

# EVALUACIÓN DE UN DESINFECTANTE CLORADO A PARTIR DE BIO-INDICADORES MICROBIOLÓGICOS

## EVALUATION OF A CHLORINATED DISINFECTANT FROM BIO-MICROBIOLOGICAL INDICATORS

---

Luz Anggie Velásquez G.<sup>1</sup>

---

### RESUMEN

Se llevará a cabo la evaluación de un desinfectante clorado mediante análisis microbiológicos de una muestra de agua artificial infectada con una concentración conocida de la bacteria *Escherichia coli* sp, donde se determinará la capacidad de remoción que este agente oxidante puede alcanzar. Para esto, se empleará la técnica de filtración por membrana y se utilizará el recuento en placa para contar las unidades formadoras de colonia (UFC) resultantes una vez los filtros mediante los cuales pasó el agua artificial hayan sido sembrados. Adicionalmente, se desea determinar cuál es la concentración óptima del desinfectante, así como el tiempo mínimo requerido para realizar la desinfección. La finalidad de esta investigación es contribuir a los métodos ya existentes para el tratamiento de agua mediante la obtención de un agente oxidante a partir de materias primas económicas. Cabe resaltar que se requieren de investigaciones posteriores para poder avalar el agente oxidante obtenido como un desinfectante de agua.

**Palabras claves:** capacidad antimicrobiana, agente oxidante, filtración por membrana.

### ABSTRACT

The evaluation of a chlorinated disinfectant will be carried out by microbiological analysis in a sample of artificial water infected with a known concentration of *Escherichia coli* sp, where the removal capacity that this oxidizing agent can reach will be determined, in order to do this, the membrane filtration technique will be used, then the plate count will be used to count the resulting colony forming units (CFU) once the filters through which the artificial water passed have been seeded, additionally, it is required to determine the optimum disinfectant concentration and the minimum time required to carry out the disinfection, the purpose of this research is to contribute to the existing methods for the treatment of water by obtaining an oxidizing agent from economic raw materials, it should be noted that further research is required to be able to guarantee the oxidizing agent obtained as a water disinfectant.

**Keywords:** Antimicrobial Capacity, Oxidizing Agent, Membrane Filtration

---

<sup>1</sup> Ingeniería Química, Facultad de Ingenierías, Fundación Universidad de América, Bogotá D.C., Colombia, luz.velasquez@estudiantes.uamerica.edu.co

## INTRODUCCIÓN

El agua es el principal sustento de la vida; se emplea en diversas actividades, como la pesca, la agricultura, bosques, la producción con el uso intensivo de recursos, el transporte, el reciclaje, la construcción y la energía (Ulises, 2016). Gracias al resultado de estas labores, el ser humano obtiene los recursos necesarios para sobrevivir y mantenerse dentro de niveles de calidad de vida adecuados. Igualmente, se logra una mejora en las economías sociales de los países, las condiciones laborales y la inclusión social de las personas (Ulises, 2016). En la actualidad, y con base en estudios realizados por las Naciones Unidas, la escasez de agua es un problema que afecta al 40 % de la población mundial. Se estima que 783 millones de personas no cuentan con acceso a agua potable, 2.400 millones no cuentan con un servicio básico de saneamiento y más de 1.700 millones viven hoy en cercanías de ríos de los cuales obtienen el agua requerida para sus diversas actividades, sin tener en cuenta que el uso desmedido de este recurso natural hará que se superen los límites establecidos de salubridad (Organización de las Naciones Unidas [ONU], s.f.).

Aunque se ha considerado como una excepción a la crisis mundial del agua por su abundancia en recursos hídricos, Colombia presenta actualmente un deterioro constante en sus ecosistemas, lo que produce un aumento en las zonas con escasez de agua. Esto se debe a las características de poblamiento y al modelo de desarrollo que concentra la mayor cantidad de personas en las regiones Andina y Caribe (Colmenares, 2005). Como consecuencia de este crecimiento

desmedido, se ha generado una demanda de agua mayor a la que el ecosistema puede proveer; esto se conoce como estrés hídrico. Según un estudio realizado por el Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales (IDEAM) en 2014, en Colombia hay 318 municipios que están en riesgo de desabastecimiento de agua; dentro de ellos se encuentran ocho cabeceras municipales que incluyen dos capitales (Rubiano, 26 de abril de 2017). Por otro lado, al hablar de agua, se logra relacionar directamente disponibilidad con calidad: el aumento en vertidos de aguas residuales sin tratar, la escorrentía de tierras agrícolas y las aguas residuales industriales con tratamientos inadecuados son algunas de las grandes afectaciones a la calidad del agua en todo el mundo (ONU, 2017). El consumo de este recurso en condiciones insalubres puede acarrear enfermedades como diarrea y cólera, las cuales aún presentan altas tasas de morbilidad y mortalidad en Colombia, principalmente en niños (UNICEF, 2016).

Teniendo en cuenta esta problemática y sus efectos sobre los seres humanos, se desarrollará el siguiente trabajo investigativo, el cual corresponde a la segunda fase de un proyecto de investigación que se fundamenta en la obtención de un agente desinfectante por el método de electrólisis para la desinfección de agua (Hernández y Tafur, 2018). El objetivo principal de este trabajo es determinar la capacidad antimicrobiana del agente oxidante obtenido. Se utiliza la técnica de filtración por membrana y se analiza una muestra de agua contaminada con una concentración conocida de la bacteria *E. coli sp*, la cual es reconocida por la Resolución 2115 de 2007 como un indicador microbiológico de contaminación fecal en aguas de consumo.

Para el desarrollo de esta experimentación se harán réplicas exactas del desinfectante a evaluar; y se definirá cuáles factores influyen sobre la acción antimicrobiana del agente oxidante obtenido y en qué medida lo hacen.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Activación de la cepa

Para el desarrollo del análisis que se llevará a cabo en este trabajo investigativo se utilizará la bacteria *E. coli sp*, la cual inicialmente se encuentra en una etapa de crio-preservación a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Es importante resaltar que la congelación es una técnica de conservación que se utiliza para mantener microorganismos en un estado viable y durante un tiempo determinado, lo cual evita que sufran cambios genotípicos. El principal objetivo es disminuir la velocidad metabólica a tal punto que su metabolismo no se perciba pero que sí se logren mantener los microorganismos vivos (Sánchez y Corrales, 2005). Una vez obtenida la cepa, se procede a la descongelación. Se debe permitir que el vial donde está contenido el microorganismo se descongele por mecanismos naturales para poder realizar la recuperación de la bacteria.

Posteriormente, se procederá a realizar la siembra en un medio de cultivo nutritivo, el cual se preparará con anticipación y se llevará a esterilizar en un autoclave a 121 lb de presión durante 15 minutos. Se sembrará en una caja de Petri una muestra de la bacteria *E. coli sp* mediante un asa estéril y se procederá a mantenerla a  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 24 horas. Para asegurar la correcta activación y crecimiento de la cepa, se realizarán conteos de UFC por

recuento en placa 24 y 48 horas después de la incubación.

Finalmente, se evaluará la pureza del microorganismo mediante una coloración de Gram, esto con el fin de confirmar que la cepa en su totalidad corresponde a *E. coli sp*.

### Preparación del agua artificial que contiene *Escherichia coli sp*

La investigación experimental será realizada con agua artificial contaminada con el cultivo anteriormente activado de *Escherichia coli sp* en una concentración de  $10^8\text{ ml}^{-1}$ . Para esto, se requiere de agua desionizada, la cual se filtra mediante filtros de membrana de  $0,22\text{ }\mu\text{m}$ . Una vez se obtenga el agua, la cepa se adicionará e incorporará mediante el uso de una asa, posteriormente, se procederá a calcular la concentración inicial del agua artificial obtenida mediante la técnica de turbidimetría y se comparará este resultado con el patrón núm. 2 de McFarland, el cual permite calcular y ajustar la concentración de suspensiones bacterianas a un patrón específico y basa su funcionamiento en la capacidad de precipitación del cloruro de bario en presencia de ácido sulfúrico. La turbidimetría es una técnica que consiste en medir la disminución de la intensidad de luz transmitida a causa de partículas presentes en la muestra, en este caso estas partículas corresponderían al cultivo bacteriano. Para este análisis se utilizará un espectrofotómetro a una longitud de onda de 625 nanómetros; el patrón utilizado en esta experimentación se preparará mediante 0,2 ml de  $\text{BaCl}_2$  al 1 % y 9,8 ml de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  al 1 % con el fin de obtener una concentración de  $6,0 \times 10^8$  UFC/ml.

### Preparación del agente oxidante y desinfección de la muestra

El agente oxidante se obtendrá mediante electrólisis de cloruro de sodio, según el procedimiento descrito por Hernández y Tafur (2018). Una vez obtenido el desinfectante, se debe calcular la concentración de este mediante el método colorimétrico DPD de acuerdo con lo descrito en la fase I de esta investigación.

La cloración de la muestra de agua-patrón se realizará mediante una dosificación de entre 5 y 10 mg/L del desinfectante en un recipiente que contendrá 100 ml del agua artificial y el cual deberá ser previamente esterilizado. Se mantendrá un mezclado continuo durante 30 minutos con ayuda de agitadores magnéticos.

El anterior procedimiento se repetirá variando la concentración del desinfectante y el tiempo durante el cual se realizará la agitación.

### Evaluación del desinfectante mediante filtración por membrana

Al finalizar el tiempo de cloración, se tomará una muestra de 100 ml que se llevará al equipo de filtración por membrana, donde se pasa la muestra de agua por filtros de 0,42  $\mu\text{m}$  mediante bombas de vacío y con la ayuda de presión diferencial, con el fin de atrapar en esta superficie los microorganismos presentes en la muestra. Los filtros obtenidos de los diferentes experimentos se sembrarán en agar Chromocult, un medio que se considera selectivo para el crecimiento de coliformes totales y *E. coli* en muestras de aguas (Carrillo y Lozano, 2008). Las cajas se incubarán a 37 °C durante 24 horas. Al

cabo de este tiempo, se realizará el conteo de unidades formadoras de colonias mediante la técnica de recuento en placa. Se realizarán dos repeticiones de este procedimiento.

Una vez se determine la efectividad del agente oxidante en la remoción de coliformes fecales, se mantendrá constante la concentración en la que el desinfectante actúe de manera óptima y se procederá, mediante pruebas experimentales, a determinar el tiempo oportuno en el cual los microorganismos son degradados por acción del cloro. Para esto se requerirá tomar muestras del agua desinfectada que se encuentra en constante agitación, desde el tiempo cero y cada cinco minutos, durante una hora y media. Se sembrarán e incubarán las muestras en un medio de cultivo BHI para realizar un conteo posterior mediante la técnica de recuento en placa.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Con el desarrollo de esta investigación se espera obtener un agente oxidante capaz de remover coliformes fecales de una muestra de agua sintética. La evaluación se basará en los lineamientos estipulados dentro de la Resolución 2115 de 2007, la cual indica que debe haber máximo 0 UFC del indicador microbiológico *Escherichia coli* en 100  $\text{cm}^3$  de una muestra de agua para sea catalogada como de consumo (Resolución 2115, 2007).

Del mismo modo, se desea lograr una recopilación de datos acerca de variables, como el tiempo de desinfección y la concentración óptima del desinfectante, con el fin de realizar una parametrización adecuada de estas variables y que en

análisis posteriores se pueda experimentar con diversos factores adicionales que no se tuvieron en cuenta en esta investigación.

Así mismo, se quiere determinar si la técnica de filtración por membrana empleada en este estudio es la adecuada para este tipo de análisis. Esto implica una revisión extendida hacia los materiales y métodos seleccionados para este procedimiento, es decir, evaluar si el tamaño de poro de los filtros escogidos es el indicado, así como determinar si los procedimientos de cloración y filtración se llevan a cabo de forma pertinente. Adicionalmente, incluye realizar una valoración que permita determinar si los medios de cultivos seleccionados para realizar la inoculación de las muestras una vez ya filtradas fueron oportunos durante todo el desarrollo, así como las temperaturas y tiempos estipulados para este procedimiento del proyecto.

## CONCLUSIONES

La finalidad de esta investigación es contribuir a los métodos ya existentes para el tratamiento del agua mediante la elaboración de un desinfectante a partir de electrólisis de cloruro de sodio. Los resultados experimentales de este trabajo permitirán evaluar si el desinfectante obtenido realmente actúa en la remoción de coliformes fecales. Además, se obtendrá la concentración y el tiempo óptimo de uso.

Al obtener un agente oxidante efectivo en la remoción de *Escherichia coli* sp a partir de materias primas económicas y de fácil acceso en la costa Caribe colombiana, se presenta la oportunidad de brindar una solución eficiente y económica para obtener agua de consumo de fácil acceso

a las personas que habitan esa región, la cual presenta grandes problemas por la escasez de agua potable y un sistema ineficaz de acueducto y alcantarillado. Es válido aclarar que para poder establecer el agente oxidante obtenido en la primera fase de este proyecto como un desinfectante para aguas no solo se deben hacer evaluaciones acerca de la eliminación de coliformes fecales, sino también se deben realizar investigaciones que corroboren la capacidad de degradación que presenta este desinfectante con otros microorganismos, ya que la bacteria *Escherichia coli* no es la única bacteria presente en el agua ni es la única fuente de contaminación.

## BIBLIOGRAFÍA

- Carrillo, E. M., y Lozano, A. M. (2008). *Validación del método de detección de coliformes totales y fecales en agua potable utilizando agar chromocult*. Trabajo de grado para optar al título de Microbióloga Industrial, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, D.C.: Colombia.
- Colmenares, R. (2005). El agua: crisis y privatización. *Semillas*, 26/27, pp. 18-23
- Hernández, A. C. y Tafur, J. S. (2018). *Obtención de un agente desinfectante a partir de la electrólisis de Cloruro de sodio para el tratamiento de agua potable*. Trabajo de grado para optar al título de Ingeniero Químico, Facultad de Ingeniería, Fundación Universidad de América, Bogotá, D.C.: Colombia.
- Organización de las Naciones Unidas. (2017). *Informe Mundial de las Naciones Unidas sobre el Desarrollo de los Recursos*

- Hídricos. Aguas residuales: El recurso desaprovechado.* París: UNESCO.
- Organización de las Naciones Unidas. (s.f.). *Agua*. Extraído de: <http://www.un.org/es/sections/issues-depth/water/index.html>
- Resolución 2115. Por medio de la cual se señalan características, instrumentos básicos y frecuencias del sistema de control y vigilancia para la calidad del agua para consumo humano. Diario oficial de la República de Colombia. Bogotá, Colombia, 29 de septiembre de 2007.
- Rubiano, M. P. (26 de abril de 2017). *Colombia hace parte de la mitad del mundo amenazada por la escasez de agua*. Extraído de: <http://blogs.elespectador.com/actualidad/el-rio-colombia-parte-la-mitad-del-mundo-amenazada-la-escasez-agua>
- Sánchez Leal, L. C. y Corrales Ramírez, L. C. (2005). Congelación bacteriana: factores que intervienen en el proceso. *NOVA-Publicación Científica*, 3 (3), pp. 109-113
- Ulises (2016). Define el agua desarrollo y empleo. Reforma (México D.F., México), pp. 7.
- UNICEF. (2006). *La infancia, el agua y el saneamiento básico en los planes de desarrollo departamentales y municipales*. Extraído de: <https://www.unicef.org/colombia/conocimiento/agua.htm>