



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**EVALUACIÓN DEL EFECTO
DESINFECTANTE DE UN AGREGADO
MINERAL NATURAL SOBRE *Escherichia coli*
CEPA ATCC 11229 EN PRESENCIA DE
MATERIA ORGÁNICA.**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA

PRESENTA

JAKELINE LUZZY APÁTIGA HERMOSO

DIRECTOR DE TESIS

Dr. VICTOR M. LUNA PABELLO





Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: **Profesor:** BONILLA ESPINOSA EDUARDO

VOCAL: **Profesor:** LUNA PABELLO VÍCTOR MANUEL

SECRETARIO: **Profesora:** MARTÍN FUENTES RUTH EDITH

1er. SUPLENTE: **Profesora:** URZÚA HERNÁNDEZ MARÍA DEL CARMEN

2° SUPLENTE: **Profesora:** MERLO ROBREDO ANGÉLICA LETICIA

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA EXPERIMENTAL

DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA

FACULTAD DE QUÍMICA, UNAM

ASESOR DEL TEMA: _____

DR. VÍCTOR MANUEL LUNA PABELLO

SUPERVISOR TÉCNICO: _____

M EN C. LUCIANO HERNÁNDEZ GÓMEZ

SUSTENTANTE: _____

APÁTIGA HERMOSO JAKELINE LUZZY

RECONOCIMIENTOS

Investigación realizada gracias al Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) de la Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA) de UNAM. Proyecto PAPIIT IT101922 “Desarrollo de filtro desinfectante a base de agregados minerales para el tratamiento de aguas residuales parcialmente tratadas” y del Programa de Apoyo a la Investigación y el Posgrado otorgado por la Facultad de Química al Dr. Víctor M Luna Pabello, clave PAIP 5000-9111. Agradezco a la DGAPA-UNAM la beca otorgada.

A la Unidad de Servicios de Apoyo a la Investigación y a la Industria (USAII) por el procesamiento de las muestras del agregado mineral natural (AMN) evaluado.

Al personal directivo y operario del Humedal Artificial Doble Espiral (SHADE) del Bosque de San Juan de Aragón y de la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales Cerro del Agua, por permitirme realizar la toma de muestras de agua.

ÍNDICE

| | |
|--|----|
| ÍNDICE | 4 |
| ÍNDICE DE ECUACIONES..... | 8 |
| ÍNDICE DE FIGURAS | 9 |
| ÍNDICE DE TABLAS | 12 |
| ABREVIATURAS..... | 14 |
| RESUMEN | 1 |
| 1 INTRODUCCIÓN..... | 2 |
| 2 ANTECEDENTES..... | 5 |
| 2.1 FUNDAMENTOS SOBRE DESINFECCIÓN | 5 |
| 2.1.1 Características ideales de los desinfectantes | 6 |
| 2.1.2 Métodos de desinfección | 6 |
| 2.1.3 Factores que afectan la desinfección | 13 |
| 2.1.4 Cuantificación de materia orgánica..... | 13 |
| 2.1.5 Cinética de la desinfección | 14 |
| 2.2 AGREGADO MINERAL NATURAL | 15 |
| 2.3 <i>Escherichia coli</i> | 16 |
| 2.3.1 <i>Escherichia coli</i> como microorganismo indicador | 16 |
| 2.3.2 Generalidades <i>Escherichia coli</i> | 17 |
| 2.3.3 Importancia <i>Escherichia coli</i> en el sector salud | 17 |
| 3 OBJETIVOS Y ESTRATEGIA DE TRABAJO | 20 |
| 3.1 OBJETIVOS:..... | 20 |
| 3.1.1 Objetivo general..... | 20 |
| 3.1.2 Objetivos particulares | 20 |
| 3.2 ESTRATEGIA DE TRABAJO | 21 |

| | | |
|-------|--|----|
| 4 | PRUEBAS EXPERIMENTALES DE APROXIMACIÓN..... | 22 |
| 4.1 | IDENTIFICACIÓN DE MICOORGANISMOS EN EL AGREGADO MINERAL..... | 23 |
| 4.2 | SELECCIÓN DE MEDIO DE CULTIVO | 23 |
| 4.3 | RETO MICROBIANO | 26 |
| 4.4 | SELECCIÓN DE LA SOLUCIÓN NEUTRALIZANTE | 27 |
| 5 | MATERIALES Y MÉTODOS..... | 30 |
| 5.1 | AGREGADO MINERAL NATURAL..... | 30 |
| 5.2 | AGUA RESIDUAL TRATADA POR PROCESOS BIOLÓGICOS Y ESTÉRIL (ARTPBE) | 30 |
| 5.3 | <i>Escherichia coli</i> CEPA ATCC 11229 | 30 |
| 5.4 | CRECIMIENTO, VIABILIDAD Y CONSERVACIÓN DE LA CEPA <i>Escherichia coli</i> | 31 |
| 5.5 | DETERMINACIÓN DE CONCENTRACIONES DE MICROORGANISMOS Y MATERIA ORGÁNICA A UTILIZAR. | 32 |
| 5.5.1 | Toma de muestra SHADE | 32 |
| 5.5.2 | Toma de muestra PTARCA | 34 |
| 5.5.3 | Cuantificación de coliformes totales y fecales | 36 |
| 5.5.4 | Cuantificación de materia orgánica..... | 36 |
| 5.6 | ESTANDARIZACIÓN DEL INÓCULO DE <i>Escherichia coli</i> | 37 |
| 5.6.1 | Preparación inóculo <i>E. coli</i> 10 ² UFC/mL..... | 37 |
| 5.6.2 | Preparación inóculo <i>E. coli</i> 10 ³ UFC/mL..... | 38 |
| 5.7 | ENUMERACIÓN DE <i>Escherichia coli</i> | 39 |
| 5.8 | NEUTRALIZACIÓN DEL AMN EN LAS ALÍCUOTAS UTILIZADAS PARA LA CUANTIFICACIÓN DE <i>Escherichia coli</i> | 40 |

| | | |
|--------|---|----|
| 5.9 | EVALUACIÓN DE LA VIABILIDAD DE <i>Escherichia coli</i> EN PRESENCIA DE AMN | 40 |
| 5.9.1 | Inóculo <i>E. coli</i> 10 ² UFC/mL | 40 |
| 5.9.2 | Inóculo <i>E. coli</i> 10 ³ UFC/mL | 42 |
| 5.10 | EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LA MATERIA ORGÁNICA | 43 |
| 5.10.1 | Inóculo <i>E. coli</i> 10 ² UFC/mL..... | 44 |
| 5.10.2 | Inóculo <i>E. coli</i> 10 ³ UFC/mL..... | 44 |
| 5.11 | EVALUACIÓN DEL PORCENTAJE DE REMOCIÓN DE UNA COLUMNA EMPACADA CON AMN | 45 |
| 5.11.1 | Inóculo <i>E. coli</i> 10 ² UFC/mL..... | 45 |
| 5.11.2 | Construcción de la columna empacada..... | 47 |
| 6 | RESULTADOS | 49 |
| 6.1 | DETERMINACIÓN DE INTERVALOS DE MICROORGANISMOS Y MATERIA ORGÁNICA A UTILIZAR..... | 49 |
| 6.1.1 | Cuantificación de coliformes totales y fecales | 49 |
| 6.1.2 | Demanda química de oxígeno..... | 50 |
| 6.2 | EVALUACIÓN DE LA VIABILIDAD DE <i>Escherichia coli</i> EN PRESENCIA DE AMN | 51 |
| 6.2.1 | Viabilidad de <i>E. coli</i> 10 ² UFC/mL en presencia de AMN | 52 |
| 6.2.2 | Viabilidad de <i>E. coli</i> 10 ³ UFC/mL en presencia de AMN | 53 |
| 6.3 | EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LA MATERIA ORGÁNICA | 55 |
| 6.3.1 | Efecto de la materia orgánica con <i>E. coli</i> 10 ² UFC/mL | 55 |
| 6.3.2 | Efecto de la materia orgánica con <i>E. coli</i> 10 ³ UFC/mL | 58 |
| 6.4 | EVALUACIÓN DE PORCENTAJE DE REMOCIÓN DE UNA COLUMNA EMPACADA CON AMN | 61 |
| 7 | ANÁLISIS Y DISCUSIÓN | 62 |

| | | |
|-------|--|-----|
| 7.1 | EVALUACIÓN DE LA VIABILIDAD DE <i>Escherichia coli</i> EN PRESENCIA DE AMN..... | 62 |
| 7.1.1 | Constante de rapidez de inactivación..... | 64 |
| 7.1.2 | Efecto del aumento de la concentración de <i>E. coli</i> sobre la desinfección 65 | |
| 7.2 | EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LA MATERIA ORGÁNICA | 65 |
| 7.2.1 | Inóculo 10 ² UFC/mL..... | 66 |
| 7.2.2 | Constante de rapidez de inactivación inóculo 10 ² UFC/mL | 68 |
| 7.2.3 | Inóculo 10 ³ UFC/mL..... | 71 |
| 7.2.4 | Constante de rapidez de inactivación inóculo 10 ³ UFC/mL | 73 |
| 7.2.5 | Efecto del aumento de la concentración de <i>E. coli</i> sobre la desinfección en presencia de materia orgánica..... | 77 |
| 7.3 | MECANISMO DE DESINFECCIÓN | 77 |
| 7.3.1 | Efecto químico con materia orgánica..... | 78 |
| 7.3.2 | Efecto químico sin materia orgánica..... | 80 |
| 7.4 | EVALUACIÓN DE PORCENTAJE DE REMOCIÓN DE UNA COLUMNA EMPACADA CON AMN | 83 |
| 8 | CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES..... | 86 |
| 8.1 | CONCLUSIONES..... | 86 |
| 8.2 | RECOMENDACIONES | 86 |
| 9 | REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 88 |
| | ANEXO 1. EVALUACIÓN DEL AGREGADO MINERAL NATURAL..... | 101 |
| A1.1 | ACONDICIONAMIENTO AMN..... | 102 |
| A1.2 | MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (MEB)..... | 102 |
| A1.4 | ESPECTROSCOPIA DE EMISIÓN ATÓMICA (EEA)..... | 105 |
| A1.2 | DIFRACCIÓN DE RAYOS X..... | 106 |

ANEXO 2. METODOLOGÍAS PARA LA DETERMINACIÓN DE
CONCENTRACIONES DE MICROORGANISMOS Y MATERIA ORGÁNICA A
TRABAJAR 108

| | | |
|--------|--|-----|
| A2.1 | CUANTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS | 108 |
| A2.1.1 | Materiales:..... | 108 |
| A2.1.2 | Preparación de reactivos..... | 108 |
| A2.1.3 | Metodología para la cuantificación de CF y CT en agua..... | 109 |
| A2.2 | DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO | 109 |
| A2.2.1 | Materiales:..... | 110 |
| A2.2.2 | Preparación de reactivos..... | 110 |
| A2.2.3 | Metodología para la determinación de la DQO | 112 |

ÍNDICE DE ECUACIONES

| | |
|---|----|
| Ecuación 1. Hidrolización del cloro gaseoso. | 8 |
| Ecuación 2. Disociación del ácido hipocloroso..... | 8 |
| Ecuación 3. Formación de cloraminas. | 8 |
| Ecuación 4. Reacciones de formación del ozono..... | 9 |
| Ecuación 5 Reacciones de descomposición del ozono..... | 9 |
| Ecuación 6. Reacción DQO..... | 14 |
| Ecuación 7. Cinética de desinfección..... | 15 |
| Ecuación 8. Ecuación de meseta a partir tiempo 40 min para <i>E. coli</i> 10 ² UFC/mL a una DQO de 153 mgO ₂ /L. | 70 |
| Ecuación 9. Cálculo tiempo de desinfección para <i>E. coli</i> 10 ² UFC/mL a una DQO de 153 mgO ₂ /L. | 71 |
| Ecuación 10.Ecuación de meseta para <i>E. coli</i> 10 ³ UFC/mL a una DQO de 153 mgO ₂ /L. | 76 |
| Ecuación 11. Ecuación redox entre plata y cobre. | 83 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1. Mecanismos de desinfección. Elaboración en conjunto con Axel Macías, pasante de arquitectura de la UNAM. | 6 |
| Figura 2 . Estrategia de trabajo | 21 |
| Figura 3. Crecimiento al tiempo 30 min al 10% de AMN en polvo..... | 23 |
| Figura 4. Crecimiento microbiano en el C1 al tiempo 360 min. | 23 |
| Figura 5. Crecimiento óptimo de <i>E.coli</i> en agar Endo | 25 |
| Figura 6. Crecimiento óptimo de <i>E.coli</i> en agar Cuenta Estándar..... | 25 |
| Figura 7 Crecimiento de <i>E.coli</i> , <i>Acinetobacter baumannii/calcoaceticus</i> (C1A y C1B), <i>Pseudomonas stutzeri</i> (C2 rugosa) y <i>Comamonas testosteroni/Pseudomonas alcaligenes</i> (C3 gris) en Agar Endo..... | 25 |
| Figura 8. Reto microbiano <i>E. coli</i> en agar Endo | 27 |
| Figura 9. Tira API 20 E de la cepa <i>Escherichia coli</i> ATCC 11229..... | 31 |
| Figura 10. Tinción de Gram de <i>Escherichia coli</i> ATCC 11229. Fotografía tomada con microscopio óptico campo claro Carl Zeiss. | 32 |
| Figura 11. Toma de muestra influente SHADE. | 33 |
| Figura 12.Toma de muestra efluente SHADE. | 33 |
| Figura 13. Humedal Artificial del bosque de San Juan de Aragón (SHADE). A) Toma de muestra influente. B) Toma de muestra efluente. Fuente: Luna Pabello..... | 33 |
| Figura 14. Diagrama PTARCA. Modificado de (González Urban, L. I y Rosete Vázquez, R., 1998)..... | 35 |
| Figura 15. Toma de muestra influente PTARCA. | 35 |
| Figura 16. Toma de muestra influente PTARCA. | 36 |
| Figura 17.Toma de muestra efluente PTARCA..... | 36 |
| Figura 18. Diagrama de preparación del inóculo <i>E. coli</i> 10 ² UFC/mL..... | 38 |
| Figura 19. Diagrama de preparación del inóculo <i>E. coli</i> 10 ³ UFC/mL..... | 39 |
| Figura 20. Diagrama de evaluación de la viabilidad de <i>E. coli</i> 10 ² UFC/mL en presencia de AMN..... | 41 |
| Figura 21. Diagrama de evaluación de la viabilidad <i>E. coli</i> 10 ³ UFC/mL en presencia de AMN. | 43 |

| | |
|---|----|
| Figura 22. Diagrama de evaluación del porcentaje de remoción de una columna empacada con AMN..... | 47 |
| Figura 23. Esquema columna empacada con AMN. (Castro Tapia, En proceso) | 48 |
| Figura 24. Curva de inactivación con SSI a 10^2 UFC/mL..... | 53 |
| Figura 25. Curva de inactivación con SSI a 10^3 UFC/mL | 54 |
| Figura 26. Curva de inactivación con materia orgánica en agua del SHADE a 10^2 UFC/mL..... | 56 |
| Figura 27. Curva de inactivación con materia orgánica en agua de la PTARCA a 10^2 UFC/mL..... | 57 |
| Figura 28. Curva de inactivación con materia orgánica en agua del SHADE a 10^3 UFC/mL..... | 59 |
| Figura 29. Curva de inactivación con materia orgánica en agua de la PTARCA a 10^3 UFC/mL..... | 60 |
| Figura 30. Gráfico de barras del porcentaje de desinfección en SSI..... | 62 |
| Figura 31. Curva de inactivación a diferente concentración de <i>E. coli</i> en SSI. | 63 |
| Figura 32. Cinética de desinfección de <i>E. coli</i> en SSI 10^2 UFC/mL y 10^3 UFC/mL.64 | |
| Figura 33. Curva de Inactivación a diferente DQO para 10^2 UFC/mL. | 66 |
| Figura 34. Gráfico de barras del porcentaje de desinfección a diferente DQO para <i>E. coli</i> 10^2 UFC/mL. | 67 |
| Figura 35. Cinética de desinfección a diferente valor de DQO para 10^2 UFC/mL durante tiempo 30 min. SSI control: sin AMN..... | 68 |
| Figura 36. Cinética de desinfección a diferente valor de DQO para 10^2 UFC/mL durante tiempo 60 min. SSI control: sin AMN..... | 69 |
| Figura 37. Cinética de desinfección para <i>E. coli</i> 10^2 UFC/mL a una DQO de 153 mgO ₂ /L. | 71 |
| Figura 38. Curva de inactivación a diferente DQO para 10^3 UFC/mL. SSI control: sin AMN | 72 |
| Figura 39. Gráfico de barras del porcentaje de desinfección a diferente DQO para <i>E. coli</i> 10^3 UFC/mL. SSI control: sin AMN | 72 |
| Figura 40. Cinética de desinfección a diferente valor de DQO para 10^3 UFC/mL hasta el tiempo 30 min. SSI control: sin AMN | 74 |

| | |
|---|-----|
| Figura 41. Cinética de desinfección a diferente DQO para 10^3 UFC/mL para tiempo 60 min. SSI control: sin AMN..... | 74 |
| Figura 42. Cinética de desinfección para <i>E. coli</i> 10^3 UFC/mL a una DQO de 153 mgO ₂ /L. | 76 |
| Figura 43. Interacción AMN con <i>E. coli</i> en presencia de materia orgánica. 1) Desprendimiento de iones metálicos del AMN. 2) Interacción del ion metálico con la materia orgánica. 3) Inhibición de la muerte celular. Elaboración en conjunto con Axel Macías, pasante de arquitectura de la UNAM. | 79 |
| Figura 44. Acoplamiento molecular de la proteína de membrana externa con dominio transmembranal (1QJP) de <i>E. coli</i> . Cu ²⁺ (esferas verdes) uniéndose a los aminoácidos: His, Asn, Arg, Asp, Thr. (Luna Pabello et al., 2023)..... | 81 |
| Figura 45. Resultados del puntaje de unión para el acoplamiento entre los aminoácidos de la membrana de <i>E. coli</i> y el Cu ²⁺ .(Luna Pabello et al., 2023)..... | 82 |
| Figura 46. Interacción AMN con <i>E. coli</i> . 1) Desprendimiento de iones metálicos del AMN. 2) Interacción del ion metálico con proteínas de la membrana celular. 3) Muerte celular. Elaboración en conjunto con Axel Macías, pasante de Arquitectura de la UNAM. | 82 |
| Figura 47. Gráfico de porcentaje de desinfección de columna empacada con AMN. | 84 |
| Figura 48. Distrito minero de Angangueo..... | 101 |
| Figura 49. Lote de AMN | 102 |
| Figura 50. AMN tamizado y lavado | 102 |
| Figura 51. MEB. Imagen electrónica 14. Fotografía tomada con microscopio electrónico de barrido JEOL JSM-5900-LV. | 103 |
| Figura 52. Espectro 41. Espectro generado con software Oxford Aztec 100 con microscopio electrónico..... | 103 |
| Figura 53. MEB. Espectro 44. Espectro generado con software Oxford Aztec 100 con microscopio electrónico de barrido JEOL JSM-5900-LV. | 103 |
| Figura 54. MEB. Espectro 45. Espectro generado con software Oxford Aztec 100 con microscopio electrónico de barrido JEOL JSM-5900-LV. | 103 |

| | |
|---|-----|
| Figura 55. MEB. Imagen electrónica 15. Fotografía tomada con microscopio electrónico de barrido JEOL JSM-5900-LV. | 104 |
| Figura 56. MEB. Espectro 54. Espectro generado con software Oxford Aztec 100 con microscopio electrónico de barrido JEOL JSM-5900-LV. | 104 |
| Figura 57. MEB. Mapeo de fluorescencia de Zn y Ti en la superficie del AMN. Imagen procesada por el software Oxford AZtec 100 con microscopio electrónico de barrido JEOL JSM-5900-LV. | 104 |
| Figura 58. Gráfico de espectroscopía de emisión atómica. Elaboración en colaboración con el M en Ing Amb Eduardo Vázquez Aguilar. | 106 |

ÍNDICE DE TABLAS

| | |
|---|----|
| Tabla 1. Resumen de la incidencia y epidemiología de <i>E. coli</i> patógena. | 19 |
| Tabla 2. Resultados a las horas de la selección de medio de cultivo. | 24 |
| Tabla 3. Soluciones neutralizantes. | 28 |
| Tabla 4. Resultados selección de solución neutralizante. | 29 |
| Tabla 5. Resultados cuantificación CF y CT del efluente e influente del filtro de arena de la PTARCA. | 49 |
| Tabla 6. Resultados cuantificación CF y CT del influente y efluente del SHADE. .. | 49 |
| Tabla 7. Resultados DQO del efluente e influente del filtro de arena de la PTARCA. | 50 |
| Tabla 8. Resultados DQO del influente y efluente del SHADE. | 50 |
| Tabla 9. Resultados viabilidad <i>E. coli</i> (10^2 UFC/mL) en presencia de AMN. | 52 |
| Tabla 10. Resultados viabilidad <i>E. coli</i> (10^3 UFC/mL) en presencia de AMN. | 54 |
| Tabla 11. Resultados efecto de la materia orgánica con <i>E. coli</i> (10^2 UFC/mL) en agua del SHADE. | 55 |
| Tabla 12. Resultados efecto de la materia orgánica con <i>E. coli</i> (10^2 UFC/mL) en agua del PTARCA. | 57 |
| Tabla 13. Resultados efecto de la materia orgánica con <i>E. coli</i> (10^3 UFC/mL) en agua del SHADE. | 58 |
| Tabla 14. Resultados efecto de la materia orgánica con <i>E. coli</i> (10^3 UFC/mL) en agua del PTARCA. | 60 |

| | |
|--|-----|
| Tabla 15. Resultados de la evaluación del porcentaje de desinfección de una columna empacada con AMN. | 61 |
| Tabla 16. Tabla comparativa 10^2 UFC/mL y 10^3 UFC/mL en SSI. | 65 |
| Tabla 17. Tabla comparativa de <i>E. coli</i> 10^2 UFC/mL al tiempo 30min y 60min. | 69 |
| Tabla 18. Tabla comparativa de <i>E. coli</i> 10^3 UFC/mL al tiempo 30 min y 60 min. .. | 75 |
| Tabla 19. Tabla comparativa de <i>E. coli</i> 10^3 UFC/mL y 10^2 UFC/mL al tiempo 60 min. | 77 |
| Tabla 20. Resultados espectroscopía de emisión atómica | 105 |
| Tabla 21. Curva de calibración DQO..... | 111 |

ABREVIATURAS

| | |
|----------------|--|
| AMN | Agregado Mineral Natural |
| ARTPBE | Agua Residual Tratada por Procesos Biológicos y Estéril |
| CF | Coliformes Fecales |
| CT | Coliformes Totales |
| CTA | Cystine Tryptic Agar |
| DQO | Demanda Química de Oxígeno |
| <i>E. coli</i> | <i>Escherichia coli</i> |
| ECAD | <i>Escherichia coli</i> enteroadherente difusa |
| ECAL | <i>Escherichia coli</i> enteroadherente localizada |
| ECEA | <i>Escherichia coli</i> enteroadherente |
| ECEAgg | <i>Escherichia coli</i> enteroagregativa |
| ECEH | <i>Escherichia coli</i> enterohemorrágica |
| ECEI | <i>Escherichia coli</i> enteroinvasiva |
| ECEP | <i>Escherichia coli</i> enteropatógena |
| ECET | <i>Escherichia coli</i> enterotoxigénica |
| ECTS | <i>Escherichia coli</i> productora de toxina Shiga |
| EEA | Espectroscopía de Emisión Atómica |
| MEB | Microscopía Electrónica de Barrido |
| MO | Materia Orgánica |
| NER | Reparación por escisión de nucleótidos |
| PTARCA | Planta de Tratamiento de Aguas Residuales Cerro del Agua |
| ROS | Especies Reactivas de Oxígeno |

| | |
|-------|---|
| SHADE | Sistema Humedal Artificial de Doble Espiral |
| SSI | Solución Salina Isotónica |
| THM | Trihalometanos |
| UFC | Unidades Formadoras de Colonias |

RESUMEN

Se realizó la evaluación del efecto desinfectante de un agregado mineral natural (AMN) sobre la bacteria *Escherichia coli* ATCC 11229 en ausencia y presencia de materia orgánica. Para ello, se determinaron los intervalos de los parámetros a utilizar, a través de la cuantificación de materia orgánica (mgO_2/L) y coliformes (UFC/mL), en agua proveniente de efluentes de tratamiento biológico mediante el método de Demanda Química de Oxígeno (DQO) colorimétrico a reflujos cerrados y por la técnica de cuenta en placa, respectivamente. Posteriormente, se evaluó la viabilidad de *E. coli* frente al AMN en Solución Salina Isotónica (SSI) estéril y en Agua Residual Tratada por Procesos Biológicos y Estéril (ARTPBE) conteniendo valores de DQO de $77 \text{ mgO}_2/\text{L}$ y de $153 \text{ mgO}_2/\text{L}$. Para ello, se empleó AMN de 2 mm de \varnothing en concentración de $1\text{g}/10\text{mL}$; en matraces 142 RPM; $35\pm 2^\circ\text{C}$; 10^2 UFC/mL y 10^3 UFC/mL. Para la evaluación de la columna empacada con diferentes tamaños de partícula de AMN, se empleó 1L del ARTPBE con un valor de $150 \text{ mgO}_2/\text{L}$ de DQO conteniendo 10^2 UFC/mL, con un tiempo de contacto de 240 min. Para la cuantificación de microorganismos, en el experimento de matraces y en la columna empacada, se tomaron muestras durante intervalos predeterminados que fueron procesadas mediante la técnica de extendido en placa usando agar Endo

Los resultados en matraces evidenciaron que en presencia del AMN ocurre, a partir de 20 min, una disminución de un orden de magnitud en el crecimiento microbiano. En el caso de la columna empacada, la concentración de microorganismos no alcanzó a disminuir un orden de magnitud con un tiempo de contacto de 240 min. Lo anterior evidencia que el AMN funciona como agente desinfectante debido al efecto químico y mecánico que presenta. La rapidez y el porcentaje de desinfección disminuye tanto al aumentar la concentración de materia orgánica como de microorganismos. Ambas respuestas están relacionadas con el tiempo de contacto, por lo que para obtener calidad de agua tratada con valores de coliformes aceptables por la NOM-003-SEMARNAT-1997 se deben tener en cuenta esas variables.

1 INTRODUCCIÓN

El agua es un recurso natural importante para toda forma de vida, representa tres cuartas partes del planeta, de las cuales el 97.5% se encuentra en océanos y mares, constituyendo agua salada, el 2.5% restante es agua dulce. Del total de agua dulce en el mundo, solo el 0.3% es asequible pues se localiza en ríos y lagos (INEGI, 2023).

A pesar de ser considerado un recurso natural renovable puesto que es obtenida a través de procesos naturales tales como el ciclo hidrológico donde es depositada en acuíferos, la sobreexplotación del agua para usos antropogénicos ha provocado que la rapidez de restauración sea menor al consumo del recurso, por lo que el agua también es considerada como un recurso no renovable (Sistema Nacional de Información del Agua, 2023).

Para el aprovechamiento de este recurso se ha propuesto la reutilización del agua, principalmente el agua residual tratada, ya que esta es un importante recurso hidráulico en áreas densamente pobladas que carecen de agua dulce (Rojas Valencia et al., 2004). Esta puede ser reutilizada para el riego de cultivos vegetales y jardines, así como el llenado de lagos recreativos.

El agua residual adquiere diversos componentes durante su uso, tales como proteínas, lípidos, agentes de limpieza, compuestos nitrogenados y excretas líquidas y sólidas; estas últimas ricas en diversos microorganismos entre los que se encuentran bacterias, huevos de helminto y protozoos (Luna Pabello y Vázquez Aguilar, 2022). Por lo que la reutilización de esta agua involucra procesos que disminuyan la carga microbiológica y los demás componentes mencionados.

En países en vías de desarrollo como México se generan aguas residuales con alto contenido biológico importante, incluyendo materia orgánica disuelta y microorganismos entéricos patógenos. La falta de tratamiento aguas residuales pueden enfermar a la población debido al manejo inadecuado de dichas aguas y esto todavía resulta en millones de muertes anualmente (Aguilar et al., 2006; Madigan et al., 2015b; Pepper et al., 2015a). Por lo que la búsqueda de alternativas asequibles en cuanto a métodos de desinfección continua y en términos de agua es

uno de los más rebuscados ya que la crisis de agua a nivel mundial es inminente, siendo un tema de vital importancia el aprovechamiento de este recurso.

A pesar de que los sistemas de tratamiento de aguas residuales usualmente cuentan con métodos de desinfección mediante cloro, ozono y luz ultravioleta (Orta De Velásquez et al., 2008), se siguen buscando alternativas que sean más eficientes, económicas y que no generen subproductos tóxicos. Entre estas alternativas se encuentran los metales con actividad microbicida tales como cobre, plata, zinc, hierro, entre otros (Arzate Quintana, 2016; Chedala et al., 2022; Vasiliev et al., 2023).

Al ser México un país con gran actividad minera y mayor exportador de plata del mundo (Morales, 2021), existen cantidades importantes de terreros o materiales pétreos asociados al proceso de acercamiento de las excavaciones hacia la veta de plata. Los terreros son agregados minerales naturales (AMN) que no tienen ningún valor comercial debido a que contienen muy poca cantidad de minerales por lo que carecen de un valor económico para la industria. Existe evidencia de que los AMN pueden inducir la pérdida significativa de la carga microbiana presente en agua isotónica (Miranda Ríos et al., 2011; Magaña López, 2018). Sin embargo, se desconoce el efecto desinfectante que tenga sobre microorganismos presentes en agua con materia orgánica y, dado el caso, su potencial para ser usados en filtros desinfectantes lentos para desinfectar agua con baja carga bacteriana, de forma que el agua pueda llegar a tener calidad apta para ser reutilizada en servicios al público conforme a la NOM-003-SEMARNAT-1997, que establece los límites máximos permisibles de contaminantes para las aguas residuales tratadas que se reúsen en servicios al público.

Es importante recordar que el proceso de desinfección consiste en la inactivación total o parcial de microorganismos causantes de enfermedades derivado de la exposición de un agente desinfectante mediante un proceso físico o químico (Metcalf & Eddy I AECOM, 2014c). La evaluación del efecto desinfectante consiste en el enfrentamiento del posible agente desinfectante, en este caso el AMN, con un

determinado microorganismo a evaluar, para el presente estudio se eligió a *Escherichia coli*.

Escherichia coli es una bacteria perteneciente al grupo de los coliformes fecales (CF) y totales (CT) ya que es microbiota del colon. Es un microorganismo indicador de la calidad del agua, por lo que su presencia advierte contaminación fecal y con ello la posible existencia de microorganismos patógenos (APHA et al., 2017b; Metcalf & Eddy I AECOM, 2014a). Asimismo, su presencia se encuentra regulada en la normatividad nacional vigente aplicable para la descarga y reúso de aguas residuales tratadas.

2 ANTECEDENTES

2.1 FUNDAMENTOS SOBRE DESINFECCIÓN

El proceso de desinfección se define como la inactivación o destrucción parcial de organismos causantes de enfermedades, derivado de la exposición de agentes químicos o procesos físicos (Metcalf & Eddy I AECOM, 2014c). Un agente desinfectante es una sustancia que se utiliza para llevar a cabo este proceso y es aplicado únicamente sobre objetos inanimados.

La desinfección es comúnmente la etapa final en el tratamiento de aguas residuales, paso importante para reducir el riesgo de transmisión de enfermedades infecciosas a través del agua (Arana et al., 2000), causadas por microorganismos clasificados en cuatro categorías: bacterias, virus, protozoarios y helmintos; muchos de ellos relacionados a una enfermedades con sintomatología específica.

La desinfección primaria consiste en la introducción de suficiente desinfectante al sistema para que este ejerza su acción, la desinfección secundaria radica en añadir la cantidad adecuada de la sustancia con el fin de mantener los niveles de desinfección en el sistema de distribución (Madigan et al., 2015a).

Los desinfectantes ejercen su acción a través de uno o varios niveles celulares (Figura 1), esto quiere decir que pueden perjudicar a la célula desde una o varias dianas, por ejemplo: la pared de peptidoglicano, la membrana citoplasmática, la membrana externa, proteínas estructurales, ácidos nucleicos, grupos tiol de enzimas, la superficie de esporas bacterianas, etc. Para que un desinfectante sea efectivo es indispensable que este alcance a su/sus diana e interactúe con ellas. (Bitton, 2011; Rusell, 1998)

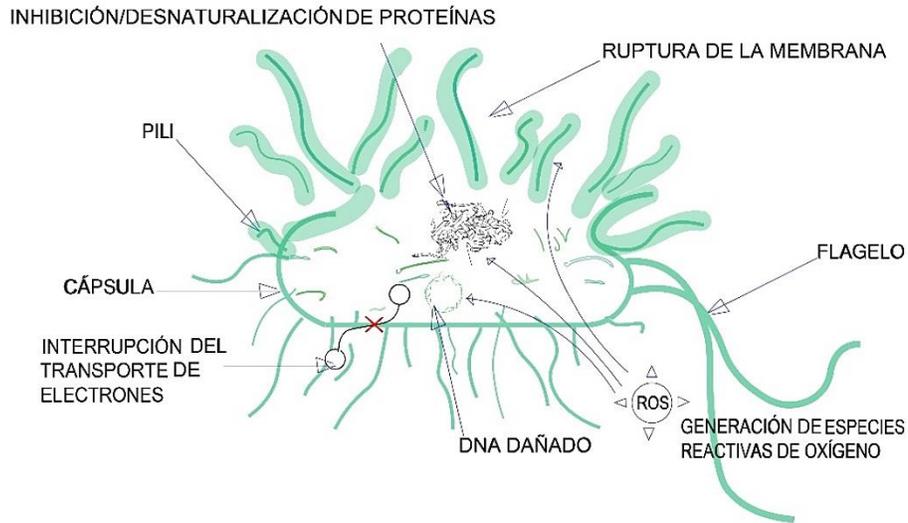


Figura 1. Mecanismos de desinfección. Elaboración en conjunto con Axel Macías, pasante de arquitectura de la UNAM.

2.1.1 Características ideales de los desinfectantes

Es importante considerar las características ideales de los desinfectantes usados en aguas residuales como punto de comparación entre los tipos de agentes desinfectantes que van surgiendo. Un desinfectante ideal posee un amplio rango de características: estabilidad en almacenamiento, tóxico para microorganismos, pero inocuo para humanos, que la concentración a utilizar sea medible y que este sea seguro de manejar y aplicar (Metcalf & Eddy I AECOM, 2014c).

2.1.2 Métodos de desinfección

Los métodos de desinfección se clasifican en tres categorías de acuerdo a su naturaleza: físicos, químicos y sistemas naturales (Acher et al., 1997; Curiel Esparza et al., 2014). El criterio para la elección del método depende de los parámetros iniciales del agua, factores económicos, ecológicos y el uso que se le quiera dar al agua.

Los métodos físicos se basan en la remoción mecánica de los microorganismos del agua, ya sea a través de la retención mecánica de estos por medio de un filtro o mediante radiaciones. Estos procesos comúnmente se usan de manera conjunta con otros métodos de desinfección (Acher et al., 1997).

Los métodos químicos se basan en el potencial de oxidación que posea un agente químico, el cual oxida y daña la pared o membrana celular de los microorganismos llevándolos hacia su muerte. Los productos químicos más usados para la desinfección de aguas residuales son: cloro (Cl_2), hipocloritos (ClO^-), cloramina (RNHCl), dióxido de cloro (ClO_2), bromo (Br_2) y ozono (O_3) (Acher et al., 1997).

La toxicidad de los subproductos de los desinfectantes químicos como las cloraminas, los trihalometanos (THM), entre otros, ha llevado a la implementación de nuevos métodos de desinfección amigables con el medio ambiente y salud, tales como las reacciones fotoquímicas inducidas por luz natural, los estanques de maduración y los humedales artificiales. Estos sistemas tienen potencial para eliminar contaminantes emergentes así como remover los parámetros convencionales de la calidad del agua (Ávila et al., 2013; Curiel Esparza et al., 2014).

Los métodos más comúnmente utilizados para la desinfección de aguas residuales son: cloración, radiación UV, ozonización, filtración de membrana y sistemas naturales (Curiel Esparza et al., 2014).

Dentro de los métodos químicos:

a) Cloración

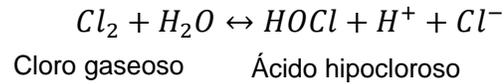
La cloración se puede añadir en forma gaseosa, hipoclorito de sodio o dióxido de cloro.

El cloro en estado gaseoso (Cl_2) es añadido al agua, el cual se hidroliza (Ec.1) y, posteriormente el producto (ácido hipocloroso) se disocia al ion hipoclorito (Ec.2), este último se define como el cloro disponible y es el principal agente en la desinfección.

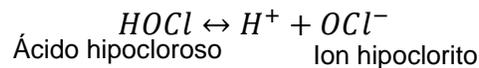
El ion hipoclorito se combina con amonio dando como resultado cloraminas (Ec.3), las cuales son tóxicas para el ser humano y la formación de estas últimas depende de factores como pH, concentración de cloro y temperatura (Bitton, 2011; Pepper et al., 2015c); estas también poseen efectos desinfectante pero en menor

proporción. La efectividad de este método está influenciada por el pH del agua y la cantidad de amonio.

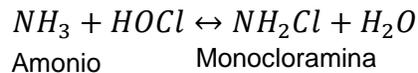
Ecuación 1. Hidrolización del cloro gaseoso.



Ecuación 2. Disociación del ácido hipocloroso.



Ecuación 3. Formación de cloraminas.



Otros subproductos que se forman son los THM, ácidos haloacéticos (HAAs), haloacetónitrilos y halocetonas, esto debido a la combinación del ión hipoclorito con la materia orgánica presente en el agua.

El THM que se localiza en el agua tratada por cloración es el cloroformo, este es el más abundante y el principal subproducto que se encuentra en el agua clorada. Los THM pueden incorporarse al cuerpo humano por diversas vías: ingestión de agua del grifo, inhalación de los THM evaporados y absorción dérmica, por lo que independientemente del uso que se le dé al agua la exposición a estos subproductos es continua. Varios estudios epidemiológicos han indicado que existe una posible conexión entre la exposición prolongada a subproductos de la cloración y un mayor riesgo de cáncer, así como un posible efecto negativo en el sistema reproductivo (Alegre Calvo, 2021).

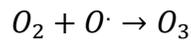
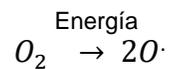
La cloración como método desinfectante oxida la pared o membrana celular directamente provocando un cambio en la permeabilidad de la misma por lo que los constituyentes interiores de la célula salen al exterior. De igual manera provoca

alteraciones del protoplasma, inhibe actividad enzimática y daña el ADN y ARN (Metcalf & Eddy I AECOM, 2014c).

b) Ozonización

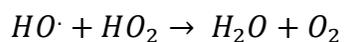
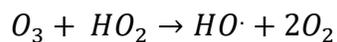
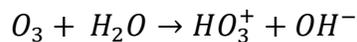
El ozono se produce (Ec 4) cuando las moléculas de oxígeno (O_2) son disociadas por medio de una fuente de energía produciendo radicales de oxígeno que se unen a una molécula de oxígeno para formar ozono (O_3), un gas inestable, (EPA, 1999) inoloro y azul a temperatura ambiente.

Ecuación 4. Reacciones de formación del ozono.



El mecanismo de desinfección se basa principalmente en las reacciones con radicales libres, subproductos de la descomposición del ozono (Ec5). Cuando el ozono se descompone en agua, los radicales libres formados tienen gran capacidad de oxidación, estos desempeñan un papel activo en el proceso de desinfección ocasionando daño a diferentes niveles celulares, por ejemplo; oxidan la pared celular y/o membrana provocando la salida de los componentes celulares, provocan deterioro los ácidos nucleicos (purinas y pirimidinas) y ocasionan la rotura de los enlaces nitrógeno carbono que conducen a la despolimerización de proteínas (Metcalf & Eddy I AECOM, 2014c).

Ecuación 5 Reacciones de descomposición del ozono



A pesar de que el ozono destruye el precursor del THM ya que oxida la materia orgánica, genera otros subproductos dependiendo de la presencia de bromuro, en

la ausencia de este se generan: aldehídos, aldo- ácidos y ceto-ácidos, entre otros ácidos; mismos que pueden ser biodegradados fácilmente. Los residuos de ozono pueden ser mutagénicos y carcinogénicos para la vida acuática. La formación de intermediarios tóxicos depende de la concentración de ozono, tiempo de contacto y naturaleza de los precursores (materia orgánica) presentes en el agua (Metcalf & Eddy I AECOM, 2014c).

c) Metales

A pesar de no ser un método de desinfección convencional en aguas residuales se hará mención dada la naturaleza del agente desinfectante a evaluar en esta tesis (AMN) ya que presenta gran variedad de metales en trazas.

Los metales como agentes desinfectantes principalmente se usaban en contenedores y dispositivos de filtración, así como sistemas electrolíticos. Estos presentan actividad desinfectante contra una amplia gama de microorganismos a bajas concentraciones (Landeem et al., 1989; Yahya et al., 1990).

Su acción como agente desinfectante radica en la liberación de iones que interactúan con los componentes celulares, principalmente con proteínas y ácidos nucleicos (Davies y Etris, 1997).

Los más conocidos como agentes desinfectantes son la plata y el cobre, solos y en combinación; actualmente la combinación e ionización de plata y cobre se utiliza para desinfectar el agua de piscinas, hospitales, industrias y para el consumo humano.

Plata (Ag)

El uso de la plata como agente desinfectante es clave en México ya que es un productor importante, por lo que los comerciantes de este metal buscan nuevos usos que les permitan ampliar su mercado (Aguilar et al., 2006).

Los cationes de plata presentan deficiencia electrónica por lo que son atraídos por las cargas negativas de la superficie celular generando diversas reacciones con su poder oxidativo; esto es posible ya que el oxígeno atómico es adsorbido en la

superficie del metal embonando perfectamente en los agujeros octaédricos. El oxígeno en la superficie de la plata expuesto en medio acuoso reacciona fácilmente con pares sulfhidrilo (-SH) de proteínas presentes en la membrana externa de bacterias, reemplazando los átomos de hidrógeno formando un enlace R-S-S-R, bloqueando la transferencia de electrones y la respiración celular, ocasionando la muerte del microorganismo. De igual manera ocurre la reacción con grupos carboxilos (-COOH) y aminos (-NH₂) de enzimas desencadenando su inactividad y con ello muerte celular (Davies y Etris, 1997; Silva Martínez et al., 2002).

La plata intracelularmente forma complejos insolubles con el ADN y ARN, lo que ocasiona la interrupción del metabolismo y reproducción, provocando la muerte del microorganismo. Aunado a estos daños, la plata tiende a provocar cambios estructurales y de permeabilidad a nivel membrana debido a la atracción y unión con la misma, perturