos son significativos ya que se observa un valor p menor a 0.05.



```
Session

Analysis of Variance for Y1 (.5mg) (coded units)

Source          DF      Seq SS      Adj SS      Adj MS      F      P
Main Effects    2      33585810454    33585810454    16792905227    88.82    0.000
2-Way Interactions  1      2036017578     2036017578     2036017578    10.71    0.030
Residual Error  4       756266320      756266320      189066580
  Pure Error    4       756266321      756266321      189066580
Total          7      36378094353
```

Figura 11 Análisis de Varianza

La figura 12 muestra el detalle obtenido al realizar un análisis de varianza mediante el método de modelo lineal general el cual detalla cada uno de los factores seleccionados así como de la interacción.

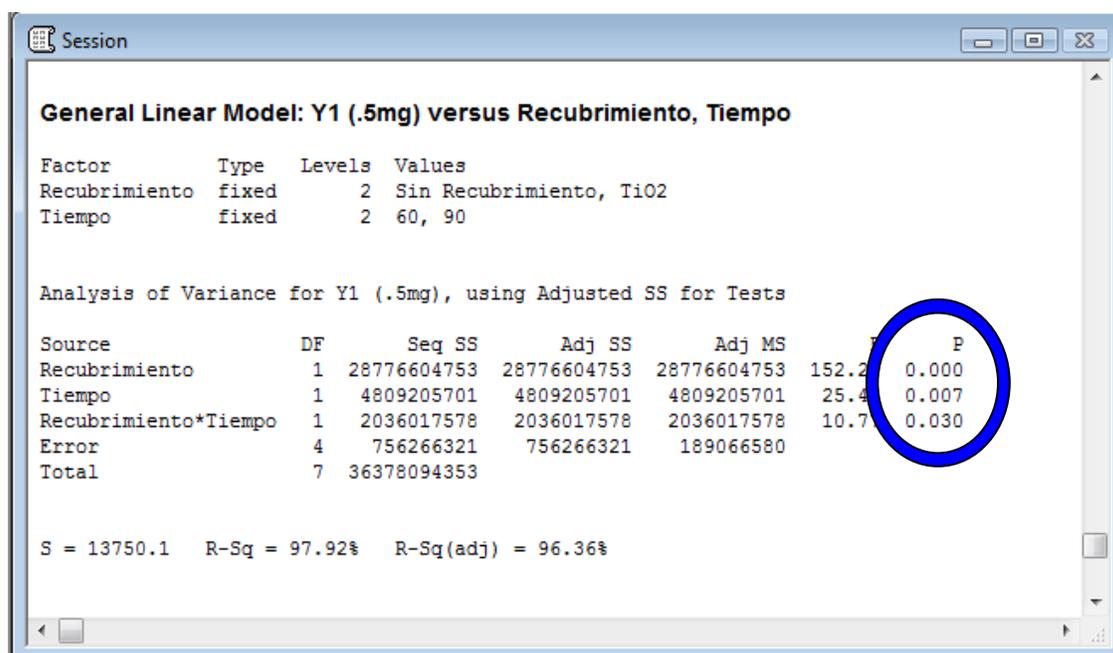


Figura 12 Modelo lineal general

Al observar el detalle por factor en el la figura 13 se observa que el dióxido de titanio, el tiempo de exposición a luz ultravioleta y la interacción entre ambos factores son significativos al observarse un valor p menor a 0.05 y por tanto impactan de manera significativa la respuesta, es decir los factores impactan de manera significativa la densidad poblacional de la *Pseudomona aeruginosa*, siendo el dióxido de titanio el de mayor impacto sobre la misma. De relevancia se observa que el modelo definido explica un 96.36% del comportamiento de la variable de respuesta lo cual nos da la tranquilidad que los dos factores

seleccionados son adecuados y no estamos dejando algún otro factor importante de lado para esta experimentación.

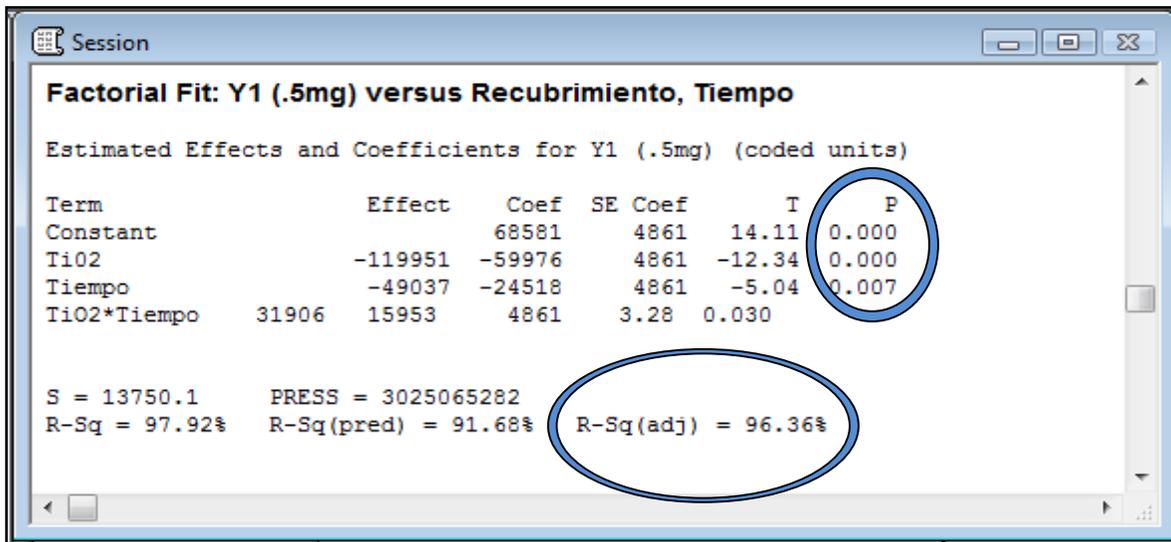


Figura 13 Valores p

De manera visual podemos observar los resultados mencionados en la figura 14 en donde se tiene la gráfica de interacción entre los dos factores y en la cual se observa que el efecto es mayor con la combinación de los dos factores lo cual es lógico ya que el dióxido de titanio requiere de una energía externa para poder reaccionar.

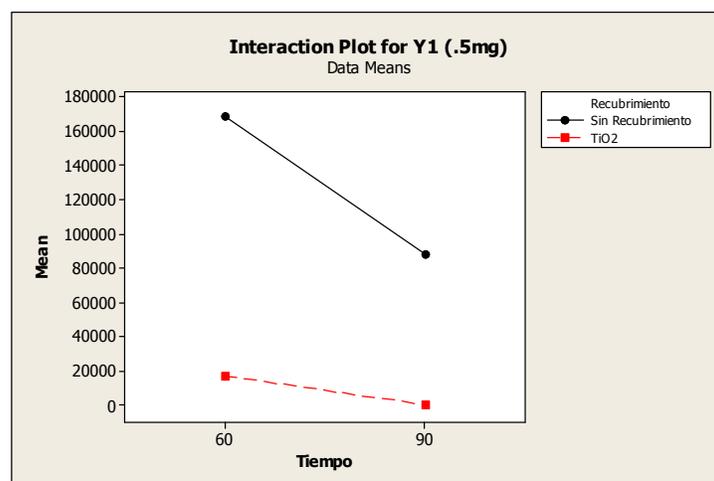


Figura 14 Interacción de los Factores

En la figura 15 observamos cada factor con cada uno de sus niveles, se observa que ambos factores en sus niveles altos tienden a presentar una menor densidad poblacional con lo cual podemos afirmar que tanto el dióxido de titanio como el tiempo de exposición a la luz ultravioleta tienen un efecto bactericida y pueden ser utilizados como inhibidores de la densidad poblacional de *Pseudomona aeruginosa* y ser aplicados en diversas superficies e instrumentos.

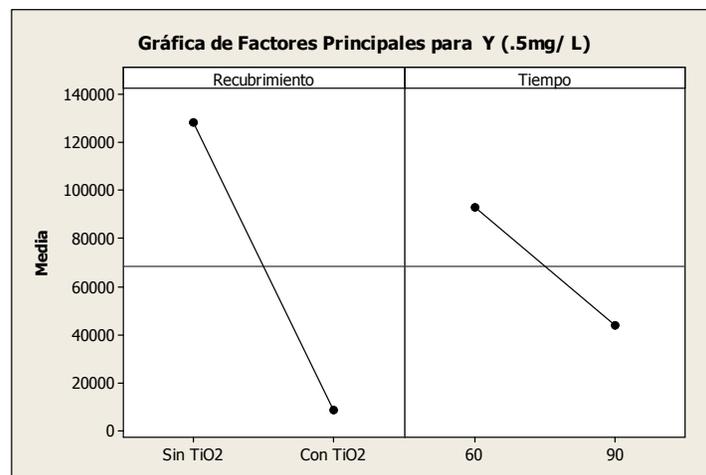


Figura 15 Factores principales

En la tabla 6 se muestran los promedios del experimento observándose que existe una diferencia hasta de 4 exponentes entre los tratamientos expuestos a irradiación durante 90 minutos con y sin dióxido de titanio, es decir alcanzando un porcentaje de viabilidad perdida de hasta el 99.95% la cual se incrementa a 99.976% si se considera la diferencia entre el tratamiento sin dióxido de titanio irradiado 60 minutos contra el tratamiento con dióxido de titanio irradiado 90 minutos. De ser comparado con el conteo inicial se observa una disminución de densidad poblacional que va desde  $4.24 \times 10^6$  bacterias hasta  $4.0 \times 10^1$  bacterias lo cual indica una disminución de 5 exponentes.

Tabla 6 Viabilidad perdida *Pseudomona aeruginosa*

	Tiempo de Exposición	
	60 min	90 min
Sin dióxido de titanio	169028	88085
Con dióxido de titanio	17171	40
Porcentaje de Viabilidad Perdida	89.841%	99.955%

## 4.2 Discusión

Existen artículos que miden la eficacia del dióxido de titanio a través de diferentes “salidas” Jorge A Ibáñez (2003 ) utiliza unidades formadoras de colonias y describe que los efectos del dióxido de titanio y luz ultravioleta son letales ya que muestran un rápido descenso en la curva de supervivencia en 4 exponentes de magnitud después de 40 minutos de irradiación y un porcentaje de viabilidad pérdida de 99.943%. Chamorn (2007) en su experimento con Escherichia Coli muestra una disminución de unidades formadoras de colonia de 3 exponentes después de irradiar con luz ultravioleta con longitud de onda de 300 a 400 nanómetros durante 180 minutos, por su parte Jacek Szczawínski (2010) evalúa el efecto bactericida usando unidades formadoras de colonias la luz ultravioleta usada fue de 253.7 nanómetros y hace notar que la superficie en la cual es aplicada puede incidir en los resultados dependiendo de la capacidad de absorción y lisura de la misma. Oscar E. Ledea et al evalúa los efectos del aceite de girasol ozonizado definiendo como respuesta la pérdida de iones de potasio lo que indica una alteración en permeabilidad de la membrana citoplasmática, de igual forma en el mismo artículo utilizan los grupos sulfidrilos de la bacteria lo cual implica un daño bioquímico en la célula bacteriana.

