



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

FACULTAD DE INGENIERÍA Y ARQUITECTURA

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL

Reducción de *E. coli* mediante la aplicación de membranas de Óxido Grafeno en las Aguas Contaminadas de la Quebrada Yumantay –  
2021

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE INGENIERO  
AMBIENTAL

**AUTORES:**

Castillo De La U, Madeleine (ORCID: 0000-0001-7853-3999)

Huamán Límaco, Shali Nova (ORCID: 0000-0003-2935-5107)

**ASESOR:**

Dr. Valverde Flores Jhonny Wilfredo (ORCID: 0000-0003-2526-112X)

**LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:**

CALIDAD Y GESTIÓN DE LOS RECURSOS NATURALES

LIMA - PERU

2021

## Dedicatoria

Dedicar el presente proyecto de investigación a nuestros padres Castillo Martin Raúl, De la U Reyes Mabel, Huamán Castro Saturnino y Limaco Carpio Elsa, quienes nos apoyaron incondicionalmente en todo momento , frente a múltiples adversidades, a nuestros maestros quienes nos forjaron para un buen camino profesional , a nuestra universidad por brindarnos los recursos necesarios para nuestro aprendizaje, a los amigos y conocidos, quienes nos brindaron aliento y palabras motivacionales para concluir y disfrutar del fruto de nuestros esfuerzos.

## Agradecimientos

Agradecer a Dios por salvaguardar nuestras vidas por la fe viva en los corazones, por ayudarnos a luchar contra las adversidades.

A nuestro docente Jhonny Valverde Flores por la paciencia, dedicación y guía en la elaboración de nuestro proyecto de tesis.

A los docentes quienes nos han enseñado durante toda nuestra vida universitaria, quienes han compartido con nosotras alegrías y penas a quienes no mencionamos aquí, siéntanse aludidos.

A nuestros compañeros de clase, amigos de vida por el apoyo emocional y creer en nuestros sueños y metas.

## Índice de contenido

Dedicatoria .....	ii
Agradecimientos .....	iii
Indice de Tablas .....	vi
Indice de Figuras .....	vii
Resumen .....	viii
Abstract .....	ix
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. MARCO TEÓRICO .....	5
III. METODOLOGÍA.....	29
3.1. Tipo y diseño de investigación.....	29
3.2. Variables y operacionalización .....	30
3.3. Población, muestra y muestreo .....	30
3.4. Técnicas o instrumentos de recolección de datos .....	31
3.5. Procedimientos.....	33
3.5.2. ETAPA 2: Elaboración del óxido de grafeno, membrana de GO y quitosano	34
Pre-oxidación del Grafito .....	34
3.6. Método de análisis de datos.....	37
3.7. Aspecto ético.....	37

IV. RESULTADOS .....	38
V. DISCUSIÓN.....	56
VI. CONCLUSIONES.....	63
VII. RECOMENDACIONES.....	64
REFERENCIAS .....	65
ANEXOS.....	72

## Índice de Tablas

Tabla 1: etapas de elaboración y fabricación de la membrana de GOr y filtro .....	32
Tabla 2: resultados de E. Coli .....	38
Tabla 3: resultados de la DQO .....	39
Tabla 4: resultados de la DBO5 .....	40
Tabla 5: resultados de la turbidez .....	40
Tabla 6: resultados de O.D.....	41
Tabla 7: resultados de pH .....	42
Tabla 8: resultados de la temperatura.....	42
Tabla 9: resultados de la conductividad eléctrica .....	43
Tabla 10: resultados de los parámetros físico-químicos .....	44
Tabla 11: resumen del procesamiento de los casos .....	45
Tabla 12: prueba de normalidad de los parametros fisico-quimicos.....	48
Tabla 13: resultados microbiológico .....	49
Tabla 14: resumen del procesamiento de los casos .....	49
Tabla 15: pruebas de normalidad de E. coli .....	50
Tabla 16: resultados de reducción de E. coli.....	51
Tabla 17: resumen del procesamiento de los casos .....	51
Tabla 18: pruebas de normalidad de E. coli .....	53
Tabla 19: prueba de homogeneidad de varianzas .....	54
Tabla 20: ANOVA de un factor .....	54

## Índice de Figuras

Figura 1: imagen satelital de la quebrada Yumantay .....	33
Figura 2: procedimiento para el GO .....	35
Figura 3: preparación de la membrana de OG .....	36

## Resumen

La presente investigación tiene como objetivo reducir la *E. coli* mediante la aplicación de membranas de óxido grafeno en las aguas contaminadas de la quebrada Yumantay. Se evaluó la capacidad de reducción de *E. coli*, mediante tres tipos de membranas que contienen óxido de grafeno en diferentes dosis (2g, 4g y 6g) a su vez en diferentes tiempos (20 min, 40 min y 60 min), el óxido de grafeno se obtuvo mediante el método de Hummers. Se evaluó la capacidad de reducción de las membranas mediante un sistema de fluido continuo en el cual se insertaron los filtros caseros. La caracterización de la membrana se realizó aplicando la técnica de espectrofotometría UV-visible. Mediante el programa Digital Cam se tomaron las medidas de las partículas de óxido de grafeno.

Durante la aplicación de las membranas que contienen 2 g de óxido de grafeno se ha reducido el 99.80% de la *E. coli* presente en las aguas residuales de la quebrada, las membranas que contienen 4 g y 6 g de óxido de grafeno lograron reducir 99.85% de la *E. coli* presente en las aguas residuales de la quebrada Yumantay.

PALABRAS CLAVE: reducción, *E. coli*, Óxido de grafeno,



## Abstract

The objective of this research is to reduce *E. coli* by applying graphene oxide membranes in the polluted waters of the Yumantay stream. The reduction capacity of *E. coli* was evaluated, using three types of membranes containing graphene oxide in different doses (2g, 4g and 6g) in turn at different times (20 min, 40 min and 60 min), the oxide Graphene was obtained by the Hummers method. The reduction capacity of the membranes was evaluated by means of a continuous fluid system in which the homemade filters were inserted. The characterization of the membrane was carried out by applying the UV-visible spectrophotometry technique. Using the Digital Cam program, the measurements of the graphene oxide particles were taken.

During the application of the membranes containing 2 g of graphene oxide, 99.80% of the *E. coli* present in the wastewater of the stream has been reduced, the membranes containing 4 g and 6 g of graphene oxide were able to reduce 99.85% of the *E. coli* present in the wastewater of the Yumantay creek.

KEY WORDS: reduction, *E. coli*, Graphene oxide

## I. INTRODUCCIÓN

Realidad problemática

Fabián (2019) menciona que, la realidad con relación a la contaminación del agua en el mundo es impactante. Según la UNESCO, los contaminantes que alcanzan a los numerosos tipos de recursos hídricos en todo el mundo siguen incrementando, alcanzando a una data de casi el 80% de aguas residuales contaminadas. Esta situación se presenta en los países en vías de desarrollo y progreso, reconoce la organización internacional, en la cual el agua se descarga sin tratamiento, contaminando ríos, lagos y zonas costeras”

Ucayali cuenta con una planta de tratamiento de aguas residuales, pero el deficiente orden territorial acarrea problemas como viviendas sin agua y desagüe, Ucayali no cuenta con una planta de residuos sólidos, siendo más de 20 asentamientos humanos no cuentan del servicio de desagüe, acoplado un sistema de desagüe improvisado que desemboca los residuos directamente a las quebradas y ríos. En la ciudad de Pucallpa se ubica un caño natural Yumantay el cual se dirige hacia la quebrada Yumantay, que se ve claramente contaminado por aguas residuales, así como por residuos sólidos, a lo largo de este tiempo el crecimiento poblacional se ha incrementado, por lo que han generado invasiones, así como Asentamientos Humanos, poniendo en riesgo la calidad de este recurso. Muchos pobladores aún no son conscientes del daño ocasionado al verter sus residuos sólidos y efluentes sin ningún reparo y sin autoridades para un control y sanción.

Según los estudios efectuados por el alcalde López Ríos, en el caso de Manantay son 2 mil 275 viviendas las que se encuentran emplazadas en la faja marginal y comprende a 10 mil 467 pobladores. “Son estas personas las que lanzan sus desperdicios sólidos en la quebrada, generando una contaminación de grandes dimensiones, quizás la más grande la selva del país. Así que hemos decidido terminar con este foco de suciedad, polución y mal olor, que daña gravemente el ecosistema de la quebrada Yumantay” Fabián, (2019). Día mundial del agua: La contaminación que agota la esperanza de vida.

Muchos de los casos de contaminación de los ríos se deben a distintas fuentes como los productos químicos, drenaje agrícola, minería informal y efluentes residuales y domésticos.

En la presente situación los efluentes domésticos y residuos han sido generados por las personas residentes de la zona, las familias de estos pueblos conectan artesanalmente sus desagües a las lagunas o ríos provocando que día a día con un mal accionar dañen este valioso recurso. *E. coli* es una indicadora de contaminación fecal.

La quebrada Yumantay es alimentada por los humedales ubicados en las inmediaciones del Aeropuerto FAP David Abenzur, iniciándose en la Av. Camino Real entre la Av. Masisea y Av. Unión, dirigiéndose hacia la quebrada Yumantay, esta atraviesa la Av. Centenario, recorre el Parque Natural y el distrito de Manantay, atraviesa terrenos particulares, las cuales se ubican sobre o en los alrededores de la ya mencionada quebrada, los pobladores que residen en los asentamientos humanos como AA.HH Las nieves y el AA.HH Las Mercedes, conectan mediante tuberías clandestinas sus letrinas hacia esta quebrada, a su vez arrojan las aguas provenientes de las actividades del hogar, las aguas de la quebrada Yumantay desembocan en el río Ucayali.

Según Pérez O el caño natural, nace desde el punto de origen en el aeropuerto de Pucallpa hasta el inicio de la quebrada Yumantay, tuvo una longitud de 1609m. En promedio un ancho de 3,67m, una profundidad de 1.36m y un bajo nivel de agua de 0.21m, sin embargo, durante la lluvia moderada (70mm) la altura de marca de agua llega a 0.36m y una avenida de 30 m.

El color del agua fue negro con un olor a desagüe con una transparencia de 14.5 cm y una temperatura superficial de 28 °C, el mismo que corría a una velocidad de 0.37Km/h (Pérez O. 2018).

Las consecuencias se verán en la desaparición de especies y microorganismos propios de los ríos, así mismo todos los seres humanos también se verán perjudicados pues no contarán con agua apta para sus regadíos afectando en su economía.

Bajo la problemática planteada se busca proponer una alternativa de solución viable ambientalmente mediante la utilización de membranas de óxido de grafeno como filtros para la retención de la *E. Coli*, logrando así poder hacerla apta para el consumo y riego de alimentos

Formulación del problema

Problema general

¿En qué medida se podrá reducir la cantidad de colonias de *E. coli* presentes en las aguas de la quebrada Yumantay utilizando membrana de óxido de grafeno?

Problemas específicos

- ¿Cómo se determinan los parámetros físico-químicos presentes en las aguas de la quebrada Yumantay antes y después del tratamiento con membrana de óxido de grafeno?
- ¿Cómo se determinan los parámetros microbiológicos presentes en las aguas de la quebrada Yumantay antes y después del tratamiento con membrana de óxido de grafeno?
- ¿Cuál será el tiempo de exposición adecuado para reducción de la *E. coli* en las aguas de la quebrada Yumantay antes y después del tratamiento con membrana de óxido de grafeno?

Justificación

La presente investigación parte de la necesidad de estudiar las aguas de quebrada Yumantay y con el propósito de identificar el nivel de los contaminantes que se quiere reducir con el uso de las membranas de grafeno sobre la *E. coli*, que son causa principal de contaminación. Creemos que con las dosis óptimas se reducirá la presencia de la *E. Coli* y de esa manera recuperar las aguas que llevan muchos años contaminados y siendo un foco infeccioso ya que hay vectores que pueden transmitir enfermedades a los pobladores aledaños.

Esta investigación busca proporcionar información que podría ser útil para futuras investigaciones y estudios para la reducción de contaminantes como la *E. coli* en aguas y aplicar técnicas innovadoras a favor del medio ambiente la cual también

repercute en la población como la escasez de agua saludable o desaparición de especies acuáticas que muchas veces son fuente de economía para una sociedad.

#### Objetivo general

Reducir la cantidad de colonias de *E. coli* presentes en las aguas de la quebrada Yumantay.

#### Objetivos específicos

- Determinar los parámetros físico-químicos presentes en las aguas de la quebrada Yumantay antes y después del tratamiento con membrana de óxido de grafeno.
- Determinar los parámetros microbiológicos presentes en las aguas de la quebrada Yumantay antes y después del tratamiento con membrana de óxido de grafeno.
- Determinar el tiempo de exposición para reducción de la *E. coli* en las aguas de la quebrada Yumantay antes y después del tratamiento con membrana de óxido de grafeno.

#### Hipótesis

La cantidad de colonias de *E. coli* presentes en las aguas de la quebrada Yumantay se reducen considerablemente utilizando membrana de óxido de grafeno.

#### Hipótesis Específicas

- Los parámetros físico-químico presentes en las aguas de la quebrada Yumantay antes y después del tratamiento con membrana de óxido de grafeno se ajustan a una distribución normal.
- Los parámetros microbiológicos presentes en las aguas de la quebrada Yumantay antes y después del tratamiento con membrana de óxido de grafeno se ajustan a una distribución normal.

El tiempo de exposición para reducción de la *E. coli* en las aguas de la quebrada Yumantay antes y después del tratamiento con membrana de óxido de grafeno se ajusta a una distribución normal

## II. MARCO TEÓRICO

Akrimah, et al (2020) menciona en su artículo de investigación “Developing of graphene oxide (GO) bio/filter for pathogenic bacteria control in farmed Asian clam, *Corbicula fluminea*”, este experimento se llevó a cabo para estudiar el potencial del óxido de grafeno (GO) como filtro antibacteriano para controlar bacterias patógenas, es decir, *Escherichia coli*, *Salmonella spp.*, *Vibrio spp.* Y bacterias coliformes. Se criaron un total de 180 almejas en ambos sistemas, es decir, sistema instalado con óxido de grafeno (sistema GO) y sistema con normal (sistema de control) durante 2 semanas. Luego, se examinaron las bacterias y se enumerados a partir de tejido de almejas asiáticas y muestras de agua de granja utilizando placa total método de recuento (TPC) y método del número más probable (MPN) por comparando estos dos sistemas de crianza. Los resultados mostraron todos aislados las bacterias se redujeron al 100% del agua de la granja, mientras que las bacterias coliformes con reducción del 94% en el sistema GO. Por el contrario, la reducción de bacterias en el tejido de la almeja. La muestra en el sistema GO fue variada y relativamente baja para bacterias coliformes, *Salmonella spp.*, Bacterias totales, *Vibrio spp.* ya que se redujo en un 60,71%, 31,38%, 18,16% y 1,34%, respectivamente, mientras que *E. coli* mostró un aumento las bacterias cuentan en un 12,52%. Por tanto, se puede concluir que el sistema GO es eficaz para reducir las bacterias patógenas en el agua en comparación con la almeja asiática muestra de tejido. Concluye que el filtro antibacteriano GO posee potencial para reducir las bacterias patógenas en el agua de la granja en comparación con la muestra de tejido de almeja asiática, es necesario actualizar estudio sobre el GO para mejorar su funcionar como filtro antibacteriano, como incorporar con otros compuestos de nanomateriales.

Barbolilna, et al (2016) en su investigación científica “Purity of Graphene oxide determines its antibacterial activity” mencionan que, para la síntesis del óxido de

grafito, se obtuvieron escamas de grafito, Ácido nítrico 70%, sodio nitrato, permanganato de potasio, ácido sulfúrico 99,999% y peróxido de hidrógeno al 30%. Se han sintetizado láminas de óxido de grafito (GtO) utilizando el método Hummers modificado. Se introdujo 0,8 g de escamas de grafito se mezcló con 0,4 g de nitrato de sodio en un fondo redondo matraz, y luego 18,4 mL de ácido sulfúrico 99,999% se ha añadido lentamente a la mezcla. Después de obtener una mezcla homogeneizada, se administraron 2,4 g de permanganato de potasio. Se añadió lentamente y la mezcla se mantuvo durante 30 minutos. Se añadieron gota a gota 37 mL de agua para inyección, debido a la violenta reacción exotérmica y la temperatura se controló continuamente y se mantuvo a 98 ° C durante 30 minutos. La mezcla se diluyó más con 112 mL de Se añadió agua y peróxido de hidrógeno al 30% para reducción del permanganato de potasio residual, dióxido de manganeso y heptóxido de manganeso a solubles sales de sulfato de manganeso. Los resultados muestran que tanto *E. coli cepas* y *S. aureus* pudieron crecer en MHB en presencia de GO en las concentraciones hasta el máximo probado 250 µg mL<sup>-1</sup>, tuvo como conclusión que, los datos de este estudio proporcionan datos definitivos que demuestran claramente que bajo las condiciones in vitro utilizadas aquí no se podrían asignar propiedades antibacterianas a GO altamente purificados. No fue bactericida ni bacteriostático en un amplio rango de concentración contra cultivos planctónicos de *E. coli* o *S. aureus* en varios de ensayos, Por lo tanto, estos datos confirman que las propiedades bactericidas de GO son críticamente dependientes del método de purificación y preparación y probablemente son tan como resultado del pH y la contaminación de pequeñas moléculas.

Barrios, et al (2019) en su artículo de investigación “Structure-property toxicity relationships of graphene oxide: Role of surface chemistry on the mechanisms of interaction with bacteria” mencionan que, para identificar los determinantes fisicoquímicos de la actividad antimicrobiana de GO, generamos diferentes materiales de GO de Hummers modificados recocidos térmicamente a 200, 500 u 800 ° C (TGO200, TGO500 y TGO800, respectivamente) para modificar los grupos de oxígeno de la superficie del material. Los ensayos de placa muestran que GO (ARGO) y TGO200, TGO500 y TGO800 como se reciben reducen *Escherichia coli*

viabilidad en un 50% (CE50) a 183, 143, 127 y 86  $\mu\text{g} / \text{mL}$ , respectivamente, lo que indico una mayor toxicidad bacteriana a medida que se reduce el ARGO. Para descubrir el mecanismo de toxicidad de GO, se utilizaron ensayos basados en colorantes fluorescentes para medir el estrés oxidativo en la CE50. ARGO mostró un aumento en especies de oxígeno reactivo intracelular, medido como un aumento en 2', 7'-fluorescencia de diacetato de diclorodihidrofluoresceína, mientras que TGO500 y TGO800 indujo un aumento en la fluorescencia del diacetato de fluoresceína (FDA) en un 30 y 42%, lo que sugiere una disminución en la permeabilidad debido a un posible mecanismo de envoltura, se realizaron ensayos de placa después de la sonicación posterior a la exposición para explicar la baja respuesta oxidativa de TGO y los altos niveles de FDA. Los resultados no muestran diferencias en las unidades formadoras de colonias, lo que indica que la inhibición del crecimiento celular es el resultado de la adsorción de células bacterianas en el material GO. Comparando diferentes muestras de GO en su CE50, este estudio revelo que la reducción de GO altera tanto los mecanismos de interacción celular como el grado de toxicidad para las bacterias.

Cortinez, et al (2020), desarrollaron un papel GO bifásico y estable en el agua, basado en un sencillo método de fundición y la adición de una capa de revestimiento de quitosano (CH). Mientras que el papel GO se dispersa posteriormente de la inmersión en agua, el agua se convierte en polvo, el documento bifásico de GO/CH presentó la estabilidad del agua. El papel estable de GO/CH fue capaz de absorber tanto aniónicos y colorantes catiónicos que muestran una capacidad máxima de adsorción en monocapa (qm) de 103 mg/g y 232 mg/g para Azul de metileno y naranja de metileno, respectivamente. Como resultados respecto al comportamiento antibacteriano respecto a los papeles de óxido de grafeno puro y el papel bifásico, se demostró la capacidad para eliminar *Staphylococcus aureus* gram positivo y *Escherichia Coli* gram negativo, se ensayaron bacterias [59,60]. Los papeles pudieron eliminar *S. Aureus* y *E. coli* con una reducción de alrededor de 54% y 25% respectivamente.

Castro-Beltra, A. (2011) en su artículo científico "Obtención de grafeno mediante la reducción química del óxido de grafito" Indica que, es un estudio de la capacidad



de desoxidación de dos reductores químicos, el ácido ascórbico (vitamina C) y el borohidruro de sodio hacia el óxido de grafito (GO), siendo este un precursor para la obtención de grafeno. Se estudió la estructura química del grafeno químicamente modificado (CMG) obtenido después de la reducción del GO por diferentes técnicas espectroscópicas tales como la espectroscopía UV-vis y espectroscopía de infrarrojo (FITR). La morfología de los materiales se obtuvo utilizando microscopía electrónica de barrido (SEM) y se midió la conductividad eléctrica por el método de las cuatro puntas. Se encontró que la estabilidad coloidal del CMG resultante no solamente depende de la efectividad del reductor si no también es fuertemente dependiente del pH. LA conductividad eléctrica depende del método de reducción del OG y resulto se mayor para las muestras reducidas con ácido ascórbico y la reducida térmicamente de 7 y 6 órdenes de magnitud respectivamente en comparación con el GO.

Chen, et al (2020) en su investigación científica “Photothermal-assisted antibacterial application Graphene oxide-Ag nanocomposites against clinically isolated multi-drug resistant *Escherichia coli*”, cultivaron nanopartículas de plata sobre láminas de óxido de grafeno. Luego, se realizaron una serie de estudios in vitro realizado para validar la eficacia antibacteriana del GO-Ag nanocompuestos contra la MDR clínica *Escherichia coli* (*E. coli*). Los nanocompuestos GO-Ag mostraron el mayor nivel antibacteriano eficiencia entre los antimicrobianos probados (óxido de grafeno, plata nanopartículas, GO-Ag) y efecto antibacteriano sinérgico se observó en el grupo tratado con nanocompuestos GO-Ag. El tratamiento con  $14.0 \mu\text{g mL}^{-1}$  de GO-Ag pudo inhibir en gran medida crecimiento de bacterias, la viabilidad de las bacterias restantes fue del 4,4% y 4,1% para las bacterias *E. coli* MDR 1 y MDR 2, respectivamente. Además, con la ayuda del efecto fototérmico, la eficaz esterilización pudo lograrse utilizando nanocompuestos GO-Ag como tan bajo como  $7,0 \mu\text{g mL}^{-1}$ . Imágenes y morfología de fluorescencia. La caracterización descubrió que la integridad de las bacterias estaba alterada después del tratamiento con nanocompuestos GO-Ag. Resultados de citotoxicidad de GO-Ag usando líneas celulares derivadas de humanos (HEK 293T, Hep G2) sugirió que más del 80% de la viabilidad se mantuvo en  $7,0 \mu\text{g mL}^{-1}$ . Las hojas GO también fueron caracterizadas y analizadas por microscopio de fuerza atómica (AFM; Veeco) y

software NanoScope 6.14R1. Distribución del tamaño de AgNP en Los nanocompuestos GO-Ag se midieron y analizaron utilizando el software ImageJ 1.52d y JMP 14.2.0. En comparación con el AgNP ampliamente utilizado, el nanocompuesto GO-Ag mostró una eficiencia antibacteriana mucho mayor a *E. coli* MDR clínicamente aislada. Además, el tratamiento fototérmico podría combinarse para reducir aún más la dosis a  $7 \mu\text{g mL}^{-1}$ , y MDR *E. coli* murieron completamente con citotoxicidad reducida. La caracterización de imágenes y morfología reveló que la integridad de las bacterias se dañó después de tratamiento con GO-Ag. Dado el excelente rendimiento antibacteriano de los nanocompuestos GO-Ag contra la bacteria *E. coli* MDR ampliamente distribuida, podrían ser útiles consumibles antibacterianos en futuras aplicaciones médicas.

Cortínez, D. (2018), el objetivo fue preparar y la caracterización de la membrana de óxido de grafeno (GO) y la membrana de GO con quitosano (CS) para estudiar sus estructuras, capacidad de adsorción de un contaminante soluble (azul de metilo, MB) y su efecto antimicrobiano para estas dos bacterias (*E. coli* y *S. aureus*). Para ello, sintetizó GO mediante el método modificado de Hummers y preparó los papeles. Dando como resultado papel de GO y un papel híbrido (GO/CS), y se constató que tenían su estructura laminada y ordenada, que el CS permite el acoplamiento de hojas de GO, uniéndose mediante enlaces de hidrógeno. Por otro lado, la reducción de colonias de *E. coli* a causa de la exposición de estas con el papel de GO y el híbrido fue  $22 \pm 5$  y  $30 \pm 2$ %, respecto al control. Por otra parte, para *S. aureus* los valores resultaron  $56 \pm 2$  y  $53 \pm 5$  (%). Para ambas bacterias existieron significativas diferencias de los papeles respecto al control (sin material antimicrobiano), pero no entre ellos. Concluyeron que se pudo establecer dos métodos sencillos para la obtención de papeles de GO y de GO/CS, los que pueden tienen la capacidad de adsorber colorantes y posee de propiedades antimicrobianas.

