

Actividad antimicrobiana de nanopartículas de TiO₂ en *Serratia marcescens* y *Escherichia coli*.

Navarrete, S. ², Rodríguez, A.¹, Pataquiva-Mateus, A. ².

1. Facultad de Química, Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Tunja, Colombia.

2. Departamento de Ingeniería, Universidad Jorge Tadeo Lozano, Bogotá, Colombia.

Resumen

La radiación solar, principalmente, los rayos UVA y UVB son una de las principales causas de cáncer en la piel, comunmente, las cremas con protección solar usan moléculas inorgánicas como el TiO₂, sin embargo, por su actividad fotocatalítica muestra producción de especies reactivas de hidrogeno (ROS), lo cual puede producir daños en la piel. En este trabajo se planteó estudiar el rendimiento de las nanopartículas de TiO₂ en términos de su toxicidad *in vitro*, siendo sintetizada para aumentar la pureza del compuesto, para establecer una morfología y un tamaño similar al usado dermatologicamente. Para este fin, las partículas de TiO₂ se sintetizaron por un método hidrotérmico, caracterizado por microscopía electrónica de barrido (SEM) y espectroscopia de difracción de rayos X (EDS), donde se verificó la pureza de las nanopartículas y su aspecto morfológico. Se realizó un análisis microbiológico *in vitro* para establecer la actividad antimicrobiana de las nanopartículas de TiO₂ sobre *Serratia marcescens* y *Escherichia coli*.

Palabras claves: Hidrotermal, micelas, Tinción de Gram, surfactante, microemulsión.

Abstract

Solar radiation, mainly, UVA and UVB rays are one of the main causes of cancer in the skin, sunscreen creams commonly use inorganic molecules such as TiO₂, however, due to their photocatalytic activity shows production of reactive species of hydrogen (ROS), which can cause skin damage. In this work, it was proposed to study the performance of TiO₂ nanoparticles in terms of their *in vitro* toxicity, being synthesized to increase the purity of the compound, to establish a morphology and size similar to that used dermatologically. For this purpose, the TiO₂ particles were synthesized by a hydrothermal method, characterized by scanning electron microscopy (SEM) and X-ray diffraction spectroscopy (EDS), where the purity of the nanoparticles and their morphological appearance were verified. An *in vitro* microbiological analysis was carried out to establish the antimicrobial activity of the TiO₂ nanoparticles on *Serratia marcescens* and *Escherichia coli*.

Key words: Hydrothermal, micelles, gram, surfactant, microemulsion.

1. Introducción

La nanotecnología promete revolucionar la industria farmacéutica (Celorrio, Méndez, & Portero, 2010), la electrónica (Komastu & Ogasawara, 2005), los alimentos (Sozer & Kokini, 2009), debido a la capacidad de las nanopartículas para formar materiales con mayor especificidad e intervenir más ágilmente en cualquiera de estos campos. Esta tecnología emergente utiliza nuevos métodos y nuevos materiales que permiten optimizar los procesos industriales con una escala de 1-100 nm (Arora, Rajwade, & Paknikar, 2012); este nivel de investigación consiste en construir estructuras, dispositivos y sistemas para estructurar la materia a nivel atómico, molecular y supramolecular (Emerich & Thanos, 2003). Se espera que los nuevos materiales formados con estas nanopartículas tengan un mejor rendimiento debido a su escala y su comportamiento a nivel cuántico.

Muchos de estos avances se han utilizado en la industria y la medicina con éxito y han sido completamente implementados (Houdy, 2013). Por otro lado, las nanopartículas pueden presentar diferentes morfologías dependiendo de la naturaleza de la partícula y la síntesis a la que han sido expuestas, según esto, sus características y funciones difieren; es por esto que las nanopartículas tienen diferentes formas tales como nanoesferas, nanotubos, nanofilamentos, entre otros. Algunas de estas partículas tienen la facilidad de transportar medicamentos en ellas, para una disposición específica dentro del cuerpo, de acuerdo con lo que se requiere (Celorrio et al., 2010).

Actualmente, la nanotoxicología se ha convertido en un estudio muy importante, para descubrir el motivo de muchas enfermedades y afecciones en diferentes partes del cuerpo, no solo para el ser humano sino también para el medio ambiente y el agua. Al analizar todos los efectos que pueden tener las nanopartículas cada vez se llegan a mejores conclusiones y definiciones de lo que realmente sucede con los nanomateriales (Malato, 2004).

Entre las nanopartículas con mayor interés se encuentra el TiO_2 , debido a la efectividad de los rayos UV utilizados en esta escala, utilizados como filtros solares, formando una película que cristaliza a altas temperaturas, que ayudan en la reflexión y difracción de los rayos UV, generando protección en la piel (Tian et al., 2009). El dióxido de titanio es ampliamente usado en la industria cosmética, en los bloqueadores solares, debido a su eficiencia en la reflexión de rayos UVA y UVB. Estas partículas son utilizadas a nano escala por su efectividad en la absorción de rayos UV a comparación de partículas de mayor tamaño. (Morlando, Sencadas, Cardillo, & Konstantinov, 2018)

El dióxido de titanio particularmente es obtenido de minerales o de una solución de sales de Ti o alcóxidos; de esta manera, las rutas para sintetizar NP, producen un sólido amorfo de TiO_2 de anatasa, rutilo o brookita. Se considera brookita es la más tóxica (Quintana, 2015).

Las nanopartículas de ZnO y TiO₂ se utilizan como ingrediente activo en los fotoprotectores, es decir, en la protección a la exposición cutánea a los rayos UV, ya que éstos producen cáncer de piel y envejecimiento. La importancia de los protectores solares es proteger la piel de quemaduras solares, envejecimiento prematuro y cáncer de piel (Quintana, 2015)

El TiO₂ se utiliza principalmente en cosméticos, en un caso particular como los bloqueadores solares.(Arora, 2012) No se puede determinar qué tan nocivo es en la adsorción de este nanomaterial por las capas de la piel, por lo tanto, no existe una regulación para su uso, lo que permite un mayor cuidado con este tipo de nanomateriales (Díaz, 2015). El TiO₂ como nanopartícula, no tiene una investigación extensa sobre su toxicidad debido a su composición física, por lo que en el estudio de la nanotoxicidad antimicrobiana se usará TiO₂ para presentar una mayor precisión en el afecto de éste en bacterias (Díaz, 2015).

Las nanopartículas tienen diferentes propiedades en esta escala, lo que facilita su manipulación y son más efectivas que en escalas más grandes (Houdy, 2013). La nanotoxicología se basa en la capacidad de las nanopartículas para viajar por el aire y aglomerarse dependiendo de dónde provienen y para qué se usan. Pueden viajar a través del torrente sanguíneo sin ningún problema para permanecer en cualquier parte del cuerpo y mientras una persona esté expuesta a estas partículas, mayor será su aglomeración, lo que aumenta el riesgo de toxicidad en el cuerpo (Quintana, 2015).

Las nanopartículas pueden ser sintetizadas por diferentes métodos como microemulsión, sonoquímica, sol-gel, hidrotermal y pirohidrólisis de gas. En éste caso fueron sintetizadas por los métodos hidrotermal y de microemulsión los cuales por medio del surfactante permiten mantener la estructura anastasa del TiO₂ (Yuenyongsuwan, Nithiyakorn, & Sabkird, 2018).

El TiO₂ es un fotocatalizador degradante de diferentes contaminantes y destructor de bacterias, por su sensibilidad a la luz, la cual se ha tratado de minimizar, aumentando la pureza, metalización y sensibilización (Arora, 2012). Está comprobado que el TiO₂ puede limitar la capacidad de crecimiento bacteriano, pero el recubrimiento permite disminuir la actividad fotocatalítica del componente permitiendo el crecimiento bacteriano de acuerdo con la concentración del material (Anexo 1).

Por otro lado, las bacterias poseen una característica en particular, y es respecto a su pared celular, la cual determina si son Gram positivas o Gram negativas. Cuentan con diferentes estructuras, las Gram positivas se diferencian por su pared celular gruesa compuesta de peptidoglucanos y proteínas, e impermeable, que hace que resista la decoloración (Podporska-carroll et al., 2015). A diferencia de las Gram positivas, las Gram negativas poseen una capa delgada de peptidoglucanos y una capa de lipoproteínas que se deshace por la decoloración, y se reconocen mediante la tinción (Panawala, 2017).