Igual que la diversidad de la aplicación del dióxido de titanio y las condiciones de experimentación existe una gran diversidad para evaluar la significancia de los factores involucrados en la capacidad bactericida del compuesto, Özyldiz (2010) evaluó la eficacia del recubrimiento de dióxido de titanio a través de la utilización de la prueba de Turkey´s y la prueba de mínima diferencia significativa (LSD) con un nivel de significancia del .05 en este artículo se evaluó la eficacia del recubrimiento tomando una muestra inicial microbiológica en la cual se determina el tamaño de la población del microorganismo y se compara con un conteo final del mismo. Jacek Szczawinski (2010) evaluó el efecto que tiene el dióxido de titanio irradiado utilizando una tabla de Análisis de Varianza (ANOVA) la cual muestra ventajas en la interpretación y conclusión respecto al

artículo expuesto por F.Özyldiz (2010) ya que permite vislumbrar el efecto que tiene cada factor sobre la respuesta y no solamente definir si existe o no afectación de todo el proceso como tal.

En el artículo referente a implantes metálicos Koutaro Shiraishi (2008) concluye mediante la utilización de un análisis de varianza seguido de una prueba de Duncan's con un nivel de significancia de 0.05.

En nuestro caso observamos que la suma de los efectos tanto de dióxido de titanio como del tiempo de exposición a la luz ultravioleta arroja disminuciones de 5 ordenes con respecto al conteo inicial y de 4 ordenes dentro de los tratamientos del experimento y un porcentaje de viabilidad perdida a los 90 minutos de exposición de 99.95% confirmando con ello la letalidad del procedimiento. En lo concerniente a la determinación de la significancia de los factores utilizamos la metodología de un Diseño de experimentos con el fin de tener una experimentación bien controlada y planeada con el objeto de incrementar la probabilidad de éxito en nuestro experimento.

Al ser tan extenso el material existente no podemos asegurar que nadie haya utilizado un Diseño de Experimentos como herramienta para planear el experimentos y evaluar la eficacia del material pero al menos de los artículos revisados no se ha detectado el uso de esta herramienta lo cual traería beneficios en la interpretación, experimentación y planeación de la optimización de los resultados.

### 4.3 Conclusiones

Se confirma la hipótesis nula en la cual se observa que el dióxido de titanio irradiado con luz ultravioleta tiene un efecto bactericida sobre la bacteria *Pseudomona aeruginosa* mostrando valores de viabilidad perdida de hasta 99.976%, por lo cual es factible utilizar este compuesto químico como alternativa de desinfección en superficies e instrumentos ya que de acuerdo a Fraise (2008) se considera un material como desinfectante si reduce en 5 exponentes la densidad poblacional del microorganismo.

Los dos factores seleccionados tanto el tiempo de irradiación con luz ultravioleta como la presencia de dióxido de titanio afectan la densidad poblacional de la *Pseudomona aeruginosa* disminuyendo en 5 logaritmos la presencia de la misma mostrando que la interacción entre los dos factores exponencia su capacidad bactericida.

El modelo seleccionado explica el 96% de la variación de la densidad poblacional de *Pseudomona aeruginosa*.

#### **4.4 Recomendaciones**

Realizar exploraciones modificando tanto las concentraciones de  $\text{TiO}_2$  como las longitudes de onda de la luz ultravioleta con el fin de minimizar el tiempo de irradiación con luz ultravioleta con lo cual su aplicación sea más factible.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Abad Pablo, Restrepo Carlos: Desarrollo de propiedades bactericidas en esmaltes para cerámica sanitaria. Rev. Acad. Colomb. Cienc. 30 (116): 387-396. 2006. ISSN0370-3908.

Artes F, Allende A., (2005), Processing lines and alternative preservation techniques to prolong the self-life of minimally fresh processed leafy vegetables. Eur. J. Hort. Sci. 70:231-245.

Castillo Vera Jane, Ribas Aparicio Rosa María, Osorio Carranza Lourdes, Aparicio Gerardo. Cepas de Pseudomonas aeruginosa de origen hospitalario multirresistentes a 21 antibióticos (2006).

Castro Camilo A., Alba L. Arámbula<sup>2</sup>, Aristóbulo Centeno<sup>1</sup>, Sonia A. Giraldo Degradación Heliocatalítica de Escherichia coli en Sistemas tipo Desinfección SODIS, con Dióxido de Titanio Modificado (2009).

Chamorn Chawengkijwanich, Yasuyoshi Hayata Development of TiO<sub>2</sub> powder-coated food packaging film and its ability to inactivate Escherichia coli in vitro and in actual tests (2008).

Chaudhuri AK. Infection control in hospital: Has its quality-enhancing and cost-effective role been appreciated? J Hosp Infect 1993; 25:1-6.

Colmenero Estrada Maria de Jesús, Sánchez Oviedo Alfredo; Estadística Bacteriológica de las Infecciones Nosocomiales en el hospital regional Lic. Adolfo López Mateos. Nueve Años de seguimiento; 2008.

C.Y. Flores, C. Diaz, A. Rubert, G.A. Benítez, M.S. Moreno, M.A. Fernández Lorenzo de Mele, R.C. Salvarezza, P.L. Schilardi, C. Vericat; Spontaneous adsorption of silver nanoparticles on Ti/TiO<sub>2</sub> surfaces. Antibacterial effect on *Pseudomonas aeruginosa* 2010.

Cheol-In K, Sung-Han K, Hong-Bin K, Sang-Won P, Young-Ju Ch, Myoung-don O, *Pseudomonas aeruginosa* bacteriemia: risk factors for mortality and influence of delayed receipt of effective antimicrobial therapy on clinical outcome. Clin Infect Dis. 2003;37:745-51.

Doménech X., Jardim W. y Litter M. Procesos avanzados de oxidación para la eliminación de contaminantes, 2001, CYTED, Proyecto CNEA-CAC-UAQ#95-Q-03-05. En línea: <http://www.psa.es/webeng/solwater/files/CYTED01/06cap01.pdf>.

F. Özyildiz F, M. Güden, A. Uzel, I. Karaboz, O. Akil, and H. Bulut, Antimicrobial Activity of TiO<sub>2</sub>-coated Orthodontic Ceramic Brackets against *Streptococcus mutans* and *Candida albicans*

Fraise A.P. European Norms (2008)

Fujishima A., Honda K. 1972. Electrochemical photolysis of water at a semiconductor electrode. Nature; (238) 37 – 38

Fujishima, Rao T., Tryk D. 2000. Titanium dioxide photocatalysis. Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry reviews, (1): 1-21.

Gales C, Jones R.N., Turnidge J., Rennie R., Ramphal R., Characterization of *Pseudomonas aeruginosa* Isolates: Occurrence Rates, Antimicrobial Susceptibility Patterns, and Molecular Typing in the Global SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 1997–1999

G. Ducel, Fundación Hygie, Ginebra, Suiza. J. Fabry, Universidad Claude Bernard, Lyon, Francia L. Nicolle, Universidad de Manitoba, Winnipeg, Canadá Prevención de las infecciones nosocomiales GUÍA PRÁCTICA 2a edición, 2003.

Gutiérrez Pulido, Humberto y de la Vara Salazar, Román. “ Análisis y Diseño de Experimentos” , Ed. McGraw Hill, México 2004, ISBN 970-10-4017-1

Haley RW, Culver DH, White JW, Morgan WM, Emori TG. The nationwide nosocomial infection rate: A new need for vital statistics. Am J Epidemiol 1985;121:159-167.)

Kinska DL, Guilligan PH. *Pseudomonas*. In: Murray P, ed. Manual of clinical microbiology. Washington, DC: ASM Press, 1999:517–25.

Krajewski Judie; Ritzman Barbara; Administración de Operaciones Estrategia y Análisis; pag (216); 5ª edición; Pearson Education.