Efremova, L. (2014) en su artículo científico " Toxicity of Graphene sells, Graphene oxide, and Graphene oxide paper evaluated with *Eschericia coli* biotests" Las cáscaras de grafeno en forma de placa (GS) producidas por un método de pirólisis de metano original y sus derivados óxido de grafeno (GO) y papel de óxido de

grafeno (GO-P) se evaluaron con bioensayos luminiscentes de *Escherichia coli* y ensayos adicionales basados en bacterias que en conjunto revelaron los mecanismos de bioactividad y toxicidad de los nanomateriales de la familia del grafeno. Inhibición de la bioluminiscencia ensayo, tinción fluorescente de dos componentes para evaluar la permeabilidad de la membrana celular y los datos de microscopía de fuerza atómica mostraron GO expresaron bioactividad en suspensión acuosa, mientras que las suspensiones GS y la superficie GO-P, se evaluaron como materiales no tóxicos. Se demostró que el mecanismo de toxicidad de GO no está asociado con el estrés oxidativo en el reportero soxS: lux y katG: lux objetivo células; Además, GO no provocó una alteración mecánica significativa de las bacterias tratadas con la liberación de contenido de ADN intracelular. La neutralización y el transporte de cargas superficiales bien coordinadas, dependientes del tiempo, de la dosis, y la energía. Se observó trastornos en las células de *Escherichia coli* sugieren interacción directa de la membrana, internalización y perturbación (es decir, "membrana estrés ") como una pista del mecanismo de toxicidad del óxido de grafeno. En resumen, los resultados mostraron la importancia de la propiedad fisicoquímica de los nanomateriales de la familia del grafeno, así como la calidad de sus suspensiones o espacial organización de la superficie por su toxicidad contra *Escherichia coli*. Se determinó que los papeles de óxido eran materiales no tóxicos. El resultado obtenido requirió la regulación de la presencia de GO en el medio ambiente, además de confirmar que la propiedad antibacteriana de GO tiene el potencial de ser útil.

Gonçalves, et al (2018), en el informe sobre el óxido de grafeno (GO) señalan que ha sido objeto de varios estudios en los últimos años debido al fenómeno atípico del transporte de agua a través de su estructura. Inicialmente ideado por Hummers y Offeman (1958), Con el avance de las técnicas la construcción de membranas de grafito forma oxidada en estructuras laminadas con dimensiones micrométricas siempre presenta potencial para la purificación de soluciones acuosas. Trabajaron con tasas de filtración eficientes y con membranas lo más delgadas posible para miniaturizar el equipo de remediación de agua subterráneas, facilitando su transporte y permitiendo su uso en ambientes confinados. Filtros basados en GO para el tratamiento de aguas subterráneas contaminadas. El dispositivo

nanoestructurado desarrollado fue capaz de filtrar diferentes muestras de agua bajo tierra con importantes suspensiones de partículas de arcilla y disolventes orgánicos durante más de 29 horas consecutivas con estabilidad y eficacia, además de una importante retención de solventes orgánicos y la contención preferencial de algunos iones bi y trivalentes.

Gusev, et al (2019) en su artículo de investigación “Medium-Dependent Antibacterial Properties and Bacterial Filtration Ability of Reduced Graphene Oxide” mencionan que, la toxicidad del óxido de grafeno reducido (rGO) ha sido un tema de múltiples estudios y fue demostrado que depende de una variedad de características de rGO y objetos biológicos de interés. Demostraron que al estudiar las mismas dispersiones de rGO y *Escherichia coli* (*E. coli*), el resultado de los experimentos de nanotoxicidad también depende del tipo de cultivo medio. Investigaron que rGO inhibe el crecimiento de bacterias en un medio de nutrición, pero muestra poco efecto sobre el comportamiento de *E. coli* en una solución salina fisiológica. Los efectos observados de rGO en *E. coli* en diferentes medios podría racionalizarse al menos parcialmente mediante la adsorción de bacterias y nutrientes en las láminas de rGO dispersas, lo que probablemente esté mediado por enlaces de hidrógeno. También encontraron que la interacción entre rGO y *E. coli* depende del medio, y en fisiología soluciones salinas forman estructuras floculadas estables que no se observaron en los medios de nutrición. Además, observaron la adición de rGO y *E. coli* en medios salinos independientemente de si las bacterias estaban vivas o muertas. La filtración de las suspensiones de agregados condujo a una eliminación casi completa de bacterias de líquidos filtrados, lo que destaca el potencial de rGO para la filtración y separación de contaminantes biológicos, independientemente de que incluyan microorganismos vivos o muertos.

Jira, et al (2018) en su investigación “Inhibition of *E. coli* Growth by Nanodiamond and Graphene Oxide Enhanced by Luria-Bertani Medium” señalan que, los nanodiamantes (ND) y el óxido de grafeno (GO) son nanomateriales modernos basados en carbono con características prometedoras para la inhibición de la capacidad de crecimiento de microorganismos. Compararon los efectos de

nanodiamante y óxido de grafeno tanto en recocido (oxidado) como reducido (hidrogenado) se forma en dos tipos de medios de cultivo: caldos Luria-Bertani (LB) y Mueller-Hinton (MH). La comparación muestra que el número de unidades formadoras de colonias (UFC) de *Escherichia coli* es significativamente reducido (45%) por todos los nanomateriales en medio LB durante al menos 24 h contra el control. De lo contrario, sólo se proporciona una inhibición significativa a largo plazo del crecimiento de *E. coli* (en un 45%) en el medio MH por ND hidrogenados terminados con grupos C-HX. El uso de agares salados no mejoró los efectos de inhibición de los nanomateriales utilizados, es decir, rotura de la membrana bacteriana o diferencias en las concentraciones no juegan ningún papel en los efectos bactericidas de los nanomateriales utilizados. El papel específico del ND y GO sobre la mejora del estrés oxidativo de las bacterias o posibles bacterias envolventes por nanohojas GO, por lo que sugirieron aislarlas tanto del medio ambiente como de la nutrición. Análisis por espectroscopía infrarroja, espectroscopía fotoelectrónica, microscopía electrónica de barrido y la dispersión dinámica de la luz corrobora estas conclusiones.

Khalil, et al (2020), señalan que para obtener el potencial antimicrobiano sinérgico de los nanocompuestos conjugados con el óxido de grafeno (GO), se desarrolló un enfoque alternativo a través de la hibridación del quitosano (CS) o el ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) con GO. Los nanocompuestos GO sintetizados fueron identificados por XRD, HRTEM, SEM, FTIR, potencial Zeta y espectroscopía Raman. Investigaron la actividad antimicrobiana de GO, GO-CS y GO-EDTA contra algunas bacterias patógenas y *Candida sp.* Los resultados mostraron que los nanocompuestos se veían aplanados y claros, con algunas líneas y pliegues en la parte exterior. Las imágenes SEM muestran la morfología básica del GO que posee notables agujeros, grietas y una estructura interna indeclinable. GO-EDTA y GO-CS poseen una prometedora actividad antimicrobiana contra todos los microbios patógenos. El resultado del ZOI in vitro verificó que mostraban actividad contra *Escherichia coli* (22.0mm para GO-EDTA y 10.0mm para GO-CS), *Staphylococcus aureus* (15.0mm para GO-EDTA y 10.0mm para GO-CS) finalmente dañados cuando interactúan como nanocompuestos basados en GO debido a diferentes

mecanismos como el estrés oxidativo y de membrana y el aislamiento de la envoltura.

Krishnamoorthy, et al (2012) en su artículo de investigación "Antibacterial efficiency of Graphene nanosheets against pathogenic bacter via lipid peroxidation" indica que, el óxido de grafeno (GO) es un agente antimicrobiano con química de superficie sintonizable. Para identificar los determinantes fisicoquímicos de la actividad antimicrobiana de GO, generaron diferentes materiales de GO con el método de Hummers modificado, recocidos térmicamente a 200, 500 u 800 ° C (TGO200, TGO500 y TGO800, respectivamente) para modificar los grupos de oxígeno de la superficie del material. Los ensayos de placa evidenciaron que GO (ARGO) y TGO200, TGO500 y TGO800 como se reciben reducen *Escherichia coli* viabilidad en un 50% (CE50) a 183, 143, 127 y 86 µg / mL, respectivamente, lo que indica una mayor toxicidad bacteriana a medida que se reduce el ARGO. Para descubrir el mecanismo de toxicidad de GO, se utilizaron ensayos basados en colorantes fluorescentes para medir el estrés oxidativo en la CE50. ARGO mostró un aumento en especies de oxígeno reactivo intracelular, medido como un aumento en 2', 7'-fluorescencia de diacetato de diclorodihidrofluoresceína, mientras que TGO500 y TGO800 indujo un aumento en la fluorescencia del diacetato de fluoresceína (FDA) en un 30 y 42%, lo que sugiere una disminución en la permeabilidad. Debido a un posible mecanismo de envoltura, se realizaron ensayos de placa después de la sonicación posterior a la exposición para explicar la baja respuesta oxidativa de TGO y los altos niveles de FDA. Los resultados no mostraron diferencias en las unidades formadoras de colonias, lo que indica que la inhibición del crecimiento celular es el resultado de la adsorción de células bacterianas en el material GO. Comparando diferentes muestras de GO en su CE50, este estudio reveló que la reducción de GO altera tanto los mecanismos de interacción celular como el grado de toxicidad para las bacterias.

Kumar, et al (2020), en el estudio, recubrieron arena con óxido de grafeno sintetizado en laboratorio (GO) y óxido de grafeno reducido (rGO) para mejorar sus propiedades superficiales en términos de hidrofobia, rugosidad y superficie específica (6 veces mayor para GO/rGO en comparación con 5,5m<sup>2</sup>/g para la

arena), lo que permitió una mayor adsorción de macrocontaminantes, así como un microcontaminante objetivo: la microcistina-LR (MC-LR). Se probó una superficie más electropositiva que la arena (potencial zeta: -43,2 mV) en forma de arena recubierta de óxido de hierro (IOCS o Fe: -21,2 mV) y su combinación con GO (FeGO: -13,4 mV) para validar la hipótesis de una mayor adsorción de MC-LR debido a la atracción electrostática. Dos conocidos degradadores de MC-LR (*Arthrobacter ramosus* y *Bacillus* sp.) fueron examinados antes de la bioaumentación, basándose en el potencial de formación de biopelículas para cada compuesto de arena revestida. Además, la dosis de GO y rGO fueron bio-optimizadas antes de cubrirlas sobre los granos de arena (400 mg/L para GO y 520 mg/L para rGO), para obtener un efecto no tóxico y no disruptivo y proporcionar al menos un 60% de viabilidad celular. Se obtuvo una remoción de MC-LR más alta de 91% bajo la fase de biodegradación usando arena recubierta con rGO que mostró un aumento de 47.2% en la remoción de MC-LR cuando se comparó con la fase de adsorción física. El filtro de arena (control) mostró una máxima remoción de MC-LR de 54.7%. Las mayores constantes de saturación de adsorción de 8,5 mg/kg y 7,4 mg/kg se obtuvieron para los medios de arena recubiertos con GO y rGO, respectivamente, que fue 5-6 veces mayor que la arena sin recubrimiento.

Li, et al (2018), en su investigación "Propiedades bacterianas de los medios filtrantes de arena de cuarzo modificada compuestos de cloruro de quitosano menciona que, para controlar la contaminación bacteriana en el tratamiento del agua, es necesario preparar materiales antibacterianos eficientes. Los nuevos compuestos de quitosano clorográfico y óxido de grafeno (CSCI/GO) se prepararon mediante un óxido de grafeno en el tratamiento de aguas método de mezcla de soluciones en un solo paso. Se investigó el mecanismo antibacteriano de los compuestos CSCI/GO utilizando bacterias gram negativas *E. coli* y bacterias gram positivas *S. aureus* como dos microorganismos modelo. Se investigaron las propiedades antibacterianas de los compuestos CSCI/GO para las bacterias complejas en el sistema de agua de refrigeración. Además, se sintetizaron los medios filtrantes de arena de cuarzo modificados de los compuestos CSCI/GO (CSCI/GO/QS). También se investigó el rendimiento antibacteriano del medio filtrante CSCI/GO/QS en el efluente secundario de las aguas residuales domésticas.

Los resultados mostraron que *E. coli* y *S. aureus* fueron completamente inactivados después del tratamiento con 100 mg.L<sup>-1</sup> de compuestos CSCI/GO durante 15 min. Al añadir los compuestos CSCI/GO a la suspensión de *E. coli* o *S. aureus*, la fuga de proteínas fue 12,7 o 9,9 veces mayor que la del experimento en blanco después de 12h. La tasa antibacteriana de los compuestos CSCI/GO en el agua de refrigeración circulante alcanzó el 95,74% cuando la fracción de masa de GO fue del 0,6%. Después de que los medios filtrantes de CSCI/GO/QS fueron retrolavados por 3 veces, la tasa antibacteriana aún podía estar por encima del 90%.

Linklater, et al (2018) en su investigación científica “Mechano-bactericidal mechanism of Graphene nanomaterials” dicha investigación tiene objetivo estudiar los datos recientes sobre el efecto bactericida del grafeno y nanomateriales derivados del grafeno, y mecanismos propuestos de inactivación celular, debido al contacto mecánico con materiales de grafeno, incluida la extracción de lípidos, el daño físico a las membranas y la formación de poros. El grafeno, GO y versiones funcionalizadas de estos dos materiales se muestran prometedores como agentes antimicrobianos eficaces con actividades bactericidas increíblemente altas informadas a lo largo de la literatura. El conocimiento actual del mecanismo bactericida es limitado y permanece bajo intenso debate. En nuestra opinión, las razones de tales discrepancias son la falta de un protocolo preciso para definir la eficiencia bactericida en diferentes sistemas que dificultan la comparación; la importancia, se subestima el tamaño y la geometría de los materiales de grafeno, la agregación de materiales de grafeno, que depende de condiciones externas y concentración, no ha recibido suficiente atención, falta de control de las propiedades superficiales en diferentes técnicas de fabricación que resultan en muy diferentes materiales con el mismo nombre. Los modelos teóricos y las simulaciones proporcionaron pruebas convincentes sobre la perturbación física de bacterias. La deformación de la membrana ocurre inicialmente a través de la formación de poros y finalmente un desequilibrio de presión osmótica y ruptura celular.

Mankar, et al (2020) en su artículo científico “Macropartículas de impresión molecular incrustada con óxido de grafeno reducido para captura y destrucción de



*E. coli* en el agua potable, menciona que, una manera fácil para la creación de impresiones de *E. coli* en el polímero para la captura selectiva y para destruir *E. coli* en el agua potable. Este polímero microporoso impreso ha demostrado la existencia de cavidades en forma de varilla de tamaño micrométrico con una población de  $2,45 \times 10^2 \pm 60$  impresiones por  $\text{cm}^2$ . La capacidad de adsorción del polímero para *E. coli* era de  $10^3 \text{ CFU mg}^{-1}$ . Este polímero microporoso capturó el 99% de las bacterias en 30 minutos a una concentración inicial de  $10^9 \text{ CFU mL}^{-1}$ . El polímero no impreso preparado sin la impresión de la bacteria reportó sólo el 40% de la eliminación de la bacteria incluso después de 60min. El óxido de grafeno reducido se incrustó en el polímero microporoso impreso y reportó una concentración inhibitoria mínima de  $7,4 \text{ mg L}^{-1}$ . En 10 minutos, el óxido de grafeno reducido mata completamente a la *E. coli*, mientras que el polímero microporoso impreso se incrustó en el óxido de grafeno reducido, y la desinfección del agua tarda unos 13 minutos. Las nanopartículas de óxido de grafeno reducido estaban cerca de la cavidad impresa para generar una temperatura localizada entre 180 y 210 °C para matar las células bacterianas atrapadas dentro de las cavidades impresas del polímero. El microscopio de fuerza atómica térmica con las puntas de sonda calentadas especializada determinó la temperatura localizada en los polímeros. La energía térmica localizada sería responsable de la producción de superóxidos, que eran tan similares a las reacciones de fotólisis, y mejoraría aún más la actividad antibacteriana. La combinación de la captura selectiva y la destrucción de patógenos en una sola molécula mejoran la desinfección del agua potable.

Mathura, et al (2018) en su investigación "The effect of graphene – poly(methyl methacrylate) fibres on microbial growth" señalan que se exploró una nueva clase de fibras ultrafinas, que afectan el crecimiento microbiano. Las propiedades microbianas de las fibras de poli (metacrilato de metilo) que contienen 2, 4 y 8% en peso de nanoplaquetas de grafeno (GNP). Los GNP se dispersaron en una solución polimérica y se procesaron mediante giro presurizado. Se utilizó microscopía electrónica para caracterizar el GNP y la morfología de las fibras. La microscopía electrónica de barrido reveló la formación de fibras porosas. Se encontró que la concentración de PNB determinaba la morfología de la fibra. Como la concentración de GNP aumentó, el diámetro promedio de la fibra aumentó de

0,75 a 2,71 mm, mientras que la porosidad de la fibra disminuyó. Bacterias Gram-negativas como *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* se utilizaron para investigar las propiedades de 2, 4 y 8% en peso de fibras cargadas con GNP. Las fibras cargadas con GNP (0% en peso) se utilizaron como control negativo. Las fibras se incubaron durante 24 h con las bacterias; Las unidades bacterianas formadoras de colonias se enumeraron adoptando el método de conteo de colonias. La presencia de 2 y 4% en peso de fibras cargadas con GNP promovió crecimiento, mientras que 8% en peso de fibras cargadas con GNP mostraron actividad antimicrobiana. Estos resultados indican que la concentración inhibitoria mínima de GNP requerida dentro de una fibra es del 8% en peso.

Mejias, et al (2012) en su artículo de investigación "Toxicity of a polymer-graphene oxide composite against bacterial planktonic cells, biofilms, and mammalian cells" indica que, en este estudio, la toxicidad de PVK-GO con células microbianas planctónicas, biopelículas y células de fibroblastos NIH 3T3. Los efectos antibacterianos se evaluaron frente a dos bacterias Gram negativas: *Escherichia coli* y *Cupriavidus metallidurans*; y dos bacterias Gram positivas: *Bacillus subtilis* y *Rhodococcus opacus*. Los resultados mostraron que el nanocompuesto PVK – GO presenta mayores efectos antimicrobianos que el prístino GO. La efectividad del PVK – GO en solución fue demostrado como el nanocompuesto "encapsuló" las células bacterianas, lo que condujo a una reducción actividad metabólica y muerte celular. El hecho de que el PVK-GO no presentó citotoxicidad significativa para Las células de fibroblastos ofrece una gran oportunidad para aplicaciones potenciales en importantes áreas biomédicas y campos industriales. Nanocompositos con propiedades antibacterianas eficientes y que no son tóxicos para los humanos tienen un enorme potencial para aplicaciones industriales, biomédicas y de tratamiento de agua. La mayoría lo que es más importante, el nanocompuesto PVK – GO desarrollado recientemente ha demostrado tener mayores efectos antimicrobianos que vaya solo, con concentraciones un 97% más bajas que el nanomaterial puro. De hecho, se observó que los efectos antibacterianos de PVK-GO ser hasta un 30% (células planctónicas) y un 57% (biopelículas) más alto que el efecto antimicrobiano de GO solo. Ellos resumen el porcentaje de toxicidad de PVK – GO (30 µg mL<sup>-1</sup> GO) y GO (1000 µg mL<sup>-1</sup>) hallazgos confirman que la adición

del polímero PVK al nanomaterial GO no obstaculiza las propiedades antimicrobianas del nanocompuesto, pero los mejora debido al aumento de dispersión causada por el polímero. La reducida composición de GO en el nanocompuesto proporciona un incentivo para su gran escala producción debido al proceso de alto rendimiento y costo relativamente bajo para fabricar polímeros de alto peso molecular, contra todos los microorganismos utilizados en el estudio.

Men, S. y Li, J. (2018) señalan que las membranas de óxido de grafeno (GO), como arquitecturas laminadas y ricas en canales ensambladas por nanoplacas GO apiladas, han superado a otros nanomateriales bidimensionales (2D) y presentan una especialización estructural preeminente y una aplicabilidad potencial en una amplia gama de aplicaciones ambientales. En un examen realizado se estudiaron principalmente las últimas membranas macroscópicas basadas en GO, que presentan distintas estructuras funcionalizadas, flujos de fluidos interiores y propiedades fisicoquímicas afinables. Las membranas basadas en GO se clasifican y presentan en tres formas típicas: membranas GO porosas de una sola capa, membranas GO compuestas de varias capas. Se presta más atención a las estrategias de preparación orientadas al objetivo para el ensamblaje de los bloques de construcción GO, que implican múltiples interacciones y ventajas técnicas, y a las características de la membrana resultante. En el panorama general también se explora la utilidad de estas membranas basadas en GO para su uso a gran escala en prácticas ambientales en tratamientos de gas, agua y biológicos, a fin de allanar el camino para el prometedor desarrollo y realización de sus perspectivas.

Ming, et al (2020) en su artículo de investigación "Adhesion of bacteria to a Graphene oxide film" se elaboró nanohojas de óxido de grafeno mediante el método de Hummers a partir de grafito natural. Se colocó 2 g de grafito y 1 g de  $\text{NaNO}_3$  en un baño de hielo, al que se le añadió 75 mL  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentrado, después se agitó durante 30 minutos para homogeneizar la mezcla, posteriormente se agregaron 6 g de  $\text{KMnO}_4$  lentamente, esta mezcla reaccionó durante 30 minutos, se dejó reposar a temperatura ambiente durante 6 horas. Después de diluir lentamente con 100 mL de agua destilada y 2 mL de  $\text{H}_2\text{O}_2$  (30%). Se dejó reposar la mezcla durante una noche, luego se decantó el sobrenadante transparente y se lavó el

sedimento con agua al menos 10 veces hasta reducir el pH hasta casi neutro. La preparación de la película de óxido de grafeno fue una síntesis típica utilizando 10 mg d oxido de grafeno, estas nanohojas se dispersaron ultrasónicamente en 10 mL de agua destilada. Después se realizó la filtración y se dejó secar a temperatura ambiente. Para la determinación de las propiedades antimicrobianas de la película o nanohoja se realizó mediante el método de recuento de colonias para detectar actividad antimicrobiana de las películas de GO sintetizadas para *E. coli*, *S.aureus*, *baculos* y *shewanella*. Las nanohojas se caracterizaron mediante el método UV-visible, espectroscopía Raman y difracción de rayos X. El tiempo de la adherencia para la *E. coli* alcanzo casi 100% en un tiempo de 3 horas, mientras que mientras que solo cambiaron a 31,4% para *S.aureus* y además se determinó que la acidez tiene un efecto importante en su propiedad antimicrobiana. Los resultados sugieren que, las películas de OG tienen diferentes capacidades de adherencia segundo tipo de bacteria.

Mokkapat, et al (2018) en su artículo de investigación científica "Bacterial response to graphene oxide and reduced graphene oxide integrated in agar plates" menciona que, el GO de una sola capa (disperso en agua) se elaboró con la siguiente metodología, la concentración del GO adquirido es de 500 mg/L con una composición de 79% de carbono y 20% de oxígeno. El tamaño de las escamas laterales de GO está en el rango de 0,3 a 0,7 mm. rGO prepararon internamente utilizando proceso de autoclave estándar. Para preparar placas integradas GO/rGO, utilizaron dos juegos de 0,01%, 0,02%, 0,04% y 0,08% de GO preparado en agua estéril y sonicado durante 30 min. Para reducir GO a rGO, un conjunto de solución GO se esterilizó en autoclave por separado. El medio de agar LB esterilizado en autoclave se mezcló con varias concentraciones de GO y rGO usando una incubadora con agitación y se vierte en placas de Petri. Se utilizaron cepas de *Bacillus subtilis* y *Pseudomonas aeruginosa* para probar el crecimiento bacteriano. Observaron que rGO integrado en placa mostró una fuerte actividad antibacteriana contra ambas bacterias especies. Por el contrario, el GO integrado en placa era inofensivo para ambas bacterias. En su comparación con otros materiales de grafeno probados, rGO tiene la mayor capacidad de oxidación, que también atribuye a sus propiedades electrónicas. Se evaluó la actividad

antibacteriana de GO y rGO contra *B. subtilis* y *P. aeruginosa*. GO y rGO, se integraron con placas de medio de agar estándar y se caracterizaron por ATR-FTIR. Se observó que rGO fue tóxico para *B. subtilis* y *P. aeruginosa*, mientras que GO no fue dañino para ninguna de las bacterias. Sin embargo. El crecimiento de *P. aeruginosa* se inhibió en placas con GO después de un cierto tiempo que posiblemente podría ser debido a la reducción de GO a rGO por *P. aeruginosa*. Cuando se aisló el GO tratado con *P. aeruginosa* y probado para ATR-FTIR, no se pudo detectar ningún rGO que podría deberse a la menor cantidad de bacterias que no pudieron convertir GO completo en rGO en cantidades detectables.

Pasan, et al (2019), señalan que varios estudios han demostrado el desarrollo de recubrimientos con multifuncionalidad en agua desionizada pero han negado la efectos de la química del agua, la vida útil y la regeneración química de estos revestimientos de nanocompuestos para la exclusión simultánea de diferentes contaminantes biológicos y químicos del agua. Este nanocompuesto fue seleccionado para esta investigación ya que mostró una amplia capacidad de eliminación. Este nanocompuesto mostró remociones de Cr (VI), Cu (II), y Pb (II) más del 90% a una concentración inicial de 1 ppm y nitrato > 75% a una concentración inicial de 20 ppm bajo el agua DI. Además, los filtros recubiertos fueron efectivos en la eliminación de > 3 logs de *E. coli* K12, *B. subtilis*, y *P. aeruginosa*. Para las sustancias químicas del agua con pH 4-9, salinidad 50-1000 ppm, y una dureza total de 50-500 ppm como CaCO<sub>3</sub>, al menos un contaminante probado mostró porcentajes de remoción similares que indican el posible uso de los filtros modificados en estos grandes rangos de agua condiciones químicas. Los filtros revestidos fueron capaces de eliminar eficazmente las partículas en suspensión, las bacterias y los metales pesados. Experimentos acelerados de vida útil demostraron que los filtros modificados pierden su rendimiento óptimo alrededor de 9-12 meses, lo que indica su potencial de almacenamiento a corto plazo sin condiciones específicas de preservación.

Qiang, S. (2021) en su investigación científica “cytotoxic effect og Graphene oxide nanoribbons on *Escherichia coli*” menciona que se estudió el efecto citotóxico de las nanocintas de óxido de grafeno (RGP) en *Escherichia coli* (*E. coli*) en un método

in vitro. Los GOR fabricados formaron cintas largas, 200 nm de ancho. Según los resultados del ensayo MTT y los experimentos de cultivo en placa, los RGI inhibieron significativamente el crecimiento y la reproducción de *E. coli* de una manera dependiente de la concentración. Se encontró que los RGP estimulaban a *E. coli* para secretar especies reactivas de oxígeno, que luego oxidaban y dañaban la membrana celular bacteriana. Además, la interacción entre los RGP y la citomembrana de *E. coli* resultó en la adsorción de polisacáridos por RG y la liberación de deshidrogenasa láctica. Es más, Los GOR agotaron eficazmente los iones metálicos como nutrientes en el medio de cultivo por adsorción. Notablemente, el corte mecánico por GOR no fue obvio, lo cual es bastante diferente al caso de láminas de óxido de grafeno a *E. coli*. para asegurarse de que los GOR se sintetizaron con éxito, TEM, espectros Raman, XRD y FT-IR. Los experimentos de cultivo en placa mostraron que los RGP ejercen un efecto citotóxico significativo sobre *E. coli* de una manera dependiente de la concentración. El agotamiento de nutrientes en el medio LB demostró que los RGP adsorbían iones metálicos y competían con *E. coli*, que inhiben el crecimiento y reproducción de *E. coli*. Basado en niveles aumentados de MDA y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en el cultivo medio, las RGP estimularon a *E. coli* para secretar ROS, que pueden oxidar y dañar la bacteria. Además, las imágenes SEM y CLSM revelaron que *E. coli* se acumulaba alrededor RGP, lo que resultó en la adsorción de polisacáridos de membrana por RGP para causar más daño de la membrana y liberación de LDH. En particular, el corte mecánico no era obvio, lo que es bastante diferente del estudio entre hojas GO y *E. coli*.

Richtera, L. (2015) en su investigación científica "The composites of graphene oxide with metal or semimetal nanoparticles and their effect on pathogenic microorganisms" desarrolló el presente experimento describe un proceso de síntesis de compuestos basado en óxido de grafeno, que se probó como portador de compuestos de metal o metaloides nanopartículas (Cu, Zn, Mn, Ag, AgP, Se) y posteriormente examinadas como antimicrobiano agente para algunas cepas bacterianas *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), resistente a la meticilina *Staphylococcus aureus* (MRSA) y *Escherichia coli* (*E. coli*). Los compuestos fueron los primeros aplicados a una concentración de 300 µM en todos los tipos de

organismos modelo y su efecto fue observado por análisis espectrofotométrico, que mostró una disminución en los valores de absorbancia en comparación con la cepa de control no tratada. La inhibición más pronunciada (87,4%) de Se observó crecimiento de *S. aureus* después de la aplicación de compuesto de óxido de grafeno con nanopartículas de selenio en comparación con el control. Además, la aplicación del composito con nanopartículas de plata y fosfato de plata mostraron una disminución de 68,8% y 56,8%, respectivamente. Para todos los compositos probados, el efecto antimicrobiano observado se encontró en el rango de 26% a 87,4%. Curiosamente, los efectos de los compuestos con selenio Las nanopartículas diferían significativamente en bacterias Gram-positivas (G +) y Gram-negativas (G-).

Romero-Vargas, S. (2015) en su investigación científica “Interaction of Graphene oxide with bacterial cell membranes: Insights from force spectroscopy”, estudio la interacción de óxido de grafeno con membranas celulares bacterianas (*Escherichia coli*) usando microscopia de fuerza atómica (AFM). En un esfuerzo por comprender la inactivación bacteriana inducida por grafeno, con este objetivo, diseñaron un protocolo experimental asistido por polidopamina para funcionalizar una sonda AFM con nanohojas de GO. Los resultados mostraron que las interacciones de las células GO son predominantemente repulsivas, con solo las fuerzas de adhesión esporádicas que se miden al despegar la sonda, lo que atribuyen a la formación de puentes de lipopolisacáridos. Proporcionamos evidencia de la oxidación acelar del glutatión por GO, subrayando el papel de las vías oxidativas en la inactivación de células bacterianas mediada por GO. Los resultados de nuestra espectroscopía de fuerza sugieren que las interacciones fisicoquímicas no son la base del modo de acción principal del GO en las bacterias. Los resultados mostraron que el contacto directo entre GO y el exterior membrana celular de *E. coli* se caracteriza por repulsivo interacciones, con sólo eventos de adhesión esporádicos observados tras la extracción de la sonda, probablemente debido al puente de lipopolisacárido. Estos resultados fueron consistentes con la alta energía libre de barrera para la captación celular que enfrentan las láminas de GO hidrófilas. No obstante, los resultados de la espectroscopía de fuerza presentados en su investigación sugieren que las interacciones físicas son repulsivas.

Sundaran, et al (2019), fabricaron una membrana electrospun trifuncional de poliuretano (PU)/óxido de grafeno (GO) para la adsorción de tintes orgánicos como el azul de metileno (MB) y la rodamina B (RB). Además, la membrana preparada mostró propiedades anti incrustantes e inhibidoras de las bacterias. La nanofibra PU modificada GO muestra una capacidad máxima de adsorción de 109,88mg/g y 77,15mg/g hacia MB y RB respectivamente. Los estudios teóricos confirmaron que la adsorción del colorante es seguida por la cinética de pseudo segundo orden y la isoterma de adsorción de Langmuir. La membrana superhidrófila PU/10GO exhibe un alto flujo de agua de  $17.706 \text{ l m}^{-2} \text{ hr}^{-1}$ . Esta membrana también exhibe una buena propiedad antiincrustante para separar emulsiones de aceite en agua con una separación del 99,99% eficiencia. El mecanismo de anti-incrustaciones fue investigado usando el modelo Hermia. Los resultados mostraron que las membranas PU/GO también tienen actividad antibacteriana contra bacterias Gram-negativas y Gram-positivas. Por lo tanto, una membrana anti-incrustante nanofibrosa superhidrófila que puede rechazar tanto la molécula de colorante orgánico como las bacterias del agua contaminada se desarrolla utilizando una simple técnica de electrospinning.

Wronska, et al (2020) en su investigación científica “Chitosan-functionalized Graphene nanocomposite films: Interfacial interplay and biological activity” menciona que, consiguieron el óxido de grafeno a partir de escamas de grafito utilizando el método de Hummers en un procedimiento típico, se mezclaron escamas de grafito (5 g) y  $\text{NaNO}_3$  (2.5 g) en 150 mL de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (98%) en un Matraz aforado de 1000 mL mantenido en baño de hielo ( $0^\circ\text{C}$ ) con agitación continua. El procedimiento de trabajo se puede encontrar en la información de apoyo. El PGO se obtuvo mediante la fosforilación de óxido de grafeno utilizando  $\text{POCl}_3$  como fósforo. rGO se obtuvo siguiendo este protocolo, se añadió hidrazina (0,3 mL) a una dispersión de GO (16 mg) en 40 mL de  $\text{H}_2\text{O}$ . La mezcla se calentó a  $60^\circ\text{C}$  durante 24 h. Luego, la solución se sometió a filtración y lavado extensivo, seguido de precipitado con etanol. La actividad antimicrobiana de las películas de quitosano modificadas contra *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) y *Escherichia coli* (ATCC 25922) se evaluó utilizando los estándares industriales japoneses JIS Z. La



actividad antimicrobiana de las películas probadas se calculó como el porcentaje de bacterias inhibición del crecimiento (SD) hacia películas de control sin compuestos de grafeno. En particular, la incorporación de grafeno en las películas de quitosano imparte películas de grafeno con potencial actividad biológica. En particular, demostraron el más alto actividad antibacteriana de películas de quitosano a base de grafeno contra Gram-positivos (*S. aureus* ATCC 6538) y Cepas gram negativas (*E. coli* ATCC 25922) en comparación con películas de quitosano puro.

Wu, et al (2018) en su artículo científico "Óxido de grafeno con polímeros: ¿un estudio de las condiciones de cultivo para determinar si un crecimiento bacteriano estimulante o un agente antimicrobiano?". El cual tiene como objetivo principal el determinar si los materiales a base óxido de grafeno son antimicrobianos para permitir aplicación biomédica de materiales de óxido de grafeno en el futuro estas fueron evaluadas en *Escherichia coli* y *Bacillus subtilis*. Se elaboraron dos diferentes laminas, láminas de OG-POAA (polioxilalquilenamina) y OG-quitosano las láminas de óxido de grafeno se obtuvieron a partir de grafito, además se obtuvieron mediante el método Hummers modificado, las hojas tuvieron las medidas de 20  $\mu\text{g}$  y un grosor de 1 y 2 nm las cuales son características de una lámina de óxido de grafeno exfoliada, la misma que se dejó secar sobre una mica y un perfil de altura. Dichas laminas fueron caracterizada mediante la técnica espectroscopía Raman y espectroscopía de fotoelectrones de rayos X para determinar la superficie química de las láminas. Cuando se usa OG-POAA disminuye por lo menos el 75%, además se determinó que POAA reduce la capacidad bactericida del OG (se determinó el número de bacterias supervivientes y se expresa como un porcentaje(%) que corresponde a la CFU  $\text{mL}^{-1}$ ). Por el contrario el quitosano tiene un amplio espectro antimicrobiano que incluye tanto Gram negativos y bacterias Gram positivas. En la prueba antimicrobiana, los niveles de crecimiento de las bacterias tratadas con GO-quitosano. La prueba antimicrobiana, los niveles de crecimiento de las bacterias tratadas con materiales a base de GO fueron monitoreados primero midiendo su absorbancia a 600 nm. Después de 03 de estar incubados con un nutriente, la absorbancia de *E. coli* y *B. subtilis*, que inicialmente es de 0.05 OD 600, *E. coli*

alcanza 0.36 OD 600 y el de *B. subtilis* alcanza 0.49 OD 600 alcanzó un máximo de 0.52 para *E.coli* y de 0.97 para *B. subtilis* cuando hay tratamiento de OG. Sin embargo, el OD 600 para las bacterias que fueron tratadas con la lámina OG-POAA alcanzaron un máximo de 0.31 para *E. coli* y 0.32 para *B.subtilis*. El OD600 a indicó que las bacterias que fueron tratadas con OG-quitosano disminuyeron significativamente a 0.02 para *E. coli* y a 0.004 para *B.subtilis*. Como resultado se obtiene que, cuando las bacterias se tratan solo con Oxido de grafeno a  $50 \mu\text{g mL}^{-1}$ , proliferan más rápido a una densidad optima más lata que se hacen cultivos sin oxido de grafeno, pero su proliferación es inhibida cuando interactúan con OG-POAA y OG-quitosano. Por el contrario, el OD 600 los valores para OG, OG-POAA y OG-quitosano para *E. coli* fue a disminuir a 0.01, y 0 respectivamente cuando se incuban con PBS y el valor para *B.subtilis* alcanza 0.01.

#### Marco teórico de las variables

Membranas de óxido de grafeno, la membrana de GO es una microestructura que se forma por un apilamiento ordenado de nanoláminas de GO. Se ha observado que el GO es capaz de conformar esta macroestructura gracias a la presencia de capas de agua submolecular confinadas entre las nanoláminas, las que las unen por medio de la formación de puentes de hidrógeno entre moléculas de agua y las de los grupos funcionales presentes en la superficie del GO, lo que se brinda uniformidad a la membrana (Cortinez, 2018).

*Escherichia Coli*, es una bacteria Bacilo gram negativo, que tiene la capacidad de desarrollarse en presencia de sales biliares u otros agentes (tensoactivos) que tengan propiedades similares e inhibidoras del crecimiento y que son capaces de fermentar la lactosa a temperaturas de  $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  con producción de ácido, gas y aldehído en un lapso de 18 a 48 horas.

Oxidasa negativa, no esporógena y reduce el nitrato a nitrito. También es capaz de producir indol a partir del triptófano a una temperatura de  $44^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$  en un tiempo de  $21 \pm 3$  horas. Poseen enzima B-glucuronidasa, la cual es detectada por medios cromógenos o fluorógenos (Navarro 2007).

Según Pérez (2019) menciona que el óxido de grafeno (GO) es una de las maneras de obtener grafeno en mayor escala, que consiste de una capa de grafeno que contiene diferentes grupos oxigenados, el óxido de grafeno se puede utilizar como precedente del grafeno o como también conocido como material grafénico. Además, una de las propiedades interesantes de este material es por ser un aislante higroscópico, además es hidrofílico, esto es por su alto contenido de oxígeno. Usualmente se prepara por la oxidación de “flakes” naturales o en polvo. Los grupos funcionales de oxígeno en el GO, mejoran notablemente la resistencia mecánica. La presencia de grupos funcionales en el material, también involucra la modificación en la estructura electrónica del grafeno, por lo tanto, dicha composición química posibilita mejorar la capacidad de las propiedades optoelectrónicas.

Rodríguez (2016) afirmó que el grafeno tiene propiedades muy sugerentes que lo convierten en un material muy variable con innumerables aplicaciones en diferentes ámbitos. Además, este puede ser sintetizado de diferentes formas con ayuda de diversos elementos.

Propiedades eléctricas del óxido de grafeno, Su estructura de red hexagonal en dos dimensiones da lugar a una superposición de las bandas de valencia (orbitales  $p_z$ ) y de conductancia, lo cual una dispersión lineal. Acepta que sus electrones se comporten como partículas sin masa que se pueden mover libremente por toda la lámina. Esta condición, además es autónoma a la temperatura.

Otros materiales, al poseer impurezas en su estructura, impiden la movilización de los electrones, sin embargo, el grafeno al provenir únicamente de un compuesto puro padece de dichas impurezas (Rodríguez, 2016).

Según Rodríguez (2016), indica que la permeabilidad es una propiedad que da acceso al paso de agua, pero por otro lado impide el paso de otros elementos de menor tamaño.

Rodríguez (2016) determinó que “Un microscopio de fuerza es un instrumento competente que detecta fuerzas de cohesión, este se empleó de forma

perpendicular a una lámina de grafeno, con el objetivo de cuantificar su capacidad máxima de elasticidad. Como el grafeno apenas presenta defectos en su red puede estirarse de forma reversible hasta un 10% de su tamaño usual, mientras que el resto de los sólidos resisten solo alrededor de 3%”.

Diferentes estudios demostraron la inhibición del crecimiento bacteriano (Gram positivas y Gram negativas) sobre placas de GO y rGO, siendo más eficiente este efecto antibacteriano en rGO que en GO, debido a su mayor capacidad de transferencia de carga. Se observó que no era debido a un estrés oxidativo, sin embargo, otro estudio también observó un crecimiento bacteriano en láminas de grafeno, en lugar de inhibición (Rodríguez, 2016).

Según la UNESCO (2017) en el informe mundial de las naciones unidas sobre el desarrollo de los recursos hídricos, indica que la composición de las aguas residuales municipales puede variar notablemente, ello evidencia la gran cantidad y diversidad de contaminantes liberados por las diferentes fuentes domésticas, industriales, comerciales e institucionales.

Las aguas residuales de fuentes domésticas por lo general están relativamente libres de sustancias químicas peligrosas, es preocupante como cada vez va en aumento la presencia de contaminantes, algunos medicamentos de uso común pueden generar efectos a largo plazo aun en mínimas concentraciones.

Las membranas de filtración son barreras físicas semipermeables que separan dos etapas, lo cual no permite su contacto y restringe el movimiento de las moléculas a través de ella de manera selectiva. El cual permite la división de las sustancias contaminadas del agua, generándose así un efluente acuoso depurado (Tuset, 2020).

Se llama grafeno a una monocapa de átomos de carbono unidos con simetría hexagonal. El grafeno es una estructura bidimensional de espesor aproximado 4 Å, y tiene una apariencia similar al de un panal de abejas, se debe a que los átomos de carbono están distribuidos de forma hexagonal, estos átomos están unidos por enlaces covalentes con hibridación  $sp^2$ , donde los orbitales híbridos  $2s$ , se

conjugan con los orbitales p(2px y 2py), estos son los enlaces  $\sigma$ , los electrones del orbital 2pz, los cuales se encuentran distribuidos por encima y por debajo del plano del grafeno, que quedan sin hibridar, forma los enlaces con los otros átomos, dichas bandas, debido a la falta de presencia de más capas atómicas sobre y por debajo de la red de átomos de carbono, crea una nube electrónica a lo largo del plano del grafeno, estos enlaces son débiles en comparación con los enlaces  $\sigma$ . (Pérez,2019)

La reducción, se define como acción o efecto de reducir o reducirse (RAE)

Para la presente investigación se entenderá purificación como el proceso que se lleva a cabo para remover o eliminar impurezas o residuos a fin de obtener una concentración mayor de un elemento o sustancia.

Según Vilcaromero (2017), Define como producción a un proceso de transformación o conversión de un recurso para crear un bien o servicio mediante la combinación de factores necesarios.

Según Porras (2020) El proceso de secado consiste en separar pequeñas cantidades de agua u otro líquido de un material sólido con el fin de reducir el contenido de líquido residual hasta un valor aceptablemente bajo.

Según Abril et al(2017)menciona que , la espectrometría UV-visible es una técnica analítica la cual permite determinar la concentración de un determinado compuesto en una solución .Este método se basa en que las moléculas absorben las radiaciones electromagnética y a su vez que la cantidad de luz absorbida depende de forma lineal de la concentración del elemento .Para realizar este tipo de medidas se emplea un espectrofotómetro , en el que se puede seleccionar la longitud de onda que pasa por una solución y a su vez medir la cantidad de luz absorbida de la misma .

Según Abril et al (2017) refiere que absorbancia, este concepto está más ligado con la muestra ya que nos indica la cantidad de luz absorbida por la misma muestra. Y a su vez esta se define como el logaritmo de  $1/T$  en consecuencia:

$$A = \log 1/T = -\log T = -\log I_t / I_0$$

Cuando la intensidad del incidente y transmitida son iguales ( $I_0=I_t$ ), la transmitancia es del 100% ello indica que la muestra no absorbe a una determinada longitud de onda, entonces  $A$  vale  $\log 1=0$ . Además, menciona que la cantidad absorbida dependerá de la distancia que atraviesa la luz a través de la solución y la concentración de este.

Abril, et al (2017) en su artículo “Espectrofotometría :Espectros de absorción y cuantificación colorimétrica de biomoléculas” refiere que, la mencionada ley expresa la relación entre la absorbancia de la luz monocromática y la concentración de un cromóforo en solución es directamente proporcional a su concentración es decir a mayor número de moléculas mayor será la interacción de luz con ellas, a su vez depende también la distancia que recorre la luz por la solución y la concentración , cuanto más recorra la onda por la muestra mayor número de moléculas encontrará .Esta ley se cumple para soluciones diluidas.

### III. METODOLOGÍA

#### 3.1. Tipo y diseño de investigación

Es una investigación aplicada ya que los resultados obtenidos de la aplicación de la membrana de óxido de grafeno sobre la *E. coli* generarán información importante para las siguientes investigaciones en torno a esta problemática.

El diseño de la investigación es pre experimental, del tipo pre test y post test de 3 grupos (por cada dosis tres pruebas).

GE1: O <sub>1</sub>	X	O <sub>2</sub>
GE 2: O <sub>3</sub>	X	O <sub>4</sub>
GE3: O <sub>5</sub>	X	O <sub>6</sub>

DONDE:

GE: Grupo Experimental (grupo o factor en el que se aplicará las membranas de óxido de grafeno).

GE1: Grupo Experimental (grupo o factor en el que se aplicará las membranas de óxido de grafeno)

GE 2: Grupo Experimental (grupo o factor en el que se aplicará las membranas de óxido de grafeno).

GE 3: Grupo Experimental (grupo o factor en el que se aplicará las membranas de óxido de grafeno).

O1, O3 y O5: Pre test (Medición sin la aplicación de las membranas de óxido de grafeno)

O2, O4 y O6: Post test (Medición después de la aplicación de las membranas de óxido de grafeno).

X: Manipulación de la variable independiente (aplicación de las membranas de óxido de grafeno)

### 3.2. Variables y operacionalización

Variable independiente: Membranas de óxido de grafeno

Variable dependiente: *E. coli*

### 3.3. Población, muestra y muestreo

#### 3.3.1. Población

Se ha considerado como población a las aguas cuyo volumen aproximado es de 5, 725,566m<sup>3</sup> de la quebrada Yumantay contaminadas con colonias formadoras de *E. Coli*

- Criterios de inclusión: Se tomarán en cuenta los siguientes parámetros: coliformes termotolerantes en el agua, pH del agua, demanda química de oxígeno (DQO), demanda bioquímica de oxígeno (DBO5)

- Criterios de exclusión: como criterio de exclusión se tomará en cuenta los metales pesados como el arsénico, bario, cadmio.

### 3.3.2. Muestra

La muestra representativa será 10L de agua de la quebrada Yumantay.

### 3.3.3. Muestreo:

Probabilístico-aleatorio, ya que todos los elementos de la presente investigación tienen una probabilidad igual de ser seleccionados como parte de la muestra (al azar). Para la toma de muestra se ha optado tomar 01 sola muestra en las coordenadas 18 M-551950 18M-9071939, el veinte de junio del año dos mil veintiuno, siendo la una y cuarenta y ocho de la tarde, teniendo como fuente origen la Quebrada Yumantay.

### 3.3.4 Unidad de análisis

Se ha considerado como unidad de análisis 1L agua de la quebrada Yumantay.

## 3.4. Técnicas o instrumentos de recolección de datos



ETAPA	FUENTE	TÉCNICA	INSTRUMENTOS	RESULTADOS
Elaboración de la membrana de óxido de grafeno y quitosano	grafito y quitosano	Experimentación	Ficha 2. Parámetros para la caracterización de la membrana de óxido de grafeno. Ficha 3. Caracterización del óxido de grafeno	membrana de óxido de grafeno óxido de grafeno reducido
Elaboración del filtro	Tubos	Experimentación	No hay	Filtro
Análisis de las muestras de agua antes de la filtración con membranas de óxido de grafeno y quitosano	Aguas de la quebrada Yumantay	Experimentación	Ficha 1. Recolección de muestras de agua para el análisis (Anexo 01)	Análisis de los parámetros físicoquímicos y microbiológicos previos a la aplicación del tratamiento a las muestras de agua de la quebrada Yumantay
Tratamiento de las muestras de agua aplicando membranas de óxido de grafeno y quitosano	Aguas de la quebrada Yumantay	Experimentación	No hay	Después del tratamiento aplicado a las muestras de agua estas se encuentran en la categoría 3 (riego de vegetal y bebida de animales)
Análisis de resultados después del tratamiento a aplicación del tratamiento	Aguas de la quebrada Yumantay	Experimentación	Ficha 4. Resultado de la aplicación del tratamiento	Análisis de los parámetros físicoquímicos y microbiológicos después de la aplicación del tratamiento a las muestras de agua de la quebrada Yumantay

**Tabla 1: etapas de elaboración y fabricación de la membrana de GOr y filtro**

### 3.5. Procedimientos

#### 3.5.1. ETAPA 1: Identificación y delimitación del área de investigación

Para la identificación y delimitación del área de investigación se empleó el software Google Earth Pro, en el cual se ha delimitado el área y los puntos de muestreo. El caño natural Yumantay es alimentado por las aguas de los humedales ubicados en las inmediaciones del Aeropuerto FAP David Abenzur, Está situado al sur de la ciudad de Pucallpa políticamente entre la jurisdicción de los distritos de Calleria y Manantay, conforma relieves suaves limitados por una línea que va desde 100 a 300 msnm. Y encierra en una alongada en una dirección noreste a sureste.

El escurrimiento de las aguas superficiales forma una red con un eje central que está representada por el cauce principal de la quebrada.

Es el principal sistema de drenaje pluvial de la zona urbana de Pucallpa pues más del 90% de su sección transversal cubre la zona urbana de la ciudad. Su altitud promedio está en los 153 msnm (Municipalidad Provincial de Coronel Portillo, 2017).

Esta quebrada tiene un área de 14 Km<sup>2</sup>, una longitud de 8.1 km, posee una pendiente de 0,02° y un perímetro de 29.79 km



**Figura 1: imagen satelital de la quebrada Yumantay**

### 3.5.2. ETAPA 2: Elaboración del óxido de grafeno, membrana de GO y quitosano

#### Pre-oxidación del Grafito

Se tomó como referencia el procedimiento planteado por Pérez (2019), que consiste en una modificación del método Hummers.

Para este procedimiento se pesó 20g de grafito en polvo, 50ml de ácido sulfúrico al 20% en un matraz de tres bocas de 1L y lo llevamos a baño de hielo con una agitación continua durante 2h con el objetivo de dispersar los sólidos en el ácido sulfúrico para luego agregar 5 g de  $\text{NaNO}_3$ .

#### Oxidación del grafito

Para este proceso se agregó al matraz con la solución anterior 10 g de  $\text{KMnO}_4$  lentamente (1g de  $\text{KMnO}_4$  cada 6 minutos) con una temperatura menor a los 20 °C. Agitamos por otras 2h en un baño de hielo.

Luego retiramos del baño de hielo y agitamos durante 10 minutos.

Añadimos 250 mL de agua desionizada con un gotero a la solución y se continuó agitando durante 2h.

Adicionamos 25 mL de  $\text{H}_2\text{O}_2$  al 30% gota a gota y agitar por 1 h, luego agregamos 200 mL de agua desionizada y volvimos a agitar durante 1h.

Para la filtración se utilizó una bomba de succión y papel filtro en un embudo Büchner y matraz de filtración, donde se obtuvo un sólido que es el óxido de grafeno.

#### Purificación del óxido de grafeno (GO)

Lavamos el sólido filtrado con una relación 1:10 de HCl al 5% en agua.

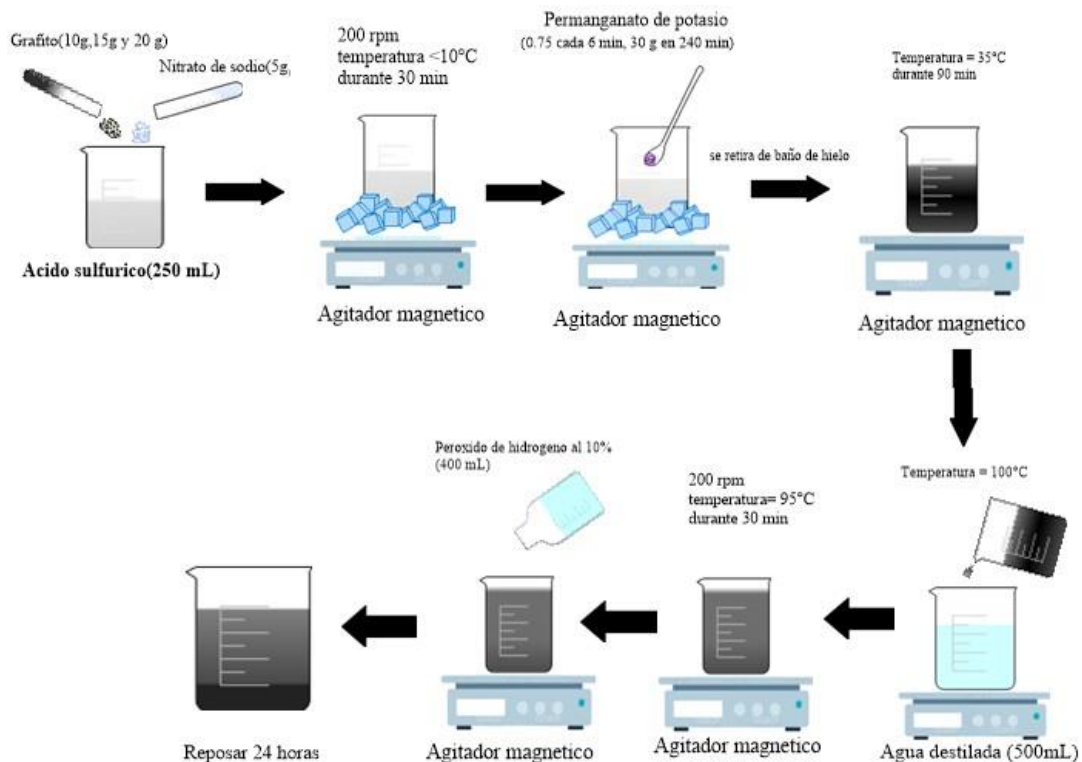
Lavamos el sólido resultante con agua destilada varias veces hasta obtener una masa marrón oscura (GO). Someter 200 mL de agua + óxido de grafeno a ultrasonido durante 2 horas. El óxido de grafeno se solubiliza en agua.

#### Reducción de Óxido de grafeno (GO) a Óxido de grafeno reducido (GO<sub>r</sub>)

En un vaso de precipitado adicionamos una cucharada de ácido ascórbico y una cucharada de GO en 100 mL de agua.

Se sometió a ultrasonido por 1 hora.

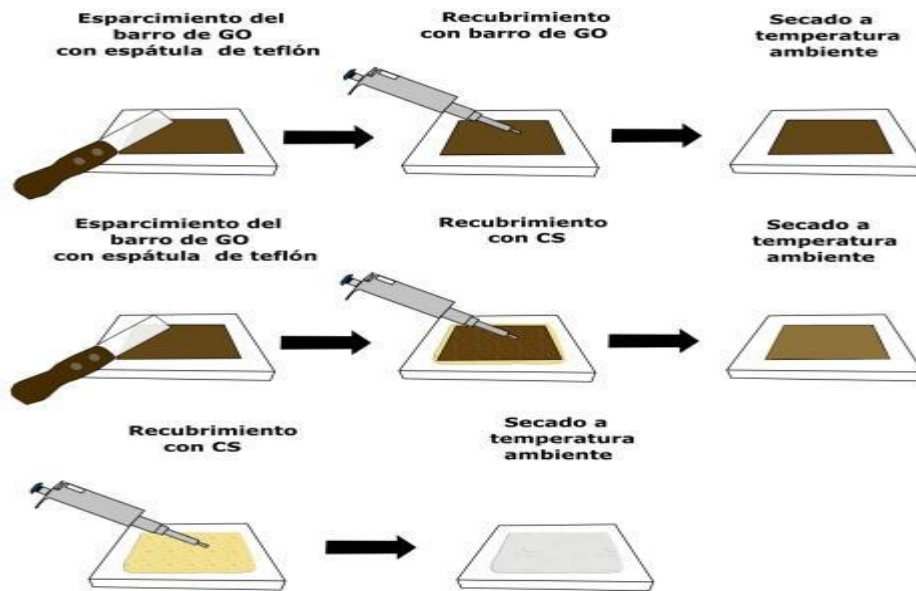
El producto se lavó y se secó a 60°C obteniéndose GOr.



**Figura 2: procedimiento para el GO**

### Preparación de la membrana de GO

El método utilizado es una modificación del método Hummers que consiste en dispersar el óxido de grafeno de manera homogénea por ayuda de una espátula sobre una placa Petri de superficie muy lisa, luego se le aplica aire caliente utilizando un secador de cabello por 10 segundos hasta formar una película homogénea de GO cuando la membrana se encuentre húmedo se aplica el quitosano dispersado en 2% v/v de ácido acético a una concentración de 10mg/mL y dejar secar por 24 h a temperatura ambiente.



**Figura 3: preparación de la membrana de OG**

Fuente: Cortinez (2018)

Caracterización método de Espectrofotometría UV-visible

Se empleó la Espectrofotometría UV-visible con la finalidad

### 3.5.3. ETAPA 3: Elaboración del filtro

Para la elaboración del filtro se necesitó de una jeringa de 100 mL con punta catéter, donde fue conectada una manguera de poliuretano de 120 cm de largo aproximadamente. Con un niple se conectó una pequeña llave para tomar las muestras ya tratadas en los diferentes tiempos, este niple a su vez en el otro extremo continuaba la manguera hacia un pequeño motor con una entrada y salida de agua, ambas estaban conectadas a la manguera, sin embargo, la manguera conectada a la salida desembocaba a la jeringa para que recircule el agua durante los minutos establecidos.

### 3.5.4. ETAPA 4: Análisis de las muestras de agua antes de la filtración con membranas de óxido de grafeno y quitosano.

Para esta etapa se tomó una muestra de 10 L de la quebrada Yumantay donde fue rotulada y cerrada para ser trasladado al laboratorio de Los Olivos en la ciudad de Lima, con el objeto de evaluar las características fisicoquímicas y microbiológicas

(temperatura, O.D., turbidez, conductividad eléctrica DBO5, DQO, pH y coliformes totales).

3.5.5. ETAPA 5: Tratamiento de las muestras de agua aplicando membranas de óxido de grafeno y quitosano.

Cuando la muestra llegó al laboratorio se analizó los parámetros ya mencionados, con la finalidad de empezar el tratamiento con el filtro y membrana de grafeno para la reducción de la *E. coli* en tres periodos de tiempo (20 min, 40 min y 60 min) para determinar cuál será el tiempo óptimo.

3.5.6. ETAPA 6: Análisis de resultados después del tratamiento a aplicación del tratamiento.

Luego de realizar el tratamiento en las muestras se analizaron nuevamente donde se evaluaron los parámetros fisicoquímicos y biológicos para conocer la efectividad de las membranas de GOr y quitosano

3.6. Método de análisis de datos

Toda información obtenida en campo y gabinete en el transcurso del desarrollo del proyecto de investigación será registrada en el programa office Excel, que posteriormente se adjuntan como anexos y fichas de registro. Se observará el procedimiento de la obtención de la membrana de GOr en las diferentes figuras. Para comparar la eficiencia en la reducción de las colonias formadoras de *E.coli* se utilizará el programa estadístico SPSS utilizando los datos del resultado después de la aplicación del tratamiento con la membrana de óxido de grafeno reducido.

3.7. Aspecto ético

Para el desarrollo del proyecto de investigación seremos respetuosos de los derechos de autor, respetaremos los resultados emitidos por los laboratorios certificados y se espera que este proyecto contribuya a futuras investigaciones. Durante este estudio no se utilizará ningún ser vivo o alteración de algunos recursos naturales. Seguiremos los lineamientos establecidos por el código de ética por Concytec como de la universidad César Vallejo según Resolución Rectoral N°0089-2019-UCV.

#### IV. RESULTADOS

A continuación, se presentará los cuadros con los resultados de los análisis fisicoquímicos y microbiológicos con su respectiva interpretación.

Parámetro microbiológico:

Análisis microbiológicos para determinar las colonias de *E. coli* en la muestra 0 (cero) y en las muestras con tratamiento del filtro del grafeno con diferentes tiempos.

**Tabla 2: resultados de *E. Coli***

Coliformes termotolerantes (NMP/100mL)				
<i>E. coli</i> inicial	Quitosano	Filtro	Periodo	<i>E. coli</i>
210	1g	F2	T20	4
			T40	4
			T60	4
	1g	F4	T20	< 3
			T40	< 3
			T60	< 3
	1g	F6	T20	< 3
			T40	< 3
			T60	< 3

F2= Filtro con 2g de OGr

T20= Tiempo de 20 minutos

F4= Filtro con 4g de OGr

T40= Tiempo de 40 minutos

F6= Filtro con 6g de OGr

T60= Tiempo de 60 minutos

Interpretación: la muestra inicial se encontró 210 NMP/100 mL de la bacteria *E. coli* en la muestra, sin embargo, en el primer filtro de 2g de membrana de GOr se redujo a 4 NMP/mL, en el segundo filtro de 4g de membrana de GOr tuvo una mayor efectividad llegando a < 3 coliformes/100mL, los mismos resultados para el tercer y último filtro de 6g de GOr. Los resultados de los diferentes filtros y tiempos están por debajo del ECA en la categoría 3, que es lo que se espera el futuro uso de estas aguas.

## Parámetros fisicoquímicos

Estas mediciones nos ayudaran a conocer mejor las condiciones de la muestra inicial y las muestras tratadas con los 3 filtros, mismo la efectividad de los filtros con GOr en los tres tiempos.

**Tabla 3: resultados de la DQO**

Demanda Química de Oxígeno (mg/L)				
DQO Inicial	Quitosano	Filtro	Periodo	DQO
1408	1g	F2	T20	850
			T40	831
			T60	822
	1g	F4	T20	586
			T40	575
			T60	536
	1g	F6	T20	527
			T40	431
			T60	219

F2= Filtro con 2g de GOr

F4= Filtro con 4g de GOr

F6= Filtro con 6g de GOr

T20= Tiempo de 20 minutos

T40= Tiempo de 40 minutos

T60= Tiempo de 60 minutos

Interpretación: en la muestra inicial el valor de la DQO fue de 1408mg/L, sin embargo, una variación en las siguientes muestras ya tratadas, como observamos en el cuadro el valor más alto fue en el filtro con 2g de GOr (F2) con el primer tiempo (20min) de 850mg/l y el tiempo y filtro óptimo fue el último filtro de 6g (F6T60) de GOr con un valor de 219mg/L.



**Tabla 4: resultados de la DBO5**

Demanda Biológica de Oxígeno mg/L				
DBO5 inicial	Quitosano	Filtro	Periodo	DBO5
1011	1g	F2	T20	641
			T40	627
			T60	615
	1g	F4	T20	374
			T40	339
			T60	324
	1g	F6	T20	331
			T40	288
			T60	152

F2= Filtro con 2g de GOr

T20= Tiempo de 20 minutos

F4= Filtro con 4g de GOr

T40= Tiempo de 40 minutos

F6= Filtro con 6g de GOr

T60= Tiempo de 60 minutos

Interpretación: en la muestra inicial observamos una DBO5 de 1011 mg/L y la disminución en los tres filtros, en el F2T60 fue de 615mg/L, en F4T60 fue de 324mg/L siendo la de menor DBO5 el F6T60 con 152 mg/L.

**Tabla 5: resultados de la turbidez**

Turbidez (NTU)				
Turbidez inicial	Quitosano	Filtro	Periodo	Turbidez
11.3	1g	F2	T20	51.3
			T40	55.2
			T60	55.8
	1g	F4	T20	151
			T40	148
			T60	142
	1g	F6	T20	12.8
			T40	13.7
			T60	13.4

F2= Filtro con 2g de GOr

T20= Tiempo de 20 minutos

F4= Filtro con 4g de GOr

T40= Tiempo de 40 minutos

F6= Filtro con 6g de GOr

T60= Tiempo de 60 minutos

Interpretación: en el cuadro de turbidez se obtuvo un valor inicial de 11.3 NTU, en el filtro F2 con periodo de tiempo de 60 min el valor fue de 55.8 NTU, en el filtro F4 la turbidez más alta fue de 151NTU en el periodo de tiempo de 20 minutos y finalmente en el filtro F6 la turbidez fue de 13.7 en el periodo de tiempo de 40 minutos.

**Tabla 6: resultados de O.D.**

O.D.	Oxígeno disuelto (mg/L)			O.D.
	Quitosano	Filtro	Periodo	
0.19	1g	F2	T20	0.31
		F2	T40	0.28
		F2	T60	0.31
	1g	F4	T20	0.28
		F4	T40	0.31
		F4	T60	0.34
	1g	F6	T20	0.35
		F6	T40	0.38
		F6	T60	0.31

F2= Filtro con 2g de GOr

T20= Tiempo de 20 minutos

F4= Filtro con 4g de GOr

T40= Tiempo de 40 minutos

F6= Filtro con 6g de GOr

T60= Tiempo de 60 minutos

Interpretación: el OD en la muestra fue 0.19 mg/L, en el filtro de 2g de OGr varía según el tiempo de circulación de agua, en el F2T20 y F2T60 el valor fue igual, de 0.31 mg/L, los valores más altos ligeramente son los del filtro F6 con 0,35 mg/L, 0.38 mg/L, y 0.31 mg/L en los periodos de tiempo 20 min, 40min y 60 min respectivamente.

**Tabla 7: resultados de pH**

Potencial de hidrogeno (pH)				
pH inicial	Quitosano	Filtro	Periodo	pH
6.87	1g	F2	T20	4.30
			T40	4.39
			T60	4.47
	1g	F4	T20	4.07
			T40	4.04
			T60	4.02
	1g	F6	T20	3.17
			T40	3.23
			T60	3.25

F2= Filtro con 2g de GOr

T20= Tiempo de 20 minutos

F4= Filtro con 4g de GOr

T40= Tiempo de 40 minutos

F6= Filtro con 6g de GOr

T60= Tiempo de 60 minutos

Interpretación: los valores de este parámetro dieron como resultado un pH ácido, cuando la muestra inicial señalo un pH de 6.87 casi neutro, lo que suponemos que puede tener como influencia los ácidos agregados en la elaboración de la membrana de grafeno.

**Tabla 8: resultados de la temperatura**

Temperatura (°C)				
T° inicial	Quitosano	Filtro	Periodo	T°
19.7	1g	F2	T20	19.7
			T40	19.7
			T60	19.7
	1g	F4	T20	19.7
			T40	19.7
			T60	19.5
	1g	F6	T20	19.7
			T40	19.7
			T60	19.7

F2= Filtro con 2g de GOr

T20= Tiempo de 20 minutos

F4= Filtro con 4g de GOr

T40= Tiempo de 40 minutos

F6= Filtro con 6g de GOr

T60= Tiempo de 60 minutos

Interpretación: en la tabla N° 9 se obtuvo una temperatura de 19.7 °C en todos los filtros y los distintos periodos de tiempo, excepto en el F4T60 que hubo una ligera variación que fue 19.5 °C.

**Tabla 9: resultados de la conductividad eléctrica**

Conductividad eléctrica (mS/cm)				
C.E. inicial	Quitosano	Filtro	Periodo	C.E.
0.714	1g	F2	T20	0.793
			T40	0.618
			T60	0.590
	1g	F4	T20	1.318
			T40	1.316
			T60	1.334
	1g	F6	T20	0.572
			T40	0.527
			T60	0.584

F2= Filtro con 2g de GOr

F4= Filtro con 4g de GOr

F6= Filtro con 6g de GOr

T20= Tiempo de 20 minutos

T40= Tiempo de 40 minutos

T60= Tiempo de 60 minutos

Interpretación: en la tabla N° 9 la conductividad eléctrica inicial fue de 0.714 mS/cm, en las muestras de agua tratada se obtuvo valores similares, sin embargo, en el filtro F4 se obtuvo los valores más altos, 1.318 mS/cm, 1.316 mS/cm y 1.334 S/cm en los periodos de tiempo de 20, 40 y 60 minutos respectivamente.

#### 4.1 Análisis estadístico

##### 4.1.1 Contrastación de la Hipótesis

Para proceder a analizar los datos con pruebas de inferencia estadística se corroborará si se distribuyen de manera normal.

Para ello, se determina la prueba de normalidad para determinar si la distribución es normal.

### Hipótesis específica 1

H1. Los parámetros físico-químicos presentes en las aguas de la quebrada Yumantay antes y después del tratamiento con membrana de óxido de grafeno se ajustan a una distribución normal.

Ho. Los parámetros físico-químicos presentes en las aguas de la quebrada Yumantay antes y después del tratamiento con membrana de óxido de grafeno se ajustan a una distribución NO normal.

Datos

**Tabla 10: resultados de los parámetros físico-químicos**

Pruebas	Tiempos	Temperatura (°C)	pH (1-14)	Conductividad eléctrica (mS/cm)	OD (mg/L)	TURBIDEZ (NTU)	DBO5 (mg/L)	DQO (mg/L)
Muestra A (2 g. OGR)	Inicial1	19.7	6.87	0.714	0.19	11.3	1011	1408
	F2-T20	19.7	4.3	0.793	0.31	51.3	641	850
	F2-T40	19.7	4.39	0.618	0.28	55.2	627	831
	F2-T60	19.7	4.47	0.590	0.31	55.8	615	822
Muestra B (4 g. OGR)	Inicial2	19.7	6.87	0.714	0.19	11.3	1011	1408
	F4-T20	19.7	4.07	1.318	0.28	151	374	586
	F4-T40	19.7	4.04	1.316	0.31	148	339	575
	F4-T60	19.5	4.02	1.334	0.34	142	324	536
Muestra C (6 g. OGR)	Inicial3	19.7	6.87	0.714	0.19	11.3	1011	1408
	F6-T20	19.7	3.17	0.572	0.35	12.8	331	527
	F6-T40	19.7	3.23	0.527	0.38	13.7	288	431
	F6-T60	19.7	3.25	0.584	0.31	13.4	152	219

**Tabla 11: Resumen del procesamiento de los casos**

	Casos					
	Válidos		Perdidos		Total	
	N	Porcentaje	N	Porcentaje	N	Porcentaje
pH final	10	90,9%	1	9,1%	11	100,0%
CE final	10	90,9%	1	9,1%	11	100,0%
OD final	10	90,9%	1	9,1%	11	100,0%
Turbidez final	10	90,9%	1	9,1%	11	100,0%
DBO5 final	10	90,9%	1	9,1%	11	100,0%
DQO final	10	90,9%	1	9,1%	11	100,0%

**Descriptivos**

		Estadístico	Error típ.	
pH final	Media	4,1810000	,33703758	
	Intervalo de confianza para la media al 95%	Límite inferior	3,4185680	
		Límite superior	4,9434320	
	Media recortada al 5%	4,0877778		
	Mediana	4,0550000		
	Varianza	1,136		
	Desv. típ.	1,06580642		
	Mínimo	3,17000		
	Máximo	6,87000		
	Rango	3,70000		
	Amplitud intercuartil	1,16500		
	Asimetría	1,924	,687	
	Curtosis	4,948	1,334	

	Media		,836600	,1087392
	Intervalo de confianza para la media al 95%	Límite inferior	,590615	
		Límite superior	1,082585	
	Media recortada al 5%		,826167	
CE final	Mediana		,666000	
	Varianza		,118	
	Desv. típ.		,3438634	
	Mínimo		,5270	
	Máximo		1,3340	
	Rango		,8070	
	Amplitud intercuartil		,7355	
	Asimetría		,865	,687
	Curtosis		-1,340	1,334
	Media		,306000	,0161383
	Intervalo de confianza para la media al 95%	Límite inferior	,269493	
		Límite superior	,342507	
	Media recortada al 5%		,308333	
OD final	Mediana		,310000	
	Varianza		,003	
	Desv. típ.		,0510338	
	Mínimo		,1900	
	Máximo		,3800	
	Rango		,1900	
	Amplitud intercuartil		,0625	
	Asimetría		-1,114	,687
	Curtosis		2,645	1,334
	Media		65,4500	18,70328
	Intervalo de confianza para la media al 95%	Límite inferior	23,1403	
		Límite superior	107,7597	
Turbidez final	Media recortada al 5%		63,7056	
	Mediana		53,2500	
	Varianza		3498,125	
	Desv. típ.		59,14495	
	Mínimo		11,30	
	Máximo		151,00	
	Rango		139,70	

	Amplitud intercuartil		130,25	
	Asimetría		,704	,687
	Curtosis		-1,393	1,334
	Media		470,2000	79,50245
	Intervalo de confianza para la media al 95%	Límite inferior	290,3530	
		Límite superior	650,0470	
	Media recortada al 5%		457,8333	
	Mediana		356,5000	
DBO5 final	Varianza		63206,40	
			0	
	Desv. típ.		251,4088	
			3	
	Mínimo		152,00	
	Máximo		1011,00	
	Rango		859,00	
	Amplitud intercuartil		315,50	
	Asimetría		1,073	,687
	Curtosis		1,124	1,334
	Media		678,5000	102,2173
				3
	Intervalo de confianza para la media al 95%	Límite inferior	447,2683	
		Límite superior	909,7317	
	Media recortada al 5%		663,5000	
	Mediana		580,5000	
DQO final	Varianza		104483,8	
			33	
	Desv. típ.		323,2395	
			9	
	Mínimo		219,00	
	Máximo		1408,00	
	Rango		1189,00	
	Amplitud intercuartil		332,75	
	Asimetría		1,149	,687
	Curtosis		2,348	1,334

Fuente: Procesamiento de datos en *IBM SPSS Statistics v.24, 2021*



**Tabla 12: prueba de normalidad de los parametros fisico-quimicos**

**Pruebas de normalidad**

	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
pH final	,293	10	,015	,773	10	,007
CE final	,250	10	,075	,751	10	,004
OD final	,231	10	,138	,896	10	,196
Turbidez final	,265	10	,045	,788	10	,010
DBO5 final	,249	10	,079	,887	10	,155
DQO final	,213	10	,200*	,901	10	,227

\*. Este es un límite inferior de la significación verdadera.

a. Corrección de la significación de Lilliefors

Fuente: Procesamiento de datos en *IBM SPSS Statistics v.24, 2021*

Criterio usado para la prueba de hipótesis:

Si  $P\text{value} > \alpha=0.05$ ; Siguen una distribución normal. Se acepta  $H_0$

Si  $P\text{value} < \alpha=0.05$ ; No siguen una distribución normal. Se rechaza  $H_0$

Como el p-value es mayor en OD, DBO5 y DQO que el nivel de significancia ( $\alpha=0.05$ ), y es menor a pH, CE, y Turbidez entonces los datos se ajustan a una distribución No normal, entonces se puede concluir que los datos son no paramétricos.

Nota: No se toma en cuenta la temperatura en vista que se mantiene constante.

Hipótesis específica 2

H1. Los parámetros microbiológicos presentes en las aguas de la quebrada Yumantay antes y después del tratamiento con membrana de óxido de grafeno se ajustan a una distribución normal.

H0. Los parámetros microbiológicos presentes en las aguas de la quebrada Yumantay antes y después del tratamiento con membrana de óxido de grafeno se ajustan a una distribución NO normal.

**Tabla 13: resultados microbiológico**

Pruebas	Tiempos	<i>Escherichia coli</i> NMP/100 mL
Muestra A (2 g. OGR)	Inicial1	2100
	F2-T20	4
	F2-T40	4
	F2-T60	4
Muestra B (4 g. OGR)	Inicial2	2100
	F4-T20	<3
	F4-T40	<3
	F4-T60	<3
Muestra C (6 g. OGR)	Inicial3	2100
	F6-T20	<3
	F6-T40	<3
	F6-T60	<3

**Tabla 14: Resumen del procesamiento de los casos**

	Casos					
	Válidos		Perdidos		Total	
	N	Porcentaje	N	Porcentaje	N	Porcentaje
<i>Escherichia coli</i>	10	90,9%	1	9,1%	11	100,0%

Fuente: Procesamiento de datos en *IBM SPSS Statistics v.24, 2021*

**Descriptivos**

			Estadístico	Error típ.
<i>Escherichia coli</i>	Media		212,0000	209,77819
	Intervalo de confianza para la media al 95%	Límite inferior	-262,5512	
		Límite superior	686,5512	
	Media recortada al 5%		118,8333	
	Mediana		2,0000	

Varianza	440068,8	
	89	
Desv. típ.	663,3768	
	8	
Mínimo	1,00	
Máximo	2100,00	
Rango	2099,00	
Amplitud intercuartil	3,00	
Asimetría	3,162	,687
Curtosis	10,000	1,334

Fuente: Procesamiento de datos en *IBM SPSS Statistics v.24, 2021*

**Tabla 15: pruebas de normalidad de E. coli**

**Pruebas de normalidad**

	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	Gl	Sig.
<i>Escherichia coli</i>	,523	10	,000	,367	10	,000

a. Corrección de la significación de Lilliefors

Fuente: Procesamiento de datos en *IBM SPSS Statistics v.24, 2021*

Criterio usado para la prueba de hipótesis:

Si  $P\text{value} > \alpha=0.05$ , Siguen una distribución normal. Se acepta  $H_0$

Si  $P\text{value} < \alpha=0.05$ , No siguen una distribución normal. Se rechaza  $H_0$

Como el p-value es menor que el nivel de significancia ( $\alpha=0.05$ ), entonces los datos se ajustan a una distribución NO normal, entonces se puede concluir que los datos son no paramétricos.

Hipótesis específica 3

H1. El tiempo de exposición para reducción de la *E. coli* en las aguas de la quebrada Yumantay antes y después del tratamiento con membrana de óxido de grafeno se ajusta a una distribución normal.

Ho. El tiempo de exposición para reducción de la *E. coli* en las aguas de la quebrada Yumantay antes y después del tratamiento con membrana de óxido de grafeno se ajustan a una distribución NO normal

**Tabla 16: resultados de reducción de *E. coli***

Pruebas	Tiempo (min)	<i>Escherichia coli</i> NMP/100 mL
<b>Muestra A (2 g. OGR)</b>	0	2100
	20	4
	40	4
	60	4
<b>Muestra B (4 g. OGR)</b>	0	2100
	20	<3
	40	<3
	60	<3
<b>Muestra C (6 g. OGR)</b>	0	2100
	20	<3
	40	<3
	60	<3

**Tabla 17: Resumen del procesamiento de los casos**

	Tiempo	Casos					
		Válidos		Perdidos		Total	
		N	Porcentaje	N	Porcentaje	N	Porcentaje
<i>Escherichia coli</i>	,00	1	100,0%	0	0,0%	1	100,0%
	20,00	3	100,0%	0	0,0%	3	100,0%
	40,00	3	100,0%	0	0,0%	3	100,0%
	60,00	3	100,0%	0	0,0%	3	100,0%

**Descriptivos<sup>a</sup>**

	Tiempo	Estadístico	Error típ.
	20,00 Media	2,6667	,66667

		Intervalo de confianza para la media al 95%	Límite inferior	-2,018	
			Límite superior	5,5351	
		Media recortada al 5%		.	
		Mediana		2,0000	
		Varianza		1,333	
		Desv. típ.		1,15470	
		Mínimo		2,00	
		Máximo		4,00	
		Rango		2,00	
		Amplitud intercuartil		.	
		Asimetría		1,732	1,225
		Curtosis		.	.
		Media		2,0000	1,0000 0
		Intervalo de confianza para la media al 95%	Límite inferior	-2,3027	
			Límite superior	6,3027	
		Media recortada al 5%		.	
		Mediana		1,0000	
	40,00	Varianza		3,000	
		Desv. típ.		1,73205	
		Mínimo		1,00	
		Máximo		4,00	
		Rango		3,00	
		Amplitud intercuartil		.	
		Asimetría		1,732	1,225
		Curtosis		.	.
		Media		2,0000	1,0000 0
		Intervalo de confianza para la media al 95%	Límite inferior	-2,3027	
			Límite superior	6,3027	
		Media recortada al 5%		.	
	60,00	Mediana		1,0000	

*Escherichia coli*

Varianza	3,000	
Desv. típ.	1,73205	
Mínimo	1,00	
Máximo	4,00	
Rango	3,00	
Amplitud intercuartil	.	
Asimetría	1,732	1,225
Curtosis	.	.

a. *Escherichia coli* es una constante cuando Tiempo = ,00 y se ha desestimado.

Fuente: Procesamiento de datos en *IBM SPSS Statistics v.24, 2021*

**Tabla 18: Pruebas de normalidad de E. coli**

	Tiempo	Kolmogorov-Smirnov <sup>b</sup>			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
<i>Escherichia coli</i>	20,00	,385	3	.	,750	3	,000
	40,00	,385	3	.	,750	3	,000
	60,00	,385	3	.	,750	3	,000

a. *Escherichia coli* es una constante cuando Tiempo = ,00 y se ha desestimado.

b. Corrección de la significación de Lilliefors

Fuente: Procesamiento de datos en *IBM SPSS Statistics v.24, 2021*

Criterio usado para la prueba de hipótesis:

Si Pvalue >  $\alpha=0.05$ , Siguen una distribución normal. Se acepta Ho

Si Pvalue <  $\alpha=0.05$ , No siguen una distribución normal. Se rechaza Ho

Como el p-value es menor que el nivel de significancia ( $\alpha=0.05$ ), entonces los datos se ajustan a una distribución NO normal, entonces se puede concluir que los datos son no paramétricos.

Hipótesis general

H1: La cantidad de colonias de *E. coli* presentes en las aguas de la quebrada Yumantay se reducen considerablemente utilizando membrana de óxido de grafeno

Ho: La cantidad de colonias de *E. coli* presentes en las aguas de la quebrada Yumantay no se reducen considerablemente utilizando membrana de óxido de grafeno.

Para el contraste mediante medias de pruebas distintas se utiliza la **prueba de ANOVA**.

**Tabla 19: Prueba de homogeneidad de varianzas**

	Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
pH final	,002	2	6	,998
CE final	,101	2	6	,905
OD final	1,562	2	6	,284
Turbidez final	,022	2	6	,978
DBO5 final	,181	2	6	,839
DQO final	,331	2	6	,731
Escherichia coli	,727	2	6	,521

Fuente: Procesamiento de datos en *IBM SPSS Statistics v.24, 2021*

Criterio usado para la igualdad de varianzas:

Si Pvalue >  $\alpha=0.05$  se acepta la Ho, luego los grupos son homogéneos.

Si Pvalue <  $\alpha=0.05$  Se rechaza Ho, luego los grupos no son homogéneos.

**Tabla 20: ANOVA de un factor**

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	8,041	3	2,680	7,368	,020
Intra-grupos	2,183	6	,364		
Total	10,223	9			

	Inter-grupos	,026	3	,009	,050	,984
CE final	Intra-grupos	1,038	6	,173		
	Total	1,064	9			
	Inter-grupos	,015	3	,005	3,626	,084
OD final	Intra-grupos	,008	6	,001		
	Total	,023	9			
	Inter-grupos	3263,685	3	1087,895	,231	,871
Turbidez final	Intra-grupos	28219,440	6	4703,240		
	Total	31483,125	9			
	Inter-grupos	336078,267	3	112026,089	2,888	,125
DBO5 final	Intra-grupos	232779,333	6	38796,556		
	Total	568857,600	9			
	Inter-grupos	617130,500	3	205710,167	3,819	,076
DQO final	Intra-grupos	323224,000	6	53870,667		
	Total	940354,500	9			
	Inter-grupos	3960605,33	3	1320201,77	540082,5	,000
		3		8	45	
<i>Escherichia coli</i>	Intra-grupos	14,667	6	2,444		
	Total	3960620,00	9			
		0				

Fuente: Procesamiento de datos en *IBM SPSS Statistics v.24, 2021*

Criterio usado para la prueba de hipótesis:

Si  $P\text{value} > \alpha=0.05$  se acepta la  $H_0$

Si  $P\text{value} < \alpha=0.05$  Se rechaza  $H_0$

Observando las significancias, notamos que al menos una de las significancias es menos de 0.05. Por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa.



## V. DISCUSIÓN

En la presente investigación se logró reducir la *E. coli* mediante la aplicación de las membranas de óxido de grafeno. Los resultados mostraron reducción al 98.09% y 98.57% en las aguas de la quebrada Yumantay. Así mismo Castro et al (2019) menciona que, el papel de óxido de grafeno bifásico logró reducir el 25% de la *E.coli*. En cambio para Cortinez (2018) quien realizó dos papeles tipos de papeles de óxido de grafeno, papel de óxido de grafeno y papel de óxido de grafeno con quitosano, teniendo una reducción del  $22\pm 5$  y  $30\pm 2$  (%). Para Mankar et al (2020) quien fabricó nanopartículas de óxido de grafeno reducido a su vez este logro capturar el 99% de la *E. coli* presente en el agua potable.

Se realizaron las membranas de óxido de grafeno empleando 1 g de solución quitosano, con el propósito de mejorar las propiedades físicas y mecánicas de las membranas, tomándose en cuenta lo mencionado por, Castro et al (2019), desarrolló un papel GO bifásico y estable en el agua, basado en un método de fundición y la adición de una capa de revestimiento de quitosano (CH). Mientras que el papel GO se dispersa posteriormente de la inmersión en agua, el agua se convierte en polvo. Además, Cortínez D. (2018) sintetizó GO con la modificación del método Hummers y preparó los papeles obteniéndose como resultado papel de GO y un papel híbrido (GO/CS).

Li, et al (2018), desarrolló nuevos compuestos de quitosano clorográfico y óxido de grafeno (CSCI/GO), se prepararon mediante un óxido de grafeno en el tratamiento de aguas residuales.

Se aplicaron las membranas con diferentes dosis de óxido de grafeno en tres diferentes tiempos (20 min, 40 min y 60 min) ,obteniéndose como resultados que la aplicación de las membranas con un tiempo de 20 min reduce la *E. Coli* a 4 NMP/100 mL y las membranas expuestas a los tiempos de 40 min y 60 min reducen la *E. Coli* a 3 NMP/100 mL .Mientras que Cortinez (2018) se introdujo el papel de óxido de grafeno en las muestras de agua por 24 horas .Para Mankar et al (2020) el óxido de grafeno reducido elimina la *E.coli* en 10 min, mientras que al polímero microporoso se le incrusto óxido de grafeno tardó 13 minutos.

Para la elaboración de las membranas de óxido de grafeno se emplearon dosis de 2g, 4g y 6g de óxido de grafeno, como fortaleza se buscó determinar si la concentración de óxido de grafeno influye en la reducción de *E. coli*. Se concluyó que, a mayor cantidad de óxido de grafeno mayor será la eficiencia de las membranas de óxido de grafeno para la reducción de colonias formadoras de la *E. coli*.

Se obtuvo como resultados después de la aplicación de los tratamientos con diferentes dosis de óxido de grafeno en diferentes tiempos, como resultados de la reducción las membranas elaboradas con 2g de óxido de grafeno redujeron a 4 colonias formadoras de la *E.coli*, mientras que las membranas compuestas por 4g y 6 g de óxido de grafeno en los tres diferentes tiempos(20 min , 40 min y 60 min) < 3 colonias formados de *E.coli*, sabiendo que según el D.S 007-2017 MINAM, en el que se aprueban los Estándares de Calidad Ambiental (ECA) para agua y disposiciones complementarias , en la categoría 3. Riego de vegetales y Bebida de animales en los parámetros microbiológicos para las colonias formadoras de la *E. coli* no debe exceder los 100 NMP/100 mL. Encontrándose los datos obtenidos por debajo del ECA establecido para el citado parámetro.

Para los parámetros físico-químicos medidos tales como la temperatura se estableció que las muestras tenían una temperatura de 17.9 °C, para la categoría 3. Riego de vegetales y bebida de animales la temperatura deberá ser  $\Delta$  3, que indica variación de 3 °C respecto al promedio mensual multianual (18.7°C). Encontrándose dentro de este parámetro

Para el parámetro de DBO5 en la categoría 3. Riego de vegetales y bebida de animales establece 15 mg/L, la medición de este parámetro en la muestra inicial fue de 1011 mg/L, después de la aplicación del tratamiento con la membrana de 2g de óxido de grafeno con un tiempo de exposición de 20 min se obtuvo como resultado 641 mg/L. Al realizar la aplicación de las membranas que contienen 6 g de óxido de grafeno con un tiempo de exposición de 60 min se logró se obtuvo como resultado 152 mg/L.

Para el parámetro DQO en la categoría 3. Riego de vegetales y bebida de animales establece 40 mg/L. La medición de este parámetro en la muestra inicial fue de 1408

mg/L, después de la aplicación del tratamiento con la membrana que contiene 2 g de óxido de grafeno se obtuvo como resultado 850 mg/L. Al aplicar la membrana de 6g de óxido de grafeno se obtuvo como resultado 219 mg/L.

Según WU en su investigación en la cual de evaluó el crecimiento bacteriano mediante la *E. coli* y *bacillus subtilis*, cuando se usó OG-POAA su capacidad inhibitoria se redujo al 75%. Se demostró que el quitosano tiene un amplio espectro antimicrobiano tanto para las bacterias Gram positivas y Gram negativas. Los resultados concluyeron que, cuando las bacterias se tratan solo con OG estas proliferan, pero al tratarse con OG-POAA y OG-quitosano logro disminuir a 0.01% y 0% respectivamente. Los resultados que lograron obtener en la presente e investigación concuerdan con lo mencionado por Wu, ya que se logró reducir el 99.85% con membranas de óxido de grafeno y quitosano.

Gusev mencionó la toxicidad del óxido de grafeno depende de una variedad de características del rGO. Además menciona que los resultados de la interacción del rGO y *E. coli* depende del tipo de cultivo medio, se evaluó en soluciones salinas. Se descartó los potenciales el rOG para la filtración y separación de contaminantes biológicos. Se demostró en la presente investigación que las membranas de óxido de grafeno logran inhibir y eliminar la *E. coli* quedando en tela de juicio la capacidad de filtrar contaminantes biológicos.

Jira en su investigación científica compara los efectos del nanodiamante y el óxido de grafeno, se redujo un 45% de la *E. coli* con la exposición a los nanodiamantes. El uso de agares salados no mejoro los efectos de inhibición de los nanomateriales, a diferencia de Jira concluyo que los agares salados no mejoran la inhibición de la *E. coli*. En la presente investigación se logró reducir a un 99.85% confirmando que, los materiales elaborados a la base de óxido de grafeno poseen capacidad inhibitoria para determinadas bacterias.

Mathura en su investigación científica desarrollo fibras ultrafinas que contenían nanoplaquetas de 8% grafeno con la finalidad de evaluar el crecimiento microbiano, se emplearon bacterias negativas la *E. coli* y *Pseudoma aeruginosa*. Concluyó que

la presencia de 2% y 4% en peso de las fibras cargadas con GNP promovieron el crecimiento, mientras que en las fibras de 8% cargadas con GNP mostraron actividad antimicrobiana. Dichos resultados indican que la concentración inhibitoria mínima de GNP requerida de una fibra es del 8% en peso. Cabe mencionar que la presente investigación concluyó que a mayor cantidad de óxido de grafeno reducido mayor será la capacidad de reducción de bacterias de la membrana.

Ming elaboró nanohojas con el fin de evaluarlas con bacterias tales para *E. coli*, *S.aureaus*, *baculos* y *shewanella* en un tiempo de 3 horas se logró casi el 100% de la adherencia para la *E. coli*. Se determinó que la acides tiene un efecto muy importante en la propiedad antimicrobiana. En la presente investigación se obtuvieron datos, el pH del agua varía entre 3 y 4 es decir era ácida.

Akrimaha empelo el óxido de grafeno con un filtro antibacteriano para las bacterias como la *E. coli*, *Salmonella spp*, *Vibrio spp*. Se comparó la capacidad del óxido de grafeno con las almejas. Se evaluaron en dos condiciones, en una granja en condiciones normales y la otra con el filtro de óxido de grafeno. Se concluyó que el filtro antibacteriano de GO posee potencial para reducir bacterias patógenas en el agua en comparación con la almeja asiática. La afirmación de Akrimaha concuerda con los resultados obtenidos en nuestra presente investigación ya que la reducción que la *E. coli* fue casi del 100%.

Mokkapati evaluó el crecimiento bacteriano del óxido de grafeno y el óxido de grafeno reducido, el cual fue evaluar en cepas de *Bacillus subtilis* y *Pseudomonas aeruginosa*. Se determinó que el óxido de grafeno reducido mostró una fuerte actividad antibacteriana contra ambas bacterias. Por el contrario, el GO integrado fue inofensivo para ambas bacterias. En comparación con otros materiales probados, rGO tiene mayor capacidad de oxidación. Se demostró que rGO fue toxico para *B.subtilis* y *P.aeruginosa* GO y r GO no fue dañino para ninguna de las bacterias. El crecimiento de *P.aeruginosa* se inhibió en placas de GO después de cierto tiempo que posiblemente podría ser debido a la reducción de GO a rGO por *P.aeruginosa*. Lo mencionado por Mokkapati es coherente con la presente

investigación ya que se elaboró las membranas con óxido de grafeno reducido y se obtuvieron resultados mayores al 99%.

Barbolina, et al (2016) en su investigación busca establecer si es que la pureza del óxido de grafeno determina su actividad antimicrobiana, se determinó que bajo condiciones in vitro utilizadas no se le podrían atribuir propiedades antibacterianas a FO altamente purificado. No fue bactericida ni bacteriostático en un amplio rango de concentraciones para la *E. coli* y *S.aereaus*. Los datos confirman que las propiedades bactericidas de GO son críticamente dependiente del método de purificación y preparación. Lo que contradice a los resultados obtenidos en la presente investigación, puesto que se obtuvieron resultados positivos en cuanto a la reducción de la *E. coli*. Además, que en las dos investigaciones se empleó el mismo método de síntesis del grafito.

Linklater expone en su artículo el mecanismo bactericida de nanomateriales de grafeno, se produce por la perturbación física de bacterias, membranas celulares, guiadas por el grado de lipofilicidad del sustrato de grafeno. La deformación de la membrana ocurre inicialmente a través de la formación de poros y finalmente un desequilibrio de presión osmótica y ruptura celular. Para Barrios quien, menciona que la inhibición de las bacterias se produce por el estrés oxidativo, que básicamente consiste en que óxido de grafeno absorbe los nutrientes de los que se alimentan.

Chen en su investigación en la cual desarrollo nanopartículas de plata con láminas de óxido de grafeno con el fin de evaluar la eficiencia antibacteriana, fueron evaluadas contra la MDR clínica *Escherichia coli*. Los nanocompuestos de GO-Ag mostraron mayores niveles antimicrobianos probados, así se demostró que podrían inhibir en gran medida el crecimiento de las bacterias. Queda demostrado que los materiales elaborados de óxido de grafeno o sus diferentes derivados son ampliamente empleados en la inhibición de bacterias. Además, que la pureza del óxido de grafeno influye en la capacidad antimicrobiana.

Barrios en su investigación científica menciona que para identificar los determinantes fisicoquímicos de la actividad antimicrobiana de GO, se elaboraron

diferentes materiales de GO. Los resultados demostraron que el GO reduce la *E. coli* con una viabilidad del 50%. Además, los datos finales no muestran diferencias en las unidades formadoras de colonias, lo que indica que la inhibición del crecimiento celular es el resultado de la adsorción de células bacterianas en el material GO. Este estudio demuestra que, revela que la reducción de GO altera tanto los mecanismos de interacción celular como el grafo de toxicidad para las bacterias. Se puede deducir que el óxido de grafeno tiene propiedad antibacteriana e inhibe el crecimiento y reproducción de las bacterias una vez en contacto. Los resultados en esta investigación apoyan a lo obtenido en nuestra investigación.

Krishnamoorthy en su investigación evalúa la eficacia antibacteriana de las nanolaminas de grafeno con cuatro tipos de bacterias patógenas, *E. coli*, *S. typhimuirum*, *B. subtilis* y *E. faecalis*. Los resultados experimentales demostraron que el grafeno preparado nanohojas exhiben una buena actividad antibacteriana contra las cuatro especies bacterianas probadas: *E. coli*, *S. typhimuirum*, *B. subtilis* y *E. faecalis*. Los resultados generados por Krishnaoorthy concuerdan con los obtenidos en la presente investigación, entendiéndose que el óxido de grafeno reducido posee propiedades antibacterianas.

Según Richtera las nanopartículas (Cu, Zn, Mn, Ag, AgP, Se) y posteriormente examinadas como antimicrobiano agente para algunas cepas bacterianas *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), resistente a la meticilina *Staphylococcus aureus* (MRSA) y *Escherichia coli* (*E. coli*). La inhibición más pronunciada Se observó crecimiento de *S. aureus* después de la aplicación de compuesto de óxido de grafeno con nanopartículas de selenio en comparación con el control. Queda evidenciado que no solo el quitosano potencia las capacidades inhibitorias del óxido de grafeno reducido.

Romero-Vargas en su investigación científica determino que, la interacción fisicoquímica no es la base de la acción principal del GO en las bacterias. Los resultados mostraron que el contacto directo entre GO y el exterior de membrana de *E. coli* se caracterizan por interacciones repulsivas. Se considera que se debe conocer el mecanismo de reducción del óxido de grafeno reducido puesto que se

podría entender mucho mejor de qué manera se produce, Romero-Vargas nos aporta una característica de la capacidad de reducción del rGO.

Para Castro-Beltra quien obtuvo el óxido de grafeno mediante reducción química empleando dos tipos de reductores químicos. Se determinó que la estabilidad coloidal del CMG no depende del pH. LA conductividad eléctrica depende del método de reducción del OG y resulto ser mayor para las muestras reducidas con ácido ascórbico. En la presente investigación se empleó el ácido ascórbico y se concuerda con que, la conductividad es mayor comparado con la conductividad generado por el boruro de sodio que presenta Castro-Beltran

Mejías, et al (2012) elaboró un nanocompuesto a partir de la combinación de polivinilcarbazol y oxido de grafeno evaluadas en *E.coli* y *Rhodococcus opacus*. Los resultados demostraron que el nanocompuesto PVK\_OG presente mayores efectos antimicrobianos que el mismo oxido de grafeno. Se demostró como el nanocompuesto encapsula a las células bacterianas. Lo que se traduce en una reducción de actividad metabólica y muerte celular. Además, se demostró que tiene propiedades antimicrobianas eficientes y que no son tóxicos para los humanos por lo tanto poseen un potencial para la aplicación en industrias y tratamiento de aguas. Los resultados obtenidos en la aplicación de las membranas de óxido de grafeno reducido se complementan con lo expuesto, ya que se comprueba una vez más la propiedad de inhibición del crecimiento bacteriano que poseen los derivados del óxido de grafeno.

Efremova elaboró papeles de óxido de grafeno se evaluaron contra la *E.coli* .Se demostraron que los mecanismos de citotoxicidad del óxido de grafeno no están asociados al estrés oxidativos. Insisten en la importancia de las propiedades fisicoquímicas de los materiales de óxido de grafeno. Además, determinaron que los papeles de óxido de grafeno son materiales no tóxicos. Los resultados complementan nuestra investigación puesto que se coincide en que las membranas de óxido de grafeno tienen capacidad inhibidora, además una vez más se niega que la inhibición de las bacterias se produce por el estrés oxidativos. Lo que contradice a Linklater quien en su investigación científica lo afirma.

Qiang, quien evaluó el efecto citotóxico de las nanocintas en la *E.coli*, quien menciona que las nanocintas de GO inhibieron significativamente el crecimiento y la reproducción de la *E.coli*. Además se evidenció que las nanocintas estimulan a la citomebrana de la *E.coli*. Los experimentos de cultivo en placa mostraron que las nanocintas ejercen un efecto citotóxico significativo sobre *E.coli* de una manera dependiente de la concentración. Dicha afirmación reitera lo mencionado en la presente investigación puesto que se determinó que a mayor dosis de óxido de grafeno reducido mayor ser la capacidad de reducción de bacterias específicamente *E.coli*.

## **VI. CONCLUSIONES**

Las membranas de óxido de grafeno lograron reducir la cantidad de colonias de *E.Coli* presentes en las aguas de la quebrada Yumantay en un 99.85% y 99.80%.

Se determinó que los parámetros físico-químicos de la muestra inicial disminuyeron notablemente al aplicar las membranas de óxido de grafeno tales como conductividad eléctrica, oxígeno disuelto turbidez

El parámetro microbiológico específicamente las colonias formadoras de la *E. Coli*, redujeron notablemente, dichos resultados se obtuvieron al analizar y comprar la muestra inicial y las muestras después de la aplicación de las membranas.

Se pudo determinar que, para que la presente investigación los tiempos óptimos fueron 40 min y 60 min. Cabe mencionar que los resultados obtenidos indican que el tiempo de exposición no influyen en la reducción de *E. Coli*, no obstante, se debe establecer un tiempo mínimo de exposición.

Se menciona como un dato adicional que, a mayor proporción de óxido de grafeno mayor fue la reducción de la *E. Coli*.



## **VII. RECOMENDACIONES**

Se recomienda realizar como mínimo 4 repeticiones para minimizar el margen de error y así obtener resultados mucho más confiables.

Además, al realizar la toma de muestras de la fuente como mínimo 03 litros por puntos de muestra ya que al realizar los análisis y aplicar los tratamientos se utilizarán en mayor proporción.

Al realizar la adquisición de los insumos se recomienda comprar cierta cantidad adicional para poder emplearlo como reserva.

Además, para la caracterización del óxido de grafeno se recomienda aplicar más de un método o técnica, con la finalidad de asegurar la pureza del óxido de grafeno obtenido.

Establecer como mínimo el tiempo de exposición 10 min.

## REFERENCIAS

ANDRARE, Marlene, LÓPEZ, Lluvia, CALINDO, Aidé. Nanotubos de carbono: funcionalización y aplicaciones biológicas. Artículo de investigación en línea. Revista mexicana de ciencias farmacéuticas. 2012. Disponible en:

[http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1870-01952012000300002](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-01952012000300002).

AKRIMAH, Y, Mohd, ZIN, AN'AMT, M, LEE, Sw y AWENG, E. Developing of graphene oxide (GO) bio-filter for pathogenic bacterial control in farmed Asian clam, *Corbicula fluminea*. International UMT Annual Symposium. IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science 494 (2020) 012001. 2021. Disponible en: <http://doi:10.1088/1755-1315/494/1/012001>

BARBOLINA, I, WOODS, CR, LOZANO, N, KOSTARELOS, K, NOVOSELOV, KS y I ROBERTS, S. Purity of graphene oxide determines its antibacterial activity. Artículo en línea OP publishing. 2016. Disponible en: <http://doi:10.1088/2053-1583/3/2/025025>.

BARRIOS, Ana, WANG, Yan, GILBERTSON, Leanne y PERREAUL, François. Structure–Property–Toxicity Relationships of Graphene Oxide: Role of Surface Chemistry on the Mechanisms of Interaction with Bacteria. Artículo científico en línea publicado en Environmental science & technology. 2019. Disponible en: DOI: 10.1021/acs.est.9b05057.

CASTRO, Andres, SEPULVEDA, Selene, DELACRUZ; Wencel, CRUZ, Rodolfo. Obtención de grafeno mediante la reducción química del óxido de grafito. Artículo científico en línea en el portal virtual pro .2011. Disponible en: <https://www.virtualpro.co/biblioteca/obtencion-de-grafeno-mediante-la-reduccion-quimica-del-oxido-de-grafito>.

CHEN, Yuqing, WU, Wei, XU, Zeqiao, JIANG, Cheng, HAN, Shuang Jun RUAN and Yong WANG. Photothermal-assisted antibacterial application of graphene oxide-Ag nanocomposites against clinically isolated multi-drug resistant *Escherichia*

*coli*. Artículo en línea en el portal Royal Society open science.2020.Disponible en : <http://dx.doi.org/10.1098/rsos.192019>

CORTINEZ, Diego,PALMA FLUXÁ, Patricia,CASTRO, René,PALZA, Humberto. A multifuncional bi-phasic graphene oxide/chitosan paper for wáter treatment. Separation and Purification Technology.Aritculo científico en línea. 2020. Disponible en: Doi:10.1016/j.seppur.2019.116181.

CORTÍNEZ, Diego. Preparación de papel de óxido de grafeno para aplicaciones en tratamiento de aguas. (Tesis de título). Universidad de Chile. 2018.Disponible en: <http://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/167865/Preparaci%C3%B3n-de-papel-de-%C3%B3xido-de-grafeno-para-aplicaciones-en-tratamiento-de-aguas.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

DÍAZ, Abril, RUIZ, Bárcena , REYES, Fernández, CEJUDO, Galván , NOVO Jorrín, PEINADO, Peinado, VALDÉS, Meléndez , FIÑANA, Túnez. Espectrometría: Espectros de absorción y cuantificación colorimétrica de biomoléculas .2017 .Disponible en : [https://www.uco.es/dptos/bioquimica-biol-mol/pdfs/08\\_ESPECTROFOTOMETRIA.pdf](https://www.uco.es/dptos/bioquimica-biol-mol/pdfs/08_ESPECTROFOTOMETRIA.pdf)

EFREMOVA, Ludmila, VASILCHENKO, Alexey, RAKOV, Eduard, y DERYABIN, Dmitry. Toxicity of Graphene Shells, Graphene Oxide, and Graphene Oxide Paper Evaluated with *Escherichia coli* Biotests. Artículo científico en línea de Hindawi publishing corporation Biomed reseach international volumen 2015.Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1155/2015/869361>

FABIAN.M. Día mundial del agua: la contaminación que agota la esperanza de vida.Noticie del periódico La república.2019. Disponible en: <https://larepublica.pe/mundo/1435485-contaminacion-agua-causas-consecuencias-evitarla/>

GUSEV, Alexander, ZAKHAROVA , Olga , MURATOV , Dmitry S, VOROBEVA , Nataliia S, SARKER, Mamun, RYBKIN ,Iaroslav, BRATASHOV, Daniil , Evgeny KOLESNIKOV , Aleš Lapanje, Denis V. KUZNETSOV y Alexander SINITSKII.

Medium-Dependent Antibacterial Properties and Bacterial Filtration Ability of Reduced Graphene Oxide. Artículo en línea de la editorial MDPI.2019.Disponible en: <http://doi:10.3390/nano9101454>.

JIRA, JAROSLAV , REZEK, Bohuslav , KRIHA, Vitezslav , ARTEMENKO, Anna, MATOLÍNOVÁ ID, Iva , SKAKALOVA, Viera , STENCLOVA, Pavla y Alexander ,KROMKA. Inhibition of *E. coli* Growth by Nanodiamond and Graphene Oxide Enhanced by Luria-Bertani Medium. Artículo de investigación científica del portal MDPI.2018.Disponible en :[doi:10.3390/nano8030140](https://doi:10.3390/nano8030140).

KHALILWaleed, Sayyad, Gharieb, ROUBY, Waleed, SADEK, M, FARGHALI, Ahmedy,BATAL,Ahmed.Grapheneoxide-basednanocomposites (GO-chitosan and GO-EDTA) for outstanding antimicrobial potential against some candida species and pathogenic bacteria. International Journal of Biological Macromolecules.Articulo en linea en ScienceDirect. 2020. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.07.205>

Karthikeyan KRISHNAMOORTHY,Murugan VEERAPANDIAN,Ling-He Zhang,Kyusik Yun,and Sang Jae Kim,Antibacterial Efficiency of Graphene Nanosheets against Pathogenic Bacteria via Lipid Peroxidation. Artículo en línea de The journal of Physical Chemistry C.Disponible en : [dx.doi.org/10.1021/jp3047054](https://doi.org/10.1021/jp3047054).

KUMAR, Patrik., ESPEJEL, Jose., CLEDON, Maximiliano, BRAR,Satinder, DUY, Soung, SAUVÉ, Sebastien, KNYSTAUTAS ,Emile. Removal of microcystin-LR and other water pollutants using sand coated with bio-optimized carbon submicron particles: graphene oxide and reduced graphene oxide. Chemical Engineering Journal.Artículo científico en línea en la plataforma de ResearchGate.2020.Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.cej.2020.125398>

LINKLATER, Denver P, BAULIN,Vladimir A., JUODKAZIS , Saulius y IVANOVA, Elena P. Mechano-bactericidal mechanism of graphene nanomaterials. Artículo de investigación científica del portal Royal society publishing.2018.Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1098/rsfs.2017.0060>

MANKAR, Juili., SHARMA, Madhu., RAYALU, Sadhana., KRUPADAM, Reddithota. Molecularly imprinted microparticles (microMIPs) embedded with reduced graphene oxide for capture and destruction of E. coli in drinking water. Materials Science & Engineering C. Artículo científico en línea. 2020. Disponible en : DOI: <https://doi.org/10.1016/j.msec.2020.110672>

MATHARU, Rupy Kaur, HARSHIT, Porwal, CIRIC, Lena y EDIRISINGHE, Mohan. The effect of graphene–poly(methyl methacrylate) fibres on microbial growth. Artículo de investigación científica del portal royalsociety publishing .org. 2018. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1098/rsfs.2017.0058>.

MEJIAS, Isis, SANTOS, Catherine, WEIB, Xin y RODRIGUES, Debora. Toxicity of a polymer–graphene oxide composite against bacterial planktonic cells, biofilms, and mammalian cells. Artículo científico en línea en el portal NANOSCALE. 2012. Disponible en: doi:10.1039/C2NR30774J.

MING, Jiang, SUN, Duos, WEI, Jigping, CHEN, Xiaolan and ZHENG, Nanfeng. Adhesion of Bacteria to a Graphene Oxide Film. Artículo científico en línea de la revista científica ACS Applied Biomaterials. 2020. Disponible en: <http://DOI:10.1021/acsabm.9b01028>

MOKKAPATI, S, PANDIT, Santosh, KIM, Jinho, MARTENSSON, Anders, LOVMAR, Martin, WESTERLUND, Fredrik y MIJAKOVIC, Ivan. Bacterial response to graphene oxide and reduced graphene oxide integrated in agar plates. Artículo en línea de Royal society open science. 2018. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1098/rsos.181083>

Municipalidad Provincial de Coronel Portillo. Actualización del plan de desarrollo urbano de coronel portillo incluye distritos conurbados de Calleria, Yarinacocha y Manantay 2017-2027. 2017. Disponible en :

[http://www.municportillo.gob.pe/images/pdf/doc2018/pdu17-27/memoriad/dp\\_p1.pdf](http://www.municportillo.gob.pe/images/pdf/doc2018/pdu17-27/memoriad/dp_p1.pdf)

NAVARRO, Maria. Determinación de *Escherichia coli* y coliformes totales en aguas por el método de filtración por membrana en agar chromocult. li.2007. Disponible en: <http://www.ideam.gov.co/documents/14691/38155/Coliformes+totales+y+E.+coli+en+Agua+Filtraci%C3%B3n+por+Membrana.pdf/5414795c-370e-48ef-9818-ec54a0f01174>

Organización de las Naciones Unidas para la educación, ciencia y la cultura. Informe mundial de las naciones unidas sobre el desarrollo de los recursos hídricos. Aguas residuales el recurso desaprovechado. 2017. Disponible en: [https://unesdoc.unesco.org/ark:/48223/pf0000247647\\_spa](https://unesdoc.unesco.org/ark:/48223/pf0000247647_spa)

PASAN, B., ENRICO, N., PEÑA, J., RODRIGUES, D. Impact of wáter chemistry, shelf-life and regeneration in the removal of different chemical and biological contaminants in wáter by a model polymetric graphene oxide nanocomposite membrane coating. Journal of Water Process Engineering. 2019. Disponible en: Doi: 10.1016/j.jwpe.2019.100967

PÉREZ, A. Estudio de las propiedades optoelectrónicas en multicapas de óxido de grafeno (MOG) y multicapas óxidos de grafeno reducido (MORG). [Tesis de maestría]. 2019. Disponible en: <http://tesis.pucp.edu.pe/repositorio/bitstream/handell/20500.1>

PÉREZ, Olivia. Estudio prospectivo de los factores ecológicos de los caños naturales en la ciudad de Pucallpa, Ucayali, Perú. [Tesis para optar el grado de académico de maestro en medio ambiente ,gestión sostenible y responsabilidad social].2018. Disponible en: <http://repositorio.unu.edu.pe/handle/UNU/3887>

PORRAS, Eduardo. Secado. Artículo en línea. Informe de procesos de separación química. Instituto tecnológico de Durando. Disponible en: <https://www.doccity.com/es/procesos-de-separacion-secado/5597460/>

QIANG, Shirong , ZHENG BIN, Li , Li , Zhang, LUO, Dongxia , GENG, Rongyue, ZENG, Xueli , LIANG, Jianjun , LI, Ping y FAN, Qiaohui. Cytotoxic Effect of Graphene Oxide Nanoribbons on *Escherichia coli* .Artículo en línea de la revista MDPI.2021.Disponible en: <https://doi.org/10.3390/nano11051339>

Real Academia Española .Disponible en : <https://dle.rae.es/reducci%C3%B3n>

RICHTERA, Lukas, CHUDOBOVA, Dagmar, CIHALOVA, Kristyna, Monika, Vedran Milosavljevic, KREMPLOVA, KOPEL, Pavel, BLAZKOVA, Iva, HYNEK, David, ADAM, Vojtech y KIZEK, Rene. The Composites of Graphene Oxide with Metal or Semimetal Nanoparticles and Their Effect on Pathogenic Microorganisms. Artículo científico en línea en el portal MDPI.2015. Disponible en: doi:10.3390/ma8062994.

RODRÍGUEZ, Alba.Grafeno: Síntesis, propiedad y aplicaciones biomédicas. Artículo de investigación científica.2016.Disponible en : <http://147.96.70.122/Web/TFG/TFG/Memoria/ALBA%20RODRIGUEZ%20VILLALON.pdf>

ROMERO-VARGAS, Santiago, PERREAULT, François, FONSECA, Andreia, y ELIMELECH, Menachem. Interaction of Graphene Oxide with Bacterial Cell Membranes: Insights from Force Spectroscopy. Artículo científico en línea en el portal Environmental Science & technology Letters.Disponible en: DOI: 10.1021/acs.estlett.5b00066

SUN, Meng, LI, Jinghong.Graphene oxide membranes: Functional structures, preparation and environmental applications. Nano Today.Artículo de investigación científica[revisado el 09 de abril del 2018].218.Disponible en : <https://doi.org/10.1016/j.nantod.2018.04.007>

SUNDARAN, Suja, RESHMI, C, SAGITHA, P, MANAF, O, SUJITH, A. Multifunctional graphene oxide loaded nanofibrous membrane for removal of dyes

and coliform from wáter. Journal of Environmental Management, vol. 240, pag. 494-503. Artículo científico. [Revisado el 25 de febrero del 2019]. 2019 Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.03.105>

TUSET, S. Tratamiento de aguas residuales: tipos de membranas de filtración y posibles configuraciones. 2020. Disponible en :<https://condorchem.com/es/blog/tratamiento-de-aguas-residuales-tipos-de-membranas-de-filtracion-y-posibles-configuraciones/>

VILCARROMERO, R. La gestión de la producción. 2007. Disponible en: [http://repositorio.utp.edu.pe/bitstream/UTP/908/6/Raul%20Vilcarromero%20Ruiz\\_Gestion%20de%20la%20produccion.pdf](http://repositorio.utp.edu.pe/bitstream/UTP/908/6/Raul%20Vilcarromero%20Ruiz_Gestion%20de%20la%20produccion.pdf)

WU, Ping-Ching, CHEN<sup>2</sup>, Hua-Han, CHEN, Shih-Yao, WANG, Wen-Lung, YANG, Kun-Lin, HUANG, Chia-Hung, KA, Hui-Fang, CHANG, Jui-Cheng, HSU, Chih-Li Lillian, WANG, Jiu-Yao, CHOU, Ting-Mao y KUO, Wen-Shuo. Graphene oxide conjugated with polymers: a study of culture condition to determine whether a bacterial growth stimulant or an antimicrobial agent?. Artículo científico en línea de Journal of Nanobiotechnology. 2018. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s12951-017-0328-8>

XUFEI, Li, SUN, Junzhi., CHE, Yangli, LV, Yang, LIU, Fang. Antibacterial properties of chitosan chloride-graphene oxide composites modified quartz sand filter media in wáter treatment . International Journal of Biological Macromolecules. Artículo científico en línea extraído de PubMed.gov. 2018. Disponible en: Doi: [10.1016/j.ijbiomac.2018.10.123](https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.10.123)



## ANEXOS

**Anexo 1. Cuadro de Operacionalización de variables**

VARIABLES	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADORES	UNIDAD / ESCALA
V.I membrana de óxido de grafeno	La membrana de óxido de grafeno es una microestructura formada por el apilamiento ordenado de nanoláminas de GO (Cortinez, 2018).	para la elaboración de la membrana de óxido de grafeno se debe tener en cuenta la caracterización del óxido de grafeno	Caracterización del óxido de grafeno	Longitud de onda	cm <sup>-1</sup> /Intervalo
				Fases cristalinas	2 $\theta$ [°]/Intervalo
					cm <sup>-1</sup> /Intervalo
			Fabricación de la membrana	cantidad de quitosano	g /Intervalo
				cantidad de grafeno	g/Intervalo
				diámetro de la membrana	cm/Razón

				volumen de la membrana	cm <sup>3</sup> /g Razón
				Área la membrana	cm/Razón
				Altura de la membrana	cm/Razón
V.D Reducción de <i>E. Coli</i>	Michelli, Millan, Rodulfo, Michelli, Luigi, Careño y Donato (2016) mencionan que, <i>E. coli</i> es un bacilo gram negativo, anaerobio predominante en la flora intestinal humana, usualmente se mantiene de forma inocua y confirmado al lumen intestinal	Para la reducción de <i>E. Coli</i> mediremos parámetros fisicoquímicos y microbiológicos.	Características Físico-Químicas	pH	[0-14]  /Razón
				Temperatura	°C  /Intervalo
				Conductividad	mS/cm  /Razón
			Características Microbiológicas	<i>Escherichia Coli</i>	NMP/100 mL  /Intervalo
			Tiempo de exposición	tiempo de exposición	min/Continuo

	Reducción de <i>E.coli</i> mediante la aplicación de membranas de óxido grafeno en las aguas contaminadas de la quebrada Yumantay – 2021.		Proyecto de investigación
	Línea de Investigación	Calidad y gestión de recursos naturales	
	Responsables	Castillo De La U, Madeleine	
		Huamán Límaco, Shali Nova	
	Asesor	Ing. Valverde Flores Jhonny Wilfredo	
<b>FICHA 1. Observación de muestreo de agua</b>			2020-1


Análisis de los Parámetros <i>In situ</i> de la muestra de agua			
Datos generales			
Nombre del lugar	Quebrada Yumantay	Departamento	Ucayali
Coordenadas UTM	18 M-551950 18M-9071939	Provincia	Coronel Portillo
		Distrito	Calleria
Operario	Madeleine Castillo De La U		
Datos de la muestra			
N° de punto de muestra	1		Observaciones  Se tomó la muestra desde la orilla de donde se descargan directamente hacia el río estas aguas residuales.
N° de muestra	Fecha	Hora	
1	24/06/21	1:48 pm	
Parámetros complementarios			
T°	6.87	Observaciones	
Turbidez	11.3		
pH	6.87		
O. Disuelto	0.19		
Conductividad eléctrica	714		

### Anexo 2. FICHA 1. Observación de muestreo de agua

Dr. Elmer G. Benites Alfaro  
 CIP. 71998

Dr. Ing. Carlos Alberto Castañeda Olivera  
 DOCENTE E INVESTIGADOR  
 CIP: 130267  
 RENACYT: P0078275


Dr. Jhonny W. Valverde Flores  
 ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2526-112X>  
 Scopus ID Author: 57196412905  
 CIP: 79862


	Reducción de <i>E.coli</i> mediante la aplicación de membranas de óxido grafeno en las aguas contaminadas de la quebrada Yumantay – 2021.		Proyecto de investigación
	Línea de Investigación	Calidad y gestión de recursos naturales	
	Responsables	Castillo De La U, Madeleine	
		Huamán Límaco, Shali Nova	
	Asesor	Ing. Valverde Flores Jhonny Wilfredo	
<b>FICHA 2. Caracterización de las membranas de óxido de grafeno</b>			2020-1

Código de filtros	Cantidad de quitosano/ g	Cantidad de grafeno/g	Diámetro de la membrana/ cm	Volumen de la membrana/cm <sup>3</sup>	Área de la membrana/ $\pi$ cm <sup>2</sup>	Altura de la membrana /cm
F-2	1	2	3.5	2.45	8.925	0.8
F-4	1	4	3.5	4.28	11.025	1.4
F-6	1	6	3.5	6.43	13.475	2.1

**Anexo 3. FICHA 2. Caracterización de las membranas de óxido de grafeno**

  
**Dr. Ing. Carlos Alberto Castañeda Olivera**  
 DOCENTE E INVESTIGADOR  
 CIP: 130267  
 RENACYT: P0078275

  
**Dr. Elmer G. Benites Alfaro**  
 CIP. 71998

  
 Dr. Jhonny W. Valverde Flores  
 ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2526-112X>  
 Scopus ID Author: 57196412905  
 CIP: 79862



Reducción de <i>E.coli</i> mediante la aplicación de membranas de óxido grafeno en las aguas contaminadas de la quebrada Yumantay – 2021.		Proyecto de investigación
Línea de Investigación	Calidad y gestión de recursos naturales	
Responsables	Castillo De La U, Madeleine	
	Huamán Límaco, Shali Nova	
Asesor	Ing. Valverde Flores Jhonny Wilfredo	
<b>FICHA 3. Caracterización del óxido de grafeno</b>		2020-1


Codificación	Cantidad de muestra	Tamaño de partícula		Unidad de medida	Absorbancia	Unidad de medida
M-OGR	4 g	P1	0.632	um	0.4697016	A
		P2	0.721	um		
		P3	0.632	um		
		P4	0.566	um		
		P5	0.566	um		

**Anexo 4. FICHA 3. Caracterización del óxido de grafeno**

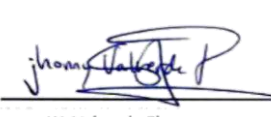
M-OGR:

Muestra de óxido de grafeno reducido.

P1, P2, P3, P4 y P5: Partícula 1, Partícula 2, Partícula 3, Partícula 4 y Partícula 5

  
**Dr. Elmer G. Benites Alfaro**  
 CIP. 71998

  
**Dr. Ing. Carlos Alberto Castañeda Olivera**  
 DOCENTE E INVESTIGADOR  
 CIP: 130267  
 RENACYT: P0078275

  
 Dr. Jhonny W. Valverde Flores  
 ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2526-112X>  
 Scopus ID Author: 57196412905  
 CIP: 79862




Reducción de <i>E.coli</i> mediante la aplicación de membranas de óxido grafeno en las aguas contaminadas de la quebrada Yumantay – 2021.		Proyecto de investigación
Línea de Investigación	Calidad y gestión de recursos naturales	
Responsables	Castillo De La U, Madeleine	
	Huamán Límaco, Shali Nova	
Asesor	Ing. Valverde Flores Jhonny Wilfredo	
<b>FICHA 4. Resultados de la aplicación del tratamiento</b>		2020-1


Código de filtros	N° de muestra	Repeticiones	Parámetros fisicoquímicos y biológicos									
			Código	Tiempo /min	T/°C	pH	C.E ms/cm	Turbidez /NTU	OD/ mg/L	DBO 5/mg /L	DQO/ mg/L	<i>E.coli</i> / NPM/100 mL
F2	M2	F2M2-T20	20 min	19.7	4.3	793.3	51.3	0.31	641	850	4	
		F2M2-T40	40 min	19.7	4.39	617.6	55.2	0.28	627	831	4	
		F2M2-T60	60 min	19.7	4.47	589.9	55.8	0.31	615	822	4	
F4	M4	F4M4-T20	20 min	19.7	4.07	1.318	151	0.28	374	586	< 3	
		F4M4-T40	40 min	19.7	4.04	1.316	148	0.31	339	575	< 3	
		F4M4-T60	60 min	19.5	4.02	1.334	142	0.34	324	536	< 3	
F6	M6	F6M6-T20	20 min	19.7	3.17	0.572	12.8	0.35	331	527	< 3	
		F6M6-T40	40 min	19.7	3.23	0.527	13.7	0.38	288	431	< 3	
		F6M6-T60	60 min	19.7	3.25	0.584	13.4	0.31	152	219	< 3	

Observaciones:

### Anexo 5. FICHA 4. Resultados de la aplicación del tratamiento

  
**Dr. Elmer G. Benites Alfaro**  
 CIP. 71998

  
**Dr. Ing. Carlos Alberto Castañeda Olivera**  
 DOCENTE E INVESTIGADOR  
 CIP: 130267  
 RENACYT: P0078275

  
 Dr. Jhonny W. Valverde Flores  
 ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2526-112X>  
 Scopus ID Author: 57196412905  
 CIP: 79862

## Anexo 6. Ficha de Validación de instrumento de los análisis de parámetros *in situ* por experto 1

Activar Windows  
Ve a Configuración

### VALIDACIÓN DE INSTRUMENTO

#### I. DATOS GENERALES

- a. Apellidos y Nombres: Dr. Castañeda Olivera, Carlos Alberto
- b. Cargo e institución donde labora: Docente de Investigación de la Universidad Cesar Vallejo Lima Norte
- c. Especialidad o línea de investigación: Tecnología Mineral y Ambiental
- d. Nombre del instrumento motivo de evaluación: Análisis de los parámetros *in situ*
- e. Autor(A) de Instrumento: Castillo De La U, Madeleine y Huamán Limaco, Shail

#### II. ASPECTOS DE VALIDACIÓN

CRITERIOS	INDICADORES	INACEPTABLE						MINIMAMENTE ACEPTABLE			ACEPTABLE			
		40	45	50	55	60	65	70	75	80	85	90	95	100
1. CLARIDAD	Esta formulado con lenguaje comprensible.											X		
2. OBJETIVIDAD	Esta adecuado a las leyes y principios científicos.											X		
3. ACTUALIDAD	Esta adecuado a los objetivos y las necesidades reales de la investigación.											X		
4. ORGANIZACIÓN	Existe una organización lógica.											X		
5. SUFICIENCIA	Toma en cuenta los aspectos metodológicos esenciales											X		
6. INTENCIONALIDAD	Esta adecuado para valorar las variables de la Hipótesis.											X		
7. CONSISTENCIA	Se respalda en fundamentos técnicos y/o científicos.											X		
8. COHERENCIA	Existe coherencia entre los problemas objetivos, hipótesis, variables e indicadores.											X		
9. METODOLOGÍA	La estrategia responde una metodología y diseño aplicados para lograr probar las hipótesis.											X		
10. PERTINENCIA	El instrumento muestra la relación entre los componentes de la investigación y su adecuación al Método Científico.											X		

#### III. OPINIÓN DE APLICABILIDAD

- El Instrumento cumple con los Requisitos para su aplicación
- El Instrumento no cumple con Los requisitos para su aplicación

90%
-

#### IV. PROMEDIO DE VALORACIÓN:

90%
-----

Lima, 8 de noviembre de 2020

  
**Dr. Ing. Carlos Alberto Castañeda Olivera**  
 DOCENTE E INVESTIGADOR  
 CIP: 130287  
 RENACRY: P0078275

## Anexo 7. Ficha de validación caracterización de la membrana de óxido de grafeno por experto 1

Activar Windc  
Ve a Configuración

### VALIDACIÓN DE INSTRUMENTO

#### I. DATOS GENERALES

- a. Apellidos y Nombres: Dr. Castañeda Olivera ,Carlos Alberto
- b. Cargo e institución donde labora: Docente de Investigación de la Universidad Cesar Vallejo Lima Norte
- c. Especialidad o línea de investigación: Tecnología Mineral y Ambiental
- d. Nombre del instrumento motivo de evaluación: Caracterización de la membrana de óxido de grafeno.
- e. Autor(A) de Instrumento: Castillo De La U, Madeleine y Huamán Limaco, Shali

#### II. ASPECTOS DE VALIDACIÓN

CRITERIOS	INDICADORES	INACEPTABLE					MINIMAMENTE ACEPTABLE			ACEPTABLE				
		40	45	50	55	60	65	70	75	80	85	90	95	100
1. CLARIDAD	Esta formulado con lenguaje comprensible.											X		
2. OBJETIVIDAD	Esta adecuado a las leyes y principios científicos.											X		
3. ACTUALIDAD	Esta adecuado a los objetivos y las necesidades reales de la investigación.											X		
4. ORGANIZACIÓN	Existe una organización lógica.											X		
5. SUFICIENCIA	Toma en cuenta los aspectos metodológicos esenciales											X		
6. INTENCIONALIDAD	Esta adecuado para valorar las variables de la Hipótesis.											X		
7. CONSISTENCIA	Se respalda en fundamentos técnicos y/o científicos.											X		
8. COHERENCIA	Existe coherencia entre los problemas objetivos, hipótesis, variables e indicadores.											X		
9. METODOLOGÍA	La estrategia responde una metodología y diseño aplicados para lograr probar las hipótesis.											X		
10. PERTINENCIA	El instrumento muestra la relación entre los componentes de la investigación y su adecuación al Método Científico.											X		

#### III. OPINIÓN DE APLICABILIDAD

- El Instrumento cumple con los Requisitos para su aplicación
- El Instrumento no cumple con Los requisitos para su aplicación

90%
-

#### IV. PROMEDIO DE VALORACIÓN:

90%
-----

Lima, 8 de noviembre de 2020

  
**Dr. Ing. Carlos Alberto Castañeda Olivera**  
 DOCENTE E INVESTIGADOR  
 CIP: 130267  
 RENACIT: 90078275



## Anexo 8. Ficha de validación de instrumento de caracterización de óxido de grafeno por experto 1

Activar Window  
Ve a Configuración p

### VALIDACIÓN DE INSTRUMENTO

#### I. DATOS GENERALES

- a. Apellidos y Nombres: Dr. Castañeda Olivera, Carlos Alberto
- b. Cargo e institución donde labora: Docente de Investigación de la Universidad Cesar Vallejo Lima Norte
- c. Especialidad o línea de investigación: Tecnología Mineral y Ambiental
- d. Nombre del instrumento motivo de evaluación: Caracterización del óxido de grafeno
- e. Autor(A) de Instrumento: Castillo De La U, Madeleine y Huamán Limaco, Shali

#### II. ASPECTOS DE VALIDACIÓN

CRITERIOS	INDICADORES	INACEPTABLE					MINIMAMENTE ACEPTABLE					ACEPTABLE										
		40	45	50	55	60	65	70	75	80	85	90	95	100								
1. CLARIDAD	Esta formulado con lenguaje comprensible.																		X			
2. OBJETIVIDAD	Esta adecuado a las leyes y principios científicos.																			X		
3. ACTUALIDAD	Esta adecuado a los objetivos y las necesidades reales de la investigación.																			X		
4. ORGANIZACIÓN	Existe una organización lógica.																			X		
5. SUFICIENCIA	Toma en cuenta los aspectos metodológicos esenciales																			X		
6. INTENCIONALIDAD	Esta adecuado para valorar las variables de la Hipótesis.																			X		
7. CONSISTENCIA	Se respalda en fundamentos técnicos y/o científicos.																			X		
8. COHERENCIA	Existe coherencia entre los problemas objetivos, hipótesis, variables e indicadores.																			X		
9. METODOLOGÍA	La estrategia responde una metodología y diseño aplicados para lograr probar las hipótesis.																			X		
10. PERTINENCIA	El instrumento muestra la relación entre los componentes de la investigación y su adecuación al Método Científico.																			X		

#### III. OPINIÓN DE APLICABILIDAD

- El Instrumento cumple con los Requisitos para su aplicación
- El Instrumento no cumple con Los requisitos para su aplicación

90%
-

#### IV. PROMEDIO DE VALORACIÓN:

90%
-----

Lima, 8 de noviembre de 202

  
**Dr. Ing. Carlos Alberto Castañeda Olivera**  
 DOCENTE E INVESTIGADOR  
 C.P. 136337  
 RENACRYT: P0278275

## Anexo 9. Ficha de validación de instrumento de los resultados de la aplicación del tratamiento por el experto 1

Activar Windc  
Ve a Configuración

- I. DATOS GENERALES** VALIDACIÓN DE INSTRUMENTO
- a. Apellidos y Nombres: Dr. Castañeda Olivera ,Carlos Alberto
  - b. Cargo e institución donde labora: Docente de Investigación de la Universidad Cesar Vallejo Lima Norte.
  - c. Especialidad o línea de investigación: Tecnología Mineral y Ambiental
  - d. Nombre del instrumento motivo de evaluación: Resultados de la aplicación del tratamiento.
  - e. Autor(A) de Instrumento: Castillo De La U, Madeleine y Huamán Limaco, Shali

**II. ASPECTOS DE VALIDACIÓN**

CRITERIOS	INDICADORES	INACEPTABLE					MINIMAMENTE ACEPTABLE			ACEPTABLE				
		40	45	50	55	60	65	70	75	80	85	90	95	100
1. CLARIDAD	Esta formulado con lenguaje comprensible.											X		
2. OBJETIVIDAD	Esta adecuado a las leyes y principios científicos.												X	
3. ACTUALIDAD	Esta adecuado a los objetivos y las necesidades reales de la investigación.												X	
4. ORGANIZACIÓN	Existe una organización lógica.												X	
5. SUFICIENCIA	Toma en cuenta los aspectos metodológicos esenciales												X	
6. INTENCIONALIDAD	Esta adecuado para valorar las variables de la Hipótesis.												X	
7. CONSISTENCIA	Se respalda en fundamentos técnicos y/o científicos.												X	
8. COHERENCIA	Existe coherencia entre los problemas objetivos, hipótesis, variables e indicadores.												X	
9. METODOLOGÍA	La estrategia responde una metodología y diseño aplicados para lograr probar las hipótesis.												X	
10. PERTINENCIA	El instrumento muestra la relación entre los componentes de la investigación y su adecuación al Método Científico.												X	

**III. OPINIÓN DE APLICABILIDAD**

- El Instrumento cumple con los Requisitos para su aplicación
- El Instrumento no cumple con Los requisitos para su aplicación

90%
-

**IV. PROMEDIO DE VALORACIÓN:**

90%
-----

Lima, 8 de noviembre de 202

  
**Dr. Ing. Carlos Alberto Castañeda Olivera**  
 DOCENTE E INVESTIGADOR  
 CIP: 13087  
 RENACIOT: P0078275

## Anexo 10. Ficha de validación de instrumento de los análisis de parámetros *in situ* por experto 2

Activar Window  
Ve a Configuración |

- I. DATOS GENERALES** **VALIDACIÓN DE INSTRUMENTO**
- a. Apellidos y Nombres : Dr. Valverde Flores Johnny Wilfredo
  - b. Cargo e institución donde labora: Docente de Investigación de la Universidad Cesar Vallejo Lima Norte
  - c. Especialidad o línea de investigación: Conservación de Recursos Naturales
  - d. Nombre del instrumento motivo de evaluación: Análisis de los parámetros *in situ*
  - e. Autor(A) de Instrumento: Castillo De La U, Madeleine y Huamán Limaco, Shali

**II. ASPECTOS DE VALIDACIÓN**

CRITERIOS	INDICADORES	INACEPTABLE					MINIMAMENTE ACEPTABLE			ACEPTABLE				
		40	45	50	55	60	65	70	75	80	85	90	95	100
1. CLARIDAD	Esta formulado con lenguaje comprensible.												X	
2. OBJETIVIDAD	Esta adecuado a las leyes y principios científicos.												X	
3. ACTUALIDAD	Esta adecuado a los objetivos y las necesidades reales de la investigación.												X	
4. ORGANIZACIÓN	Existe una organización lógica.												X	
5. SUFICIENCIA	Toma en cuenta los aspectos metodológicos esenciales.												X	
6. INTENCIONALIDAD	Esta adecuado para valorar las variables de la Hipótesis.												X	
7. CONSISTENCIA	Se respalda en fundamentos técnicos y/o científicos.												X	
8. COHERENCIA	Existe coherencia entre los problemas objetivos, hipótesis, variables e indicadores.												X	
9. METODOLOGÍA	La estrategia responde una metodología y diseño aplicados para lograr probar las hipótesis.												X	
10. PERTINENCIA	El instrumento muestra la relación entre los componentes de la investigación y su adecuación al Método Científico.												X	

**III. OPINIÓN DE APLICABILIDAD**

- El Instrumento cumple con los Requisitos para su aplicación
- El Instrumento no cumple con Los requisitos para su aplicación

95%
-

**IV. PROMEDIO DE VALORACIÓN:**

95%
-----

Lima, 21 de julio de 2021



Dr. Johnny W. Valverde Flores  
ORCID: <https://orcid.org/0009-9089-2528-112X>  
Scopus ID: Author: 57296412950  
CIP: 7962

## Anexo 11. Ficha de validación caracterización de la membrana de óxido de grafeno por experto 2

Activar Winndo  
Ve a Configuración

### VALIDACIÓN DE INSTRUMENTO

#### I. DATOS GENERALES

- a. Apellidos y Nombres : Dr. Valverde Flores Jhonny Wilfredo
- b. Cargo e institución donde labora: Docente de Investigación de la Universidad Cesar Vallejo Lima Norte
- a. Especialidad o línea de investigación: Conservación de Recursos Naturales
- c. Nombre del instrumento motivo de evaluación: Caracterización de la membrana de óxido de grafeno
- d. Autor(A) de instrumento: Castillo De La U, Madeleine y Huamán Limaco, Shali

#### II. ASPECTOS DE VALIDACIÓN

CRITERIOS	INDICADORES	INACEPTABLE					MINIMAMENTE ACEPTABLE			ACEPTABLE				
		40	45	50	55	60	65	70	75	80	85	90	95	100
1. CLARIDAD	Esta formulado con lenguaje comprensible.												X	
2. OBJETIVIDAD	Esta adecuado a las leyes y principios científicos.												X	
3. ACTUALIDAD	Esta adecuado a los objetivos y las necesidades reales de la investigación.												X	
4. ORGANIZACIÓN	Existe una organización lógica.												X	
5. SUFICIENCIA	Toma en cuenta los aspectos metodológicos esenciales												X	
6. INTENCIONALIDAD	Esta adecuado para valorar las variables de la hipótesis.												X	
7. CONSISTENCIA	Se respalda en fundamentos técnicos y/o científicos.												X	
8. COHERENCIA	Existe coherencia entre los problemas objetivos, hipótesis, variables e indicadores.												X	
9. METODOLOGÍA	La estrategia responde una metodología y diseño aplicados para lograr probar las hipótesis.												X	
10. PERTINENCIA	El instrumento muestra la relación entre los componentes de la investigación y su adecuación al Método Científico.												X	

#### III. OPINIÓN DE APLICABILIDAD


- El Instrumento cumple con los Requisitos para su aplicación
- El Instrumento no cumple con Los requisitos para su aplicación

95%
-

#### IV. PROMEDIO DE VALORACIÓN:

95%
-----

Lima, 21 de julio de 2021

  
Dr. Jhonny W. Valverde Flores  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0009-2526-112X>  
Scopus ID Author: 57196412905  
CIP: 79892

## Anexo 12. Ficha de validación de instrumento de caracterización de óxido de grafeno por experto 2

Activar Window  
Ve a Configuración |

### VALIDACIÓN DE INSTRUMENTO

#### I. DATOS GENERALES

- a. Apellidos y Nombres: : Dr. Valverde Flores Jhonny Wilfredo
- b. Cargo e institución donde labora: Docente de Investigación de la Universidad Cesar Vallejo Lima Norte
- b. Especialidad o línea de investigación: Conservación de Recursos Naturales
- f. Nombre del instrumento motivo de evaluación: Caracterización del óxido de grafeno
- c. Autor(A) de Instrumento: Castillo De La U, Madeleine y Huamán Limaco, Shali

#### II. ASPECTOS DE VALIDACIÓN

CRITERIOS	INDICADORES	INACEPTABLE						MINIMAMENTE ACEPTABLE			ACEPTABLE			
		40	45	50	55	60	65	70	75	80	85	90	95	100
1. CLARIDAD	Esta formulado con lenguaje comprensible.												X	
2. OBJETIVIDAD	Esta adecuado a las leyes y principios científicos.												X	
3. ACTUALIDAD	Esta adecuado a los objetivos y las necesidades reales de la investigación.												X	
4. ORGANIZACIÓN	Existe una organización lógica.												X	
5. SUFICIENCIA	Toma en cuenta los aspectos metodológicos esenciales												X	
6. INTENCIONALIDAD	Esta adecuado para valorar las variables de la Hipótesis.												X	
7. CONSISTENCIA	Se respalda en fundamentos técnicos y/o científicos.												X	
8. COHERENCIA	Existe coherencia entre los problemas objetivos, hipótesis, variables e indicadores.												X	
9. METODOLOGÍA	La estrategia responde una metodología y diseño aplicados para lograr probar las hipótesis.												X	
10. PERTINENCIA	El instrumento muestra la relación entre los componentes de la investigación y su adecuación al Método Científico.												X	

#### III. OPINIÓN DE APLICABILIDAD

- El Instrumento cumple con los Requisitos para su aplicación
- El Instrumento no cumple con Los requisitos para su aplicación

95%
-

#### IV. PROMEDIO DE VALORACIÓN:

95%
-----

Lima, 21 de julio de 2021



Dr. Jhonny W. Valverde Flores  
ORCID: <https://orcid.org/0009-0009-2526-112X>  
Scopus ID Author: 57516412905  
CIP: 79662

## Anexo 13. Ficha de validación de instrumento de los resultados de la aplicación del tratamiento por el experto 2

Activar Windo  
Ve a Configuración

### VALIDACIÓN DE INSTRUMENTO

#### I. DATOS GENERALES

- a. Apellidos y Nombres: : Dr. Valverde Flores Jhonny Wilfrado
- b. Cargo e institución donde labora: Docente de Investigación de la Universidad Cesar Vallejo Lima Norte
- c. Especialidad o línea de investigación: Conservación de Recursos Naturales
- d. Nombre del instrumento motivo de evaluación: Resultados de la aplicación del tratamiento.
- e. Autor(A) de Instrumento: Castillo De La U, Madeleine y Huamán Limaco, Shali

#### II. ASPECTOS DE VALIDACIÓN

CRITERIOS	INDICADORES	INACEPTABLE					MINIMAMENTE ACEPTABLE			ACEPTABLE				
		40	45	50	55	60	65	70	75	80	85	90	95	100
1. CLARIDAD	Esta formulado con lenguaje comprensible.												X	
2. OBJETIVIDAD	Esta adecuado a las leyes y principios científicos.												X	
3. ACTUALIDAD	Esta adecuado a los objetivos y las necesidades reales de la investigación.												X	
4. ORGANIZACIÓN	Existe una organización lógica.												X	
5. SUFICIENCIA	Toma en cuenta los aspectos metodológicos esenciales												X	
6. INTENCIONALIDAD	Esta adecuado para valorar las variables de la Hipótesis.												X	
7. CONSISTENCIA	Se respalda en fundamentos técnicos y/o científicos.												X	
8. COHERENCIA	Existe coherencia entre los problemas objetivos, hipótesis, variables e indicadores.												X	
9. METODOLOGÍA	La estrategia responde una metodología y diseño aplicados para lograr probar las hipótesis.												X	
10. PERTINENCIA	El instrumento muestra la relación entre los componentes de la investigación y su adecuación al Método Científico.												X	

#### III. OPINIÓN DE APLICABILIDAD

- El Instrumento cumple con los Requisitos para su aplicación
- El Instrumento no cumple con Los requisitos para su aplicación

95%
-

#### IV. PROMEDIO DE VALORACIÓN:

95%
-----

Lima, 21 de julio de 2021



Dr. Jhonny W. Valverde Flores  
ORCID: <https://orcid.org/0009-0009-2526-1124>  
Scopus ID Author: 57316412905  
CIP: 79862

## Anexo 14. Ficha de validación de instrumento de los análisis de parámetros *in situ* por experto 3

### VALIDACIÓN DE INSTRUMENTO

**I. DATOS GENERALES**

- a. Apellidos y Nombres: Ing. Benites Alfaro, Elmer Gonzalo
- b. Cargo e institución donde labora: Docente de Investigación de la Universidad Cesar Vallejo
- c. Especialidad o línea de investigación: Investigador/Ing. Químico/Gestión Ambiental
- d. Nombre del instrumento motivo de evaluación: Ficha de observación de muestreo de agua
- e. Autor(A) de Instrumento: Castillo De La U, Madelaine y Huamán Limaco, Shali

**II. ASPECTOS DE VALIDACIÓN**

CRITERIOS	INDICADORES	INACEPTABLE						MINIMAMENTE ACEPTABLE			ACEPTABLE			
		40	45	50	55	60	65	70	75	80	85	90	95	100
1. CLARIDAD	Esta formulado con lenguaje comprensible.											X		
2. OBJETIVIDAD	Esta adecuado a las leyes y principios científicos.											X		
3. ACTUALIDAD	Esta adecuado a los objetivos y las necesidades reales de la investigación.											X		
4. ORGANIZACIÓN	Existe una organización lógica.											X		
5. SUFICIENCIA	Toma en cuenta los aspectos metodológicos esenciales											X		
6. INTENCIONALIDAD	Esta adecuado para valorar las variables de la Hipótesis.											X		
7. CONSISTENCIA	Se respalda en fundamentos técnicos y/o científicos.											X		
8. COHERENCIA	Existe coherencia entre los problemas objetivos, hipótesis, variables e indicadores.											X		
9. METODOLOGÍA	La estrategia responde una metodología y diseño aplicados para lograr probar las hipótesis.											X		
10. PERTINENCIA	El instrumento muestra la relación entre los componentes de la investigación y su adecuación al Método Científico.											X		

**III. OPINIÓN DE APLICABILIDAD**

- El Instrumento cumple con los Requisitos para su aplicación
- El Instrumento no cumple con Los requisitos para su aplicación

si
no

**IV. PROMEDIO DE VALORACIÓN:**

90%

Lima, 8 de noviembre de 2020

  
 Dr. Elmer G. Benites Alfaro  
 CIP. 71998

Activar W

## Anexo 15. Ficha de validación caracterización de la membrana de óxido de grafeno por experto 3

### VALIDACIÓN DE INSTRUMENTO

#### I. DATOS GENERALES

- a. Apellidos y Nombres: Ing. Benites Alfaro, Elmer Gonzalo
- b. Cargo e institución donde labora: Docente de Investigación de la Universidad Cesar Vallejo
- c. Especialidad o línea de investigación: Investigador/Ing. Químico/Gestión Ambiental
- d. Nombre del instrumento motivo de evaluación: Parámetros de control para la caracterización de la membrana de óxido de grafeno.
- e. Autor(A) de Instrumento: Castillo De La U, Madeleine y Huamán Límaco, Shall

#### II. ASPECTOS DE VALIDACIÓN

CRITERIOS	INDICADORES	INACEPTABLE						MINIMAMENTE ACEPTABLE				ACEPTABLE		
		40	45	50	55	60	65	70	75	80	85	90	95	100
1. CLARIDAD	Esta formulado con lenguaje comprensible.												X	
2. OBJETIVIDAD	Esta adecuado a las leyes y principios científicos.												X	
3. ACTUALIDAD	Esta adecuado a los objetivos y las necesidades reales de la investigación.												X	
4. ORGANIZACIÓN	Existe una organización lógica.												X	
5. SUFICIENCIA	Toma en cuenta los aspectos metodológicos esenciales												X	
6. INTENCIONALIDAD	Esta adecuado para valorar las variables de la Hipótesis.												X	
7. CONSISTENCIA	Se respalda en fundamentos técnicos y/o científicos.												X	
8. COHERENCIA	Existe coherencia entre los problemas objetivos, hipótesis, variables e indicadores.												X	
9. METODOLOGIA	La estrategia responde una metodología y diseño aplicados para lograr probar las hipótesis.												X	
10. PERTINENCIA	El instrumento muestra la relación entre los componentes de la investigación y su adecuación al Método Científico.												X	

#### III. OPINIÓN DE APLICABILIDAD

- El Instrumento cumple con los Requisitos para su aplicación
- El Instrumento no cumple con Los requisitos para su aplicación

si

#### IV. PROMEDIO DE VALORACIÓN:

90%
-----

Lima, 8 de noviembre de 2020

  
 Dr. Elmer G. Benites Alfaro  
 CIP. 71998

Activar W  
 Ve a Configi



## Anexo 16. Ficha de validación caracterización del de óxido de grafeno por experto 3

### VALIDACIÓN DE INSTRUMENTO

**I. DATOS GENERALES**

- a. Apellidos y Nombres: Ing. Benites Alfaro, Elmer Gonzalo
- b. Cargo e institución donde labora: Docente de Investigación de la Universidad Cesar Vallejo
- c. Especialidad o línea de investigación: Investigador/Ing. Químico/Gestión Ambiental
- d. Nombre del instrumento motivo de evaluación: Caracterización del óxido de grafeno .
- e. Autor(A) de Instrumento: Castillo De La U, Madeleine y Huamán Limaco, Shail

**II. ASPECTOS DE VALIDACIÓN**

CRITERIOS	INDICADORES	INACEPTABLE						MINIMAMENTE ACEPTABLE			ACEPTABLE			
		40	45	50	55	60	65	70	75	80	85	90	95	100
1. CLARIDAD	Esta formulado con lenguaje comprensible.													
2. OBJETIVIDAD	Esta adecuado a las leyes y principios científicos.													
3. ACTUALIDAD	Esta adecuado a los objetivos y las necesidades reales de la investigación.													
4. ORGANIZACIÓN	Existe una organización lógica.													
5. SUFICIENCIA	Toma en cuenta los aspectos metodológicos esenciales													
6. INTENCIONALIDAD	Esta adecuado para valorar las variables de la Hipótesis.													
7. CONSISTENCIA	Se respalda en fundamentos técnicos y/o científicos.													
8. COHERENCIA	Existe coherencia entre los problemas objetivos, hipótesis, variables e indicadores.													
9. METODOLOGÍA	La estrategia responde una metodología y diseño aplicados para lograr probar las hipótesis.													
10. PERTINENCIA	El instrumento muestra la relación entre los componentes de la investigación y su adecuación al Método Científico.													

**III. OPINIÓN DE APLICABILIDAD**


- a. El Instrumento cumple con los Requisitos para su aplicación
- b. El Instrumento no cumple con Los requisitos para su aplicación

si

**IV. PROMEDIO DE VALORACIÓN:**

90%
-----

Lima 8 de noviembre del 2020

  
 Dr. Elmer G. Benites Alfaro  
 CIP. 71998

Activar M  
 Ve a Config

## Anexo 17. Ficha de validación de instrumento de los resultados de la aplicación del tratamiento por el experto 3

### VALIDACIÓN DE INSTRUMENTO

#### I. DATOS GENERALES

- a. Apellidos y Nombres: Ing. Benites Alfaro, Elmer Gonzalo
- b. Cargo e institución donde labora: Docente de Investigación de la Universidad Cesar Vallejo
- c. Especialidad o línea de investigación: Investigador/Ing. Químico/Gestión Ambiental
- d. Nombre del instrumento motivo de evaluación: Resultados de la aplicación del tratamiento.
- e. Autor(A) de Instrumento: Castillo De La U, Madeleine y Huamán Límaco, Shali

#### V. ASPECTOS DE VALIDACIÓN

CRITERIOS	INDICADORES	INACEPTABLE						MINIMAMENTE ACEPTABLE			ACEPTABLE			
		40	45	50	55	60	65	70	75	80	85	90	95	100
1. CLARIDAD	Esta formulado con lenguaje comprensible.												x	
2. OBJETIVIDAD	Esta adecuado a las leyes y principios científicos.												x	
3. ACTUALIDAD	Esta adecuado a los objetivos y las necesidades reales de la investigación.												x	
4. ORGANIZACIÓN	Existe una organización lógica.												x	
5. SUFICIENCIA	Toma en cuenta los aspectos metodológicos esenciales												x	
6. INTENCIONALIDAD	Esta adecuado para valorar las variables de la Hipótesis.												x	
7. CONSISTENCIA	Se respalda en fundamentos técnicos y/o científicos.												x	
8. COHERENCIA	Existe coherencia entre los problemas objetivos, hipótesis, variables e indicadores.												x	
9. METODOLOGÍA	La estrategia responde una metodología y diseño aplicados para lograr probar las hipótesis.												x	
10. PERTINENCIA	El instrumento muestra la relación entre los componentes de la investigación y su adecuación al Método Científico.												x	

#### VI. OPINIÓN DE APLICABILIDAD


- El Instrumento cumple con los Requisitos para su aplicación
- El Instrumento no cumple con Los requisitos para su aplicación

Si
No

#### VII. PROMEDIO DE VALORACIÓN


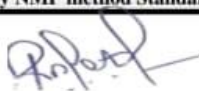
90%
-----

Lima 8 de noviembre del 2020

  
 Dr. Elmer G. Benites Alfaro  
 CIP. 71998

Activar M

## Anexo 18. Certificado de análisis de *E. coli* en las muestras de agua

 <b>LOS JAZMINES DEL NARANJAL LOS OLIVOS MZ N LOTE 24</b> <b>ENSAYO N° 1</b> <b>INFORME DE RESULTADOS- MUESTREO DE AGUA</b>				
<b>Dirección:</b>		Pucallpa		
<b>Tipo de ensayo:</b>		Análisis microbiológico		
<b>Matriz:</b>		Agua superficial		
<b>Descripción de la muestra:</b>		Muestra inicial y final		
<b>Muestra tomado por:</b>		Madeleine Castillo		
<b>Fecha de ingreso de la muestra:</b>		26/06/2021		
<i>Escherichia coli NMP/100 ml</i>				
ESTACIÓN	UNIDAD DE MEDIDA	RESULTADO		
Muestra Inicial	NMP/100 ml	2.1 x 10 <sup>3</sup>		
<b>Observación: Presencia de gas y turbidez.</b>				
<i>Escherichia coli NMP/100 ml</i>				
FILTRO	UNIDAD DE MEDIDA	Muestra agua: pasado por filtro Grafeno		
2g	NMP/100ml	RESULTADO		
		T20'	T40'	T60'
		4 Coliformes	4 Coliformes	4 Coliformes
<i>Escherichia coli NMP/100 ml.</i>				
FILTRO	UNIDAD DE MEDIDA	Muestra agua: pasado por filtro Grafeno		
4g	NMP/100ml	RESULTADO		
		T20'	T40'	T60'
		< 3 Coliformes	< 3 Coliformes	< 3 Coliformes
<i>Escherichia coli NMP/100 ml.</i>				
FILTRO	UNIDAD DE MEDIDA	Muestra agua: pasado por filtro Grafeno		
6g	NMP/100ml	RESULTADO		
		T20'	T40'	T60'
		< 3 Coliformes	< 3 Coliformes	< 3 coliformes
<b>Metodología de analisis: Numeración Coliformes Fecales: SM Part 9221 E / 9221 C; 22nd Ed.</b>				
<b>Enumeration of Fecal Coliforms by NMP method Standard Fecal Coliform Procedure.</b>				
 <b>Q.F.B. Rosalbina De La Cruz Dávila</b> <b>CQFP: 05061</b>				

## Anexo 19. Resultados de los parámetros fisicoquímicos

Activar WII  
Ver a Configuración

### RESULTADO DE ANALISIS QUIMICO

#### 1. Determinación de parámetros fisicoquímicos

Muestra: Aguas de la Quebrada Yumantay – Pucallpa.

Métodos de Análisis:

- pH: Método Electrométrico.
- Conductividad: Método Conductimétrico.
- Oxígeno Disuelto (OD): Método del Electrodo de membrana (Oxímetro).
- Turbidez: Método Nefelométrico.
- Demanda Bioquímica e Oxígeno (DBO): Prueba DBO de los 5 días.
- Demanda Química de Oxígeno (DQO): Reflujo Cerrado- Método Colorimétrico.

Estación	pH	Temperatura (C°)	C.E mS/cm	OD mg/L	TURBIDEZ NTU	DBO mg/L	DQO mg/L
F2-T20	4.30	19.7	0.793	0.31	51.3	641	850
F2-T40	4.39	19.7	0.618	0.28	55.2	627	831
F2-T60	4.47	19.7	0.590	0.31	55.8	615	822
F4-T20	4.07	19.7	1.318	0.28	151.0	374	586
F4-T40	4.04	19.7	1.316	0.31	148.0	339	575
F4-T60	4.02	19.5	1.334	0.34	142.0	324	536
F6-T20	3.17	19.7	0.572	0.35	12.8	331	527
F6-T40	3.23	19.7	0.527	0.38	13.7	288	431
F6-T60	3.25	19.7	0.584	0.31	13.4	152	219
MUESTRA INICIAL	6.87	19.7	0.714	0.19	11.3	1011	1408



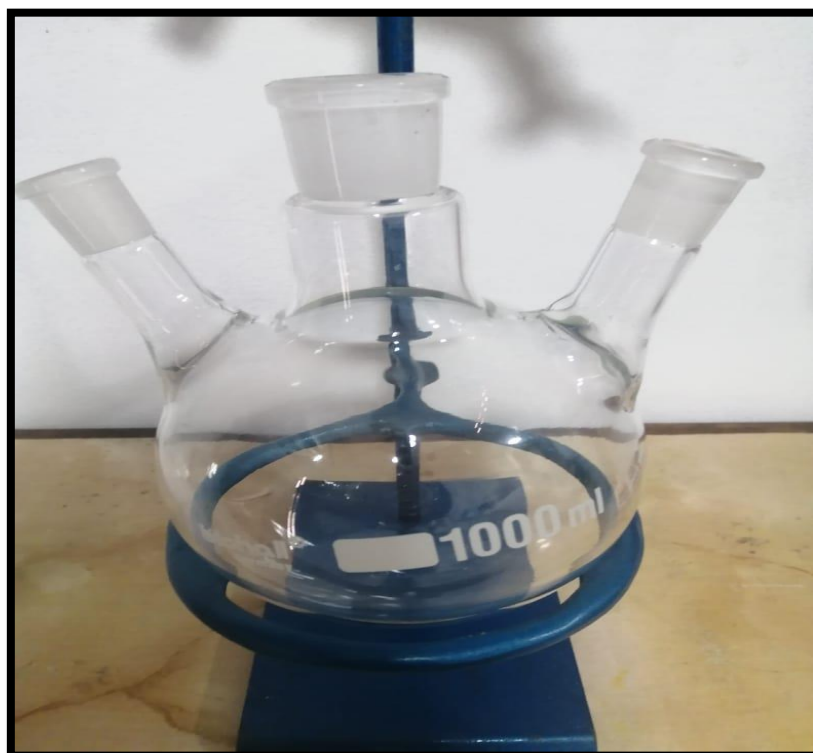
Sigfredo A. Quintana Paetán  
QUIMICO  
CQP 596

Químico S. Alexander Quintana Paetán  
Profesor de Laboratorio  
CQP 596

### Anexo 20. 500g de grafito



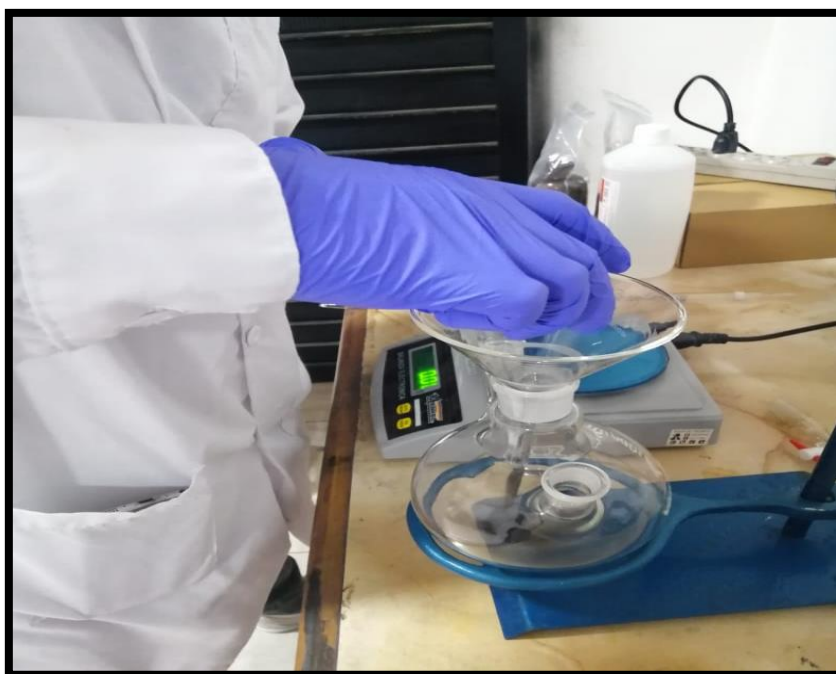
### Anexo 21. Balón de tres bocas



**Anexo 22. 20g de grafito para la pre oxidación**



**Anexo 23. Agregando los 20g de grafito al balón de 3 bocas**



**Anexo 24. Agregando 50 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>**



**Anexo 25. Agitación en hielo**



## Anexo 26. Agitación magnética



## Anexo 27. Succión al vacío con el embudo Büchner





**Anexo 28. Sonicador para romper las partículas de OG**

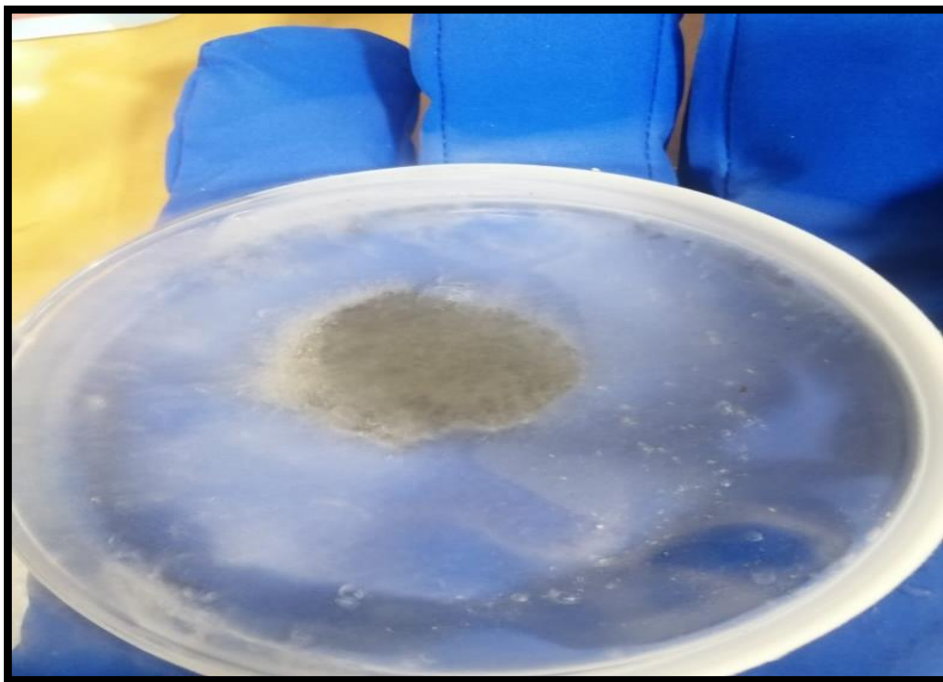


**Anexo 29.**

**Agua desionizada con la que se elaboró la membrana de OGr**



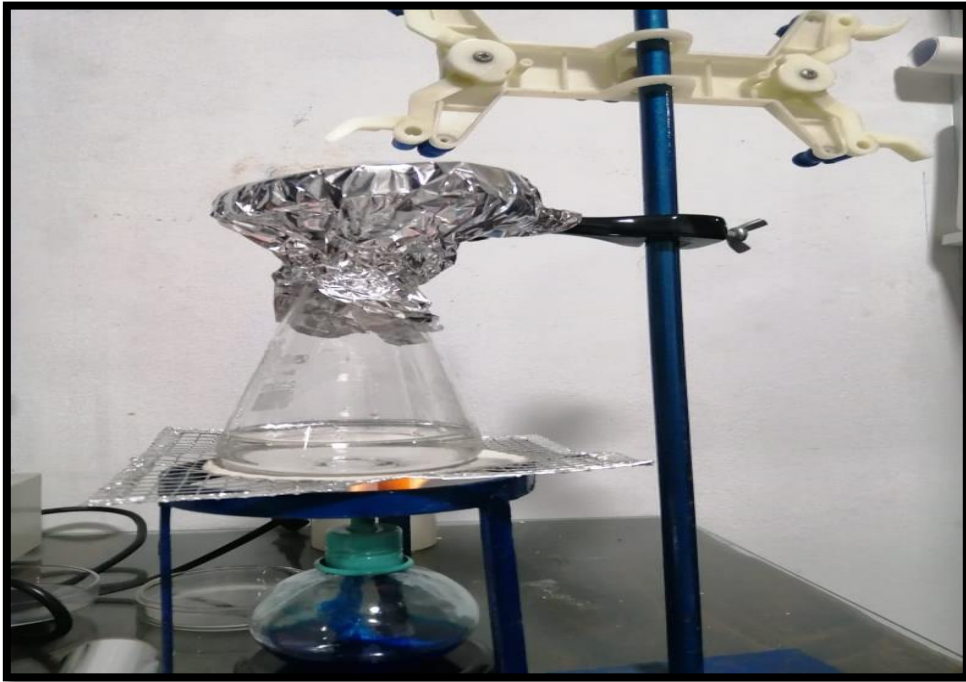
**Anexo 30. La membrana de OGr con nitrógeno líquido**



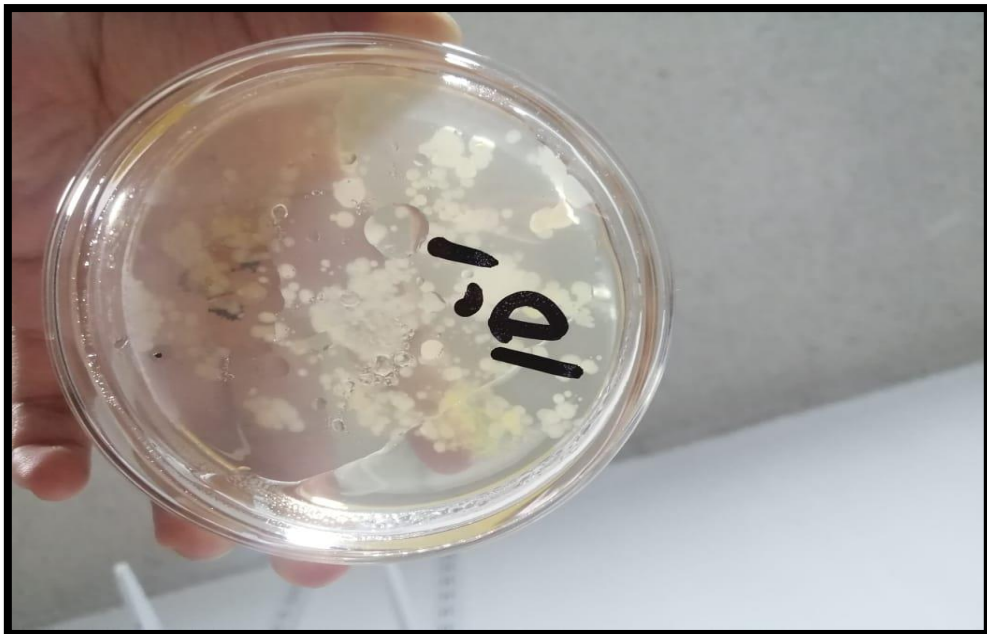
**Anexo 31. Solución viscosa de quitosano**



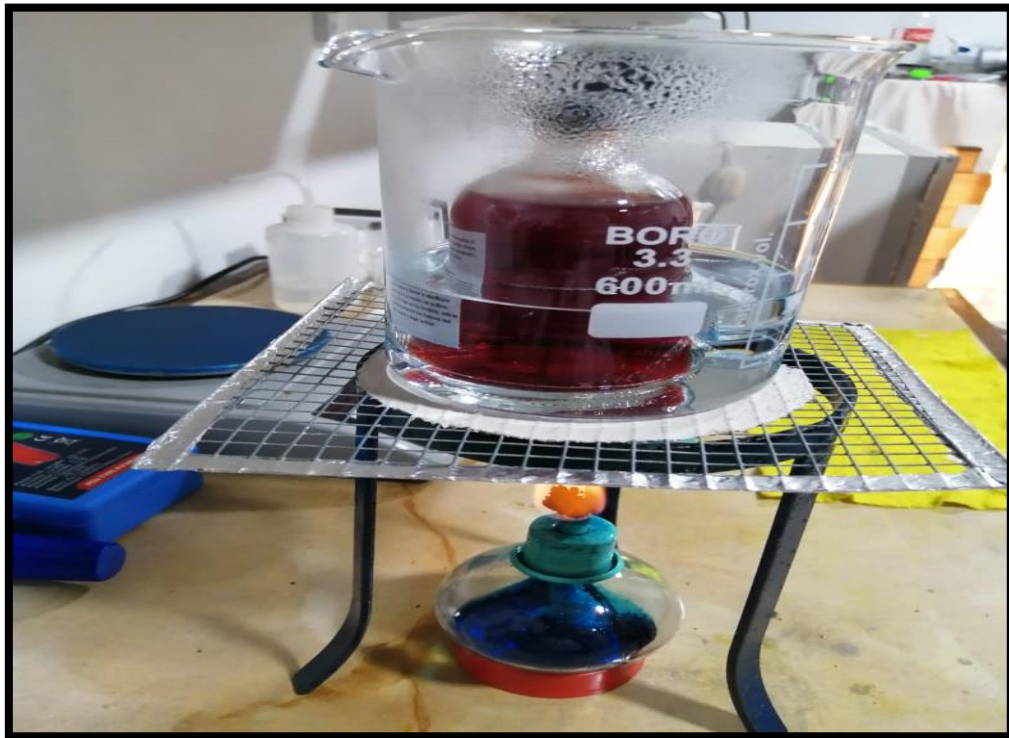
**Anexo 32. Infiltración del glutaraldehído**



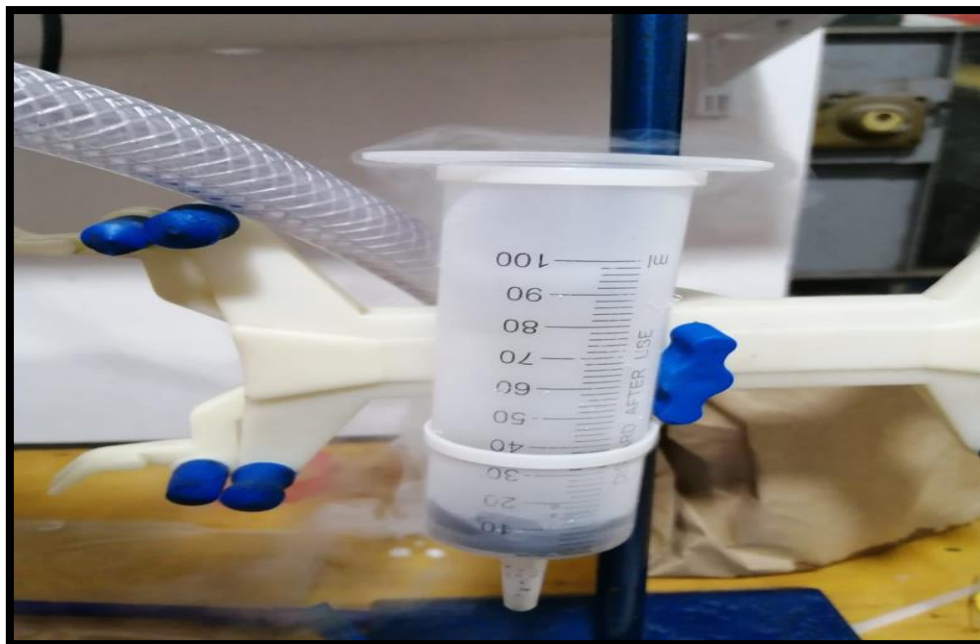
**Anexo 33. Placa Petri con colonias de *E. coli* en la muestra inicial**



### Anexo 34. Calentamiento del agar Mc Conkey



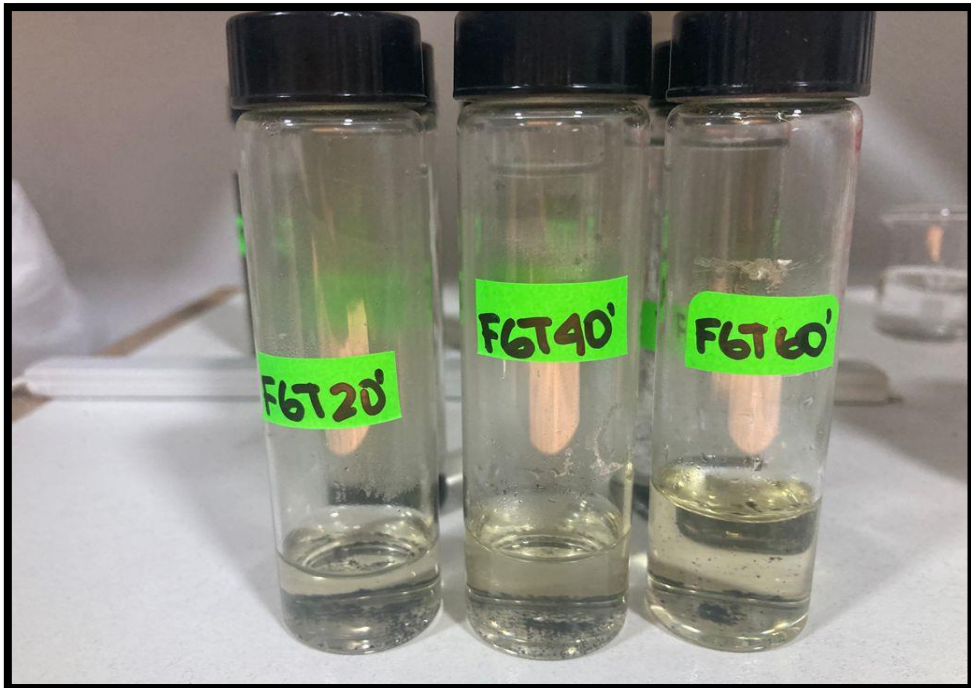
### Anexo 35. El filtro con la membrana de OGr y nitrógeno líquido



**Anexo 36. El caldo brilla que confirma la presencia de *E. coli***



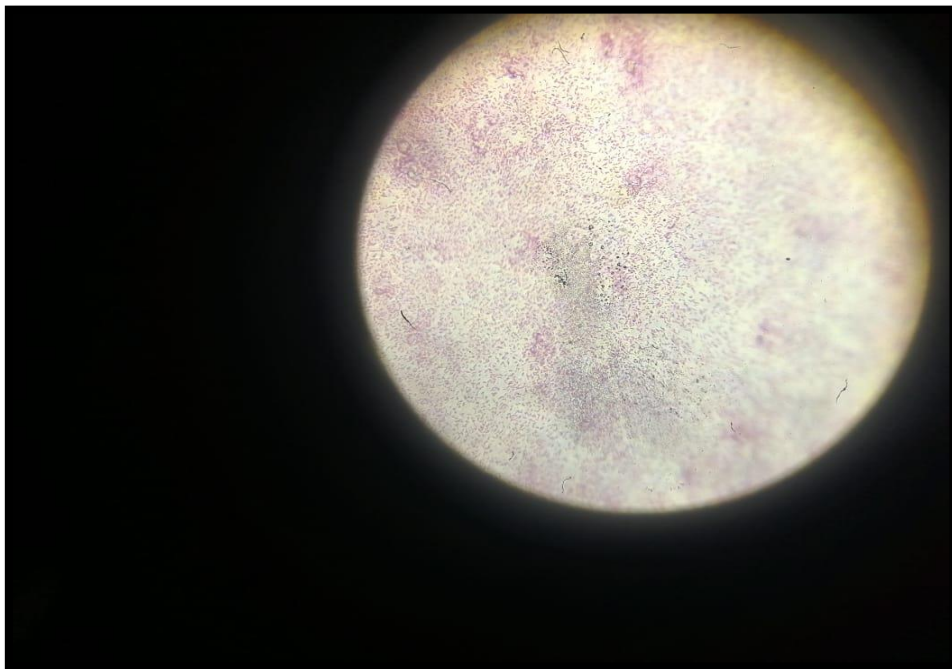
**Anexo 37. Las muestras de agua tratada con el filtro de 6g (anexo 5)**



**Anexo 38. Agua tratada con el filtro de 2g (anexo 5)**



**Anexo 39. Presencia de E. coli vista desde el microscopio 40x**



Anexo 40. Filtro en funcionamiento con la membrana de 6g



Anexo 41. Caracterización de grafeno en el espectrofotómetro