2. Materiales y métodos.

2.1. Materiales

Tetraisopropoxido de Titanio (TTIP) fue obtenido de Sigma Aldrich, dodecil sulfato sódico (SDS) fue obtenido de JTBaker, Bromuro de hexadeciltrimetilamonio (CTAB) fue obtenido de Merck, Tween 80 fue obtenido de Merck; estos compuestos son de alto grado analítico. (Yuenyongsuwan et al., 2018)

2.2. Preparación TiO_2

Las nanopartículas fueron sintetizadas por el método hidrotermal (Yuenyongsuwan et al., 2018) y de microemulsión (Li & Wang, 1999), para estabilizar la naturaleza de la partícula de titanio. El TTIP fue utilizado en ambos métodos. SDS, CTAB y Tween 80 actúan como surfactantes, éstos fueron usados para controlar la fase de la síntesis. El pH fue ajustado por NaOH en condición básica, para una mejor formación de la micela. Se prepara una solución de 200 ml de $8.01\text{E-}3$ mol/L, $9.81\text{E-}2$ mol/L y $2.4\text{E-}2$ mol/L para SDS, CTAB y TritonX-100 respectivamente. La solución fue agitada hasta lograr su homogeneidad. Luego de una hora el TTIP (0.0337 mol) fue añadido. Para el método hidrotermal, la reacción fue llevada a cabo en un reactor tipo batch dentro de un autoclave para esterilización, a una temperatura de 120°C a 99 min bajo presión. Después de sintetizar el TiO_2 fue filtrado y lavado con agua destilada, secado en un horno a 60°C por 24 horas. Por último, la síntesis fue calentada a 550°C por 5.5 horas por calcinación. (Yuenyongsuwan et al., 2018)

2.3. Caracterización de los materiales

2.3.1. Microscopia electronica de Barrido (SEM)

Las nanopartículas fueron caracterizadas por microscopía electrónica de barrido (SEM) (Morlando, 2018). Este análisis microscópico se realiza para determinar la composición morfológica de las nanopartículas y determinar la aglomeración que se presenta en las mismas.

2.3.2. (EDS)

JEOL 6490 equipado con EDS (Thongpool et al., 2018), donde se verificó la pureza de las nanopartículas y su composición atómica. Conduce a la determinación de los porcentajes moleculares presentes en una muestra.

2.1. Actividad antibacteriana

La actividad antibacteriana de las NP de TiO_2 se estudió por el método de difusión de disco, para el cual se tomaron 100 μl de la suspensión bacteriana que se encontraba en caldo nutritivo (en g/L): Extracto de carne, 1.0; extracto de levadura, 2.0; peptona, 5.0 y cloruro de sodio, 5.0) de *Escherichia coli* y *Serratia marcescens* con una densidad óptica de 0,05 (OD 600nm), las cuales fueron propagadas homogéneamente en placas de agar Mueller Hinton (en g/L): 2 de extracto de carne; 17,5 de hidrolizado de caseína; 1,5 de almidón y 17 de agar (Microbiology, 2018). Los sensidiscos tenían un diámetro de 5mm y 0.005 mm de espesor, los cuales se cubrieron con diferentes concentraciones de NP(3,4,5,6,7 y 8%). Las muestras fueron puestas en las placas de agar y se incubaron a 37°C por 24 y 48h. Cada prueba antibacteriana se realizó por triplicado. El Software ImageJ fue usado para medir el diámetro de inhibición de las NP depositadas sobre los sensidiscos para evaluar la actividad microbiana.

3. Resultados y discusión.

3.1. Microscopía electrónica de barrido (SEM)

Las figura 1 muestra las nanopartículas en diferentes proporciones, donde se pueden ver con claridad la formación de aglomerados, debido a que las nanopartículas no tienen una alta estabilidad y buscan la formación de clusters, generando partículas de mayor tamaño. Para esta prueba, las nanopartículas fueron maceradas, para lograr su separación y obtener un buen resultado microscópico; además se determinó su morfología. Las nanopartículas sintetizadas miden entre 50 y 80 nm. De acuerdo con estudios realizados por otros investigadores, la caracterización por SEM (Thongpool et al., 2018) muestra aglomerados de las nanopartículas de TiO_2 a concentraciones de 5% y 10%, ya que su estabilidad es más baja a concentraciones menores y en presencia de otros compuestos tienden a formarse partículas más grandes (Hosseinzadeh, Baharifar, & Amani, 2017). La ultrasonicación es una forma de separación de las partículas muy efectiva, recomendada para este tipo de partículas.

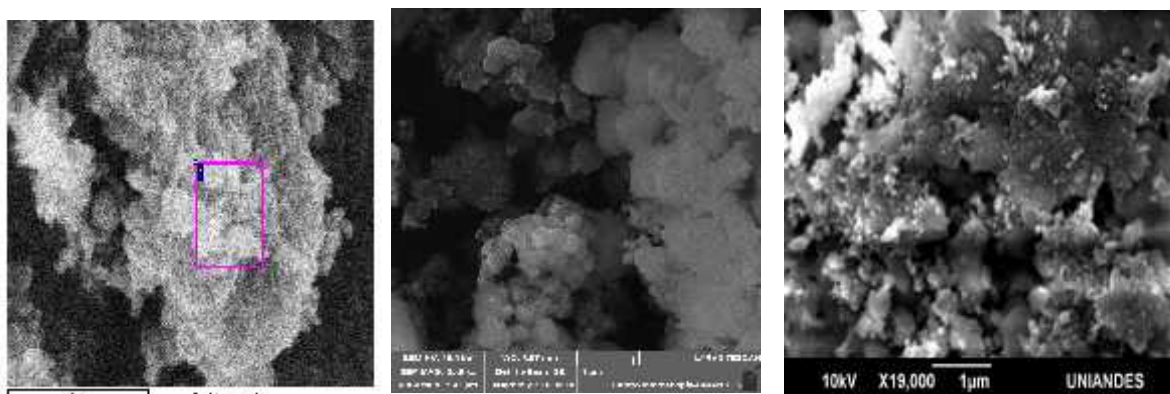


Figura 1. Imágenes de SEM de los clusters de nanopartículas de TiO_2 a) Cluster de NP b) muestra un detalle más cercano de las NP c) muestra un detalle mas real de las capas que forman las NP ($\times 19000$).

3.2. Microanálisis de espectroscopia de dispersión de energía de rayos X (EDS)

La composición molecular de la síntesis de nanopartículas de TiO_2 (Figura 2), muestra el porcentaje atómico del O es 67,88% y el de Ti es 26,88%. Por lo tanto la razón principal es de 67,88:26,88. Se estima que la mayor parte de la síntesis por el método hidrotérmal y de microemulsión, fue en efecto TiO_2 . En diferentes estudios de nanopartículas de TiO_2 se puede observar la utilización del método de caracterización EDS (Ren, 2009), ya que muestra la composición atómica de la muestra, la cual indica la pureza del compuesto, para un mejor resultado en el análisis catalítico o toxicológico del compuesto (Ilyas, Qazi, Asgar, Awan, & Khan, 2011).

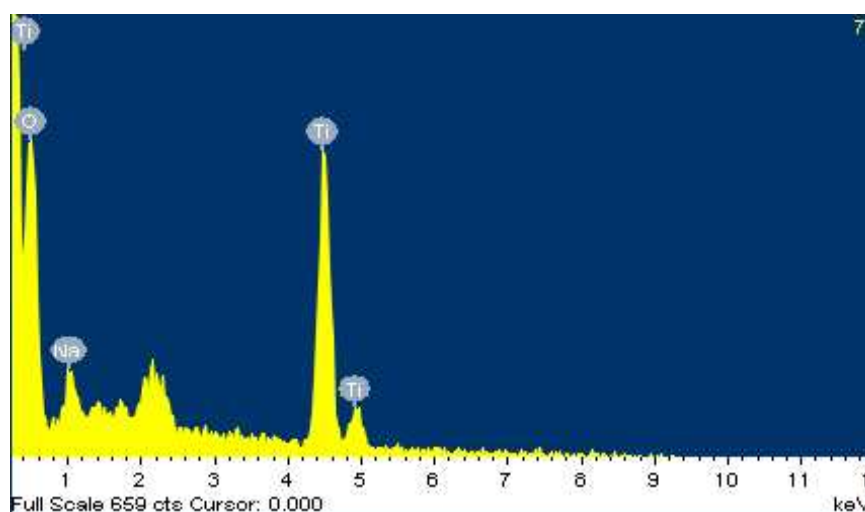


Figura 2. Imagen EDS, muestra la composición molecular de las nanopaticulas sintetizadas.

3.3. Análisis microbiológico

De acuerdo con el ensayo microbiológico se pudo determinar la toxicidad de las nanopartículas de TiO_2 en bacterias, mediante un halo de inhibición alrededor de los sensidiscos utilizados con diferentes concentraciones. Las nanopartículas con concentraciones de 3, 4, 5, 6, 7, y 8% no son tóxicas en bacterias gram negativas como *Serratia marcescens* y *Escherichia coli* (Anexo 2), siendo patógenas humanas, éstas bacterias debido a su doble membrana, no presentan un halo de inhibición significativo dentro del rango de concentraciones mencionado, pero si existe una diferencia entre el crecimiento de *S. marcescens* al de *E. coli*. De acuerdo con lo anterior, se puede afirmar que las bacterias *S. marcescens* presentan una inhibición mayor en comparación a *E. coli*, debido a que las bacterias no crecen sobre los sensidiscos sino solo a su alrededor, lo que indica que puede ser tóxico en concentraciones mayores, mientras que *E. coli* presenta una mayor resistencia a éstas nanopartículas, debido a su naturaleza.

Por otra parte, se puede determinar el crecimiento bacteriano de ambos microorganismos, y el halo de inhibición formado por el control positivo y el control negativo en ambas pruebas después de 24 y 48 horas (Figura 3).

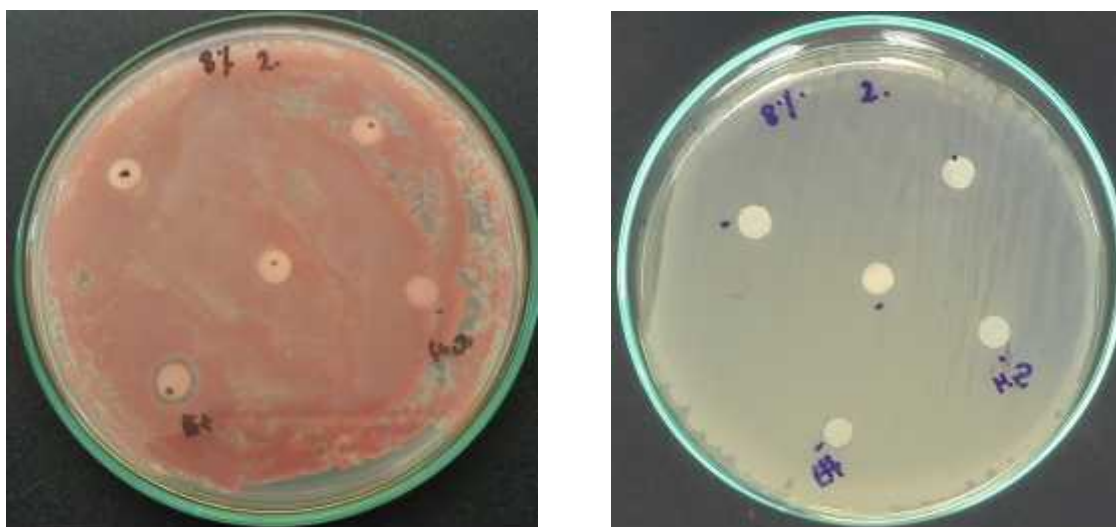


Figura 3. Prueba de sensidiscos con nanopartículas de TiO_2 a) *Serratia marcescens* b) *Escherichia coli*.

Los resultados del antibiograma más relevantes son a las 48 horas de *S. marcescens* y *E. coli* (Figura 3) en una concentración del 8%. Teniendo en cuenta que las otras concentraciones no presentaron una actividad bacteriana diferente a la concentración mayor, no se muestran los resultados obtenidos en éstas pruebas. De acuerdo con estudios en bacterias de toxicidad del TiO_2 se puede demostrar que la concentración de este compuesto es directamente

proporcional a su toxicidad y una bacteria como *E. Coli* se ve menos afectada por este compuesto a comparación de un organismo eucariota como *Daphnia Magna*, el cual se ve más afectado por compuestos como TiO_2 y ZnO , compuestos fotocatalíticos (Adams, Lyon, McIntosh, & Alvarez, 2006).

En orden de evaluar la toxicidad de las nanopartículas de TiO_2 en los microorganismos seleccionados, podemos observar, en la figura 4, la inhibición que presentan las bacterias al etanol como control negativo, especialmente en la *S. marcescens*, la cual forma un halo de inhibición de 2 mm aproximadamente, el cual no se puede observar en *E. coli*, teniendo en cuenta la naturaleza de la bacteria y su membrana de peptidoglucanos que hace impenetrable la toxicidad de las nanopartículas de TiO_2 y del etanol en este microorganismo para su reproducción.