Ledeza Lozano Oscar E. Curtiellas Piñol Vicente, Moleiro Mirabal Jesús, Garcés Mancheño Rafael, Díaz Gómez Maritza Felisa, Martínez-Force Enrique, Hernández Castro Carlos y Fernández Torres Irán Evidencias del Mecanismo Oxidante en la Actividad Antibacteriana del Aceite de Girasol Ozonizado.

Livermore DM. Múltiple mechanisms of antimicrobial resistance in *Pseudomona aeruginosa*: our worst nightmare? Clin Infect Dis. 2002;34:634-40

Mckelvey J.P., Física del estado sólido y de semiconductores., Limusa, 7ma Edición., pags. 282-284.

Colmenero Estrada María de Jesús, Sánchez Oviedo Alfredo, Estadística bacteriológica de las infecciones Nosocomiales en el Hospital Regional Lic. Adolfo

López Mateos. Nueve años de seguimiento Revista de Especialidades Médico-Quirúrgicas 2008;13(1):3-7

Martínez A.I., Acosta D.: Efecto del contenido de Sn sobre las propiedades físicas de películas delgadas de TiO<sub>2</sub>, superficies y vacío 16(1), marzo 2003, Sociedad Mexicana de ciencia de Superficies y de Vacío.

Mayon-White RT et al. An international survey of the prevalence of hospital-acquired infection. J Hosp. Infect, 1988, 11 (Supplement A):43–48.)

Mayén Hernández Sandra; Propiedades fotocatalíticas de semiconductores. Tesis Doctorado en Materiales Querétaro, Querétaro CINVESTAV, 2006.

Miron C., A. Roca, S. Hoisie, P. Cazorici, L. Sirgui : Photoinduced Bactericidal Activity of TiO<sub>2</sub> thin films obtained by radiofrequency magnetron sputtering deposition. Journal of optoelectronics and Advanced Materials Vol 7, No. 2, Abril 2004, p. 915 – 919

Montgomery, Douglas C. “Diseño y Analisis de Experimentos”, Traductor Delgado, Jaime, Grupo editorial Iberoamericana, México 1991, ISBN 968-7270-60-8  
Montgomery, Douglas C. Introduction to statistical Quality Control, Fifth Edition, pag 2-3

National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) system report: data summary from October 1986–April 1998, issued June 1998. Am J Infect Control **1998**; 26:522–33.

Navarrete-Navarro S, Armengol-Sánchez G. Costos secundarios por infecciones nosocomiales en dos unidades pediátricas de cuidados intensivos. Salud Publica Mex 1999;41 suppl 1:S51-S58.

Ponce de León Ponce de León S. The needs of developing countries and the sources required. J Hosp Infect 1991;18 suppl A:376-381 Urban Infrastructure for Depolluting and selfcleaning applications.

Ponce de León S. The needs of developing countries and the sources required. J Hosp Infect 1991;18 suppl A:376-381

Ponce de León S, Rangel S. Organizing for infection control with limited resources. En: Wenzel RP, ed. Prevention and control of nosocomial infections. Baltimore: Williams & Wilkins, 1993:82-88.

(Ponce de León RS, Romero OMC, Sandoval GMN, Ruiz PG. Eficacia de un programa de control de infecciones nosocomiales: una posibilidad real para mejorar la calidad de la atención médica. Salud Publica Mex 1986; 28:593-598.

Revista de Especialidades Médico-Quirúrgicas ISSN (Versión impresa): 1665-7330 [revespmedquir@issste.gob.mx](mailto:revespmedquir@issste.gob.mx) Escuela de Enfermería del Instituto de Seguridad y Servicios Sociales para los Trabajadores al Servicio del estado (ISSSTE) México-

Snowball M. R., Hornsey I.S., (1988), Purifications of water supplies using ultraviolet light, In developments in Food Microbiology, R K Robinson (ed). Elsevier Applied Science Publishers. London pp 171-191.

Schumaker & Naughton, 1996.

Schwartzmann Laura; Calidad de vida relacionada con la salud: aspectos conceptuales; 2003; I.S.S.N. 0717-2079.

Shiraishi Koutaro, Koseki Hironobu, Tsurumoto Toshiyuki, Baba Koumei, Naito Mariko, Nakayama Koji and Shindo Hiroyuki. Antibacterial metal implant with a

TiO<sub>2</sub>-conferred photocatalytic bactericidal effect against *Staphylococcus aureus*, 2008.

Szczawinski Jacek, Henryk Tomszewski, Agnieszka Jackowska-Tracz, And Malgorzata Ewa Szczawinska: Effect of UV radiation on survival of *Salmonella* Enteritidis on surface of ceramic tiles coated with TiO<sub>2</sub>, *Bull Vet Ins Pulawy* 54, 479 – 483, 2010

(< <http://www.who.int/features/qa/15/es/index.html>. > Marzo 2011)

(< <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/es/index.html> > Marzo 2011)

## APÉNDICE

Para la determinación de los tiempos de exposición a luz ultravioleta se realizaron ensayos irradiando la bacteria a tiempos menores de 15 y 30 minutos sin embargo en estos tiempos no existe evidencia que la bacteria sea afectada, es decir la densidad poblacional en estos tiempos no sufre ninguna afectación como se muestra en la tabla 7. De esto se desprendió aumentar el tiempo de irradiación a 60 y 90 minutos cuyo resultados ya observamos y con los cuales se alinean a lo mencionado en diferentes artículos.

Tabla 7 Tiempos de Irradiación de 15 y 30 minutos .

StdOrder	RunOrder	CenterPt	Blocks	Recubrimiento	Tiempo	Y1 .5 mg
1	1	1	1	Sin TiO2	15	6.918E+04
2	2	1	1	TiO2	15	6.918E+04
3	3	1	1	Sin TiO2	30	4.922E+04
4	4	1	1	TiO2	30	4.922E+04
5	5	1	1	Sin TiO2	15	4.922E+04
6	6	1	1	TiO2	15	6.918E+04
7	7	1	1	Sin TiO2	30	4.922E+04
8	8	1	1	TiO2	30	6.918E+04

En la figura 16 se muestra que ninguno de los factores seleccionados son significativos por lo cual no afectan la densidad poblacional del microorganismo.

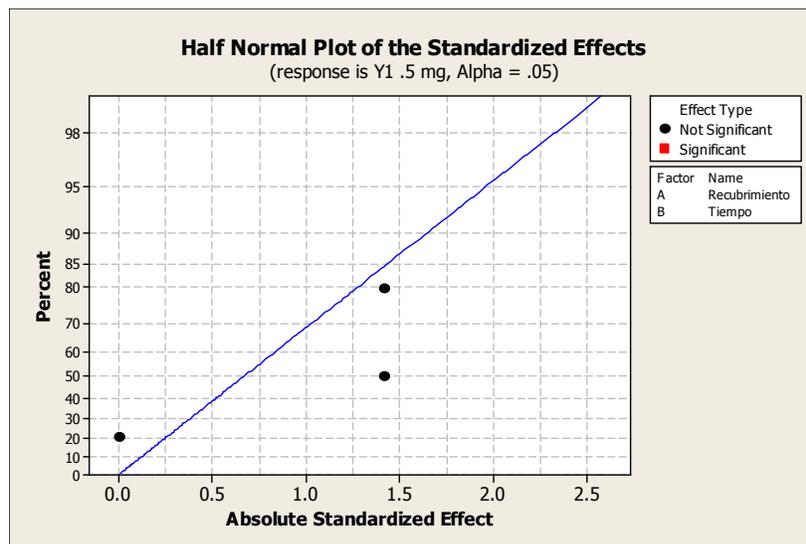


Figura 16 Efectos significativos a 15 y 30 minutos