Tabla 2. Inhibición bacteriana del TiO_2 .

Muestra (Concentración)	Diámetro de la zona de inhibición+- SD	
	<i>E.coli</i>	<i>S. marcescens</i>
3	0	0
4	0	0
5	0	0
6	0	0
7	0	0
8	0	0

En el control positivo, que en este caso es el H_2O , se puede observar en ambos microorganismos que no presentan inhibición a ésta sustancia ni a las concentraciones antes mencionadas, ya que no se forma un halo de toxicidad alrededor de los sensidiscos, siendo éstos resultados comparados con el control positivo, que para todas las pruebas fue el etanol.

Las concentraciones del material nanoparticulado de TiO_2 a diferentes concentraciones, no muestran un halo de inhibición significativo, esto puede ser debido a la naturaleza de los microorganismos o a la baja concentración de TiO_2 . De acuerdo con la revisión de estudios realizados sobre las nanopartículas de TiO_2 , se encuentra una gran discusión de acuerdo al uso de este como mineral físico inorgánico bloqueador de rayos solares como UVA y UVB. Según el artículo la reactividad del compuesto en el bloqueador se debe al recubrimiento utilizado y a la morfología del TiO_2 en forma de rutilo, ya que crean una mayor estabilidad en las nanopartículas y la solución del bloqueador, lo cual incrementa la refracción de los rayos UV, en concentraciones de 5% y 7% (Press, 2011).

CONCLUSIONES

De acuerdo con lo establecido en los resultados se puede concluir que las bacterias *E. coli* y *S. marcescens* son resistentes a las nanopartículas de TiO₂ sintetizadas por los métodos hidrotérmico y de microemulsión a concentraciones de 3% hasta 8%. El impacto de éstas nanopartículas respecto al crecimiento bacteriano, no se vio reflejado en comparación con su patrón negativo.

La síntesis por el método hidrotérmico y de microemulsión, es efectiva para la creación de nanopartículas de TiO₂, ya que por su método de calcinación permiten la eliminación de agua y otros compuestos, al igual que la filtración de éstas, aumentando su pureza para un mejor resultado y composición atómica.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a la Universidad Jorge Tadeo Lozano y al grupo de investigación de Nanotecnología dirigido por la profesora Alis Yovanna Pataquiva, por hacer posible éste ensayo de nanotoxicología, por su contribución y su paciencia. También agradecemos a la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia y al grupo de investigación de biocatálisis apoyado por la profesora Alejandra Rodríguez, directora de éste proyecto, por su apoyo en el ensayo microbiológico, sus instalaciones y el personal que apoyó éste artículo.

REFERENCIAS

- Adams, L. K., Lyon, D. Y., McIntosh, A., & Alvarez, P. J. J. (2006). Comparative toxicity of nano-scale TiO₂, SiO₂ and ZnO water suspensions. *Water Science and Technology*, 54(11–12), 327–334. <https://doi.org/10.2166/wst.2006.891>
- Arora, S., Rajwade, J. M., & Paknikar, K. M. (2012). Nanotoxicology and in vitro studies: The need of the hour. *Toxicology and Applied Pharmacology*. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2011.11.010>
- Celorio, M. C., Méndez, A. L., & Portero, R. V. (2010). *Nanotecnología en Medicina. Nanotecnología En Medicina*.
- Díaz, J. (2015). Reglamentación en nanocosmética_ un paso.
- Emerich, D. F., & Thanos, C. G. (2003). Nanotechnology and medicine. *Expert Opinion on Biological Therapy*, 3(4), 655–663. <https://doi.org/10.1517/14712598.3.4.655>
- Hosseinizadeh, S., Baharifar, H., & Amani, A. (2017). Efficacy of a Model Nano-TiO₂ Sunscreen Preparation as a Function of Ingredients Concentration and Ultrasonication Treatment. *Pharmaceutical Sciences*, 23(2), 129–135. <https://doi.org/10.15171/ps.2017.19>
- Houdy, P. (2013). *Nanoethics and Nanotoxicology*.
- Ilyas, H., Qazi, I. A., Asgar, W., Awan, M. A., & Khan, Z. U. D. (2011). Photocatalytic degradation of nitro and chlorophenols using doped and undoped titanium dioxide nanoparticles. *Journal of Nanomaterials*, 2011(May 2014). <https://doi.org/10.1155/2011/589185>
- Komastu, H., & Ogasawara, A. (2005). Applying Nanotechnology to Electronics- Recent Progress in Si-LSIs to Extend Nano-Scale-. *Science And Technology*

- Trends*, 36–45. Retrieved from <http://www.nistep.go.jp/achiev/ftx/eng/stfc/stt016e/qr16pdf/STTqr1603.pdf>
- Li, G. L., & Wang, G. H. (1999). Synthesis of nanometer-sized TiO₂ particles by a microemulsion method. *Nanostructured Materials*, 11(5), 663–668. [https://doi.org/10.1016/S0965-9773\(99\)00354-2](https://doi.org/10.1016/S0965-9773(99)00354-2)
- Malato, S. (2004). Propiedades coloidales de partículas de TiO₂: Aplicación al tratamiento fotocatalítico solar de aguas. *Libro. Editorial CIEMAT*, (ISBN: 84-7834-467-5), 1–293.
- MicrobiologyInfo.com. (2018). Mueller Hinton Agar (MHA) – Composition, Principle, Uses and Preparation. *MicrobiologyInfo.Com*. Retrieved from <https://microbiologyinfo.com/mueller-hinton-agar-mha-composition-principle-uses-and-preparation/>
- Morlando, A., Sencadas, V., Cardillo, D., & Konstantinov, K. (2018). Suppression of the photocatalytic activity of TiO₂ nanoparticles encapsulated by chitosan through a spray-drying method with potential for use in sunblocking applications. *Powder Technology*, 329, 252–259. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2018.01.057>
- Panawala, L. (2017). Difference Between Gram Positive and Gram Negative Bacteria Stunning images of cells Discover how scientists use Main Difference – Gram Positive vs Gram Negative Bacteria. *Pediaa*, (April), 13.
- Podporska-carroll, J., Panaitescu, E., Quilty, B., Wang, L., Menon, L., & Pillai, S. C. (2015). Applied Catalysis B : Environmental Antimicrobial properties of highly efficient photocatalytic TiO₂ nanotubes. *“Applied Catalysis B, Environmental,”* 176–177, 70–75. <https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2015.03.029>
- Press, D. (2011). Titanium dioxide and zinc oxide nanoparticles in sunscreens : focus on their safety and effectiveness, 95–112.
- Quintana, M. J. (2015). Nanomateriales.
- Ren, G., Hu, D., Cheng, E. W. C., Vargas-Reus, M. A., Reip, P., & Allaker, R. P. (2009). Characterisation of copper oxide nanoparticles for antimicrobial applications. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 33(6), 587–590. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2008.12.004>
- Sozer, N., & Kokini, J. L. (2009). Nanotechnology and its applications in the food sector. *Trends in Biotechnology*, 27(2), 82–89. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2008.10.010>
- Thongpool, V., Phunpueok, A., Jaiyen, S., Thanyaburi, T., Physics, M., & Thanyaburi, T. (2018). PREPARATION , CHARACTERISATION AND PHOTOCATALYTIC where C₀ and C_t are MB concentration at initial and anytime respectively and parameters A₀ and A_t are absorbance of the MB solutions in the 663 nm wavelength at initial and any time respectively ., 13(2), 499–504.
- Tian, J., Chen, L., Yin, Y., Wang, X., Dai, J., Zhu, Z., ... Wu, P. (2009). Surface & Coatings Technology Photocatalyst of TiO₂ / ZnO nano composite fi lm : Preparation , characterization , and photodegradation activity of methyl orange. *Surface & Coatings Technology*, 204(1–2), 205–214. <https://doi.org/10.1016/j.surfcoat.2009.07.008>
- Yuenyongsuwan, J., Nithiyakorn, N., & Sabkird, P. (2018). Surfactant effect on phase-controlled synthesis and photocatalyst property of TiO₂ nanoparticles.

Materials Chemistry and Physics, 214, 330–336.
<https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2018.04.111>

ANEXOS

Anexo 1.

Tabla 1. Tinción Gram positivas y Gram negativas.

	Bacterias Gram Positivas	Bacterias Gram Negativas
Color con la tinción de Gram	Violeta	Rojo
Pared celular	Gruesa	Delgada
Presencia de lipopolisacáridos en pared celular	Ausente	Presente
Presencia de ácidos lipoteicoicos y teicoicos en pared celular	Presente	Ausente

Anexo 2.

Figura 4. Tinción de Gram a) bacteria Gram positiva b) bacteria Gram negativa

a.



b.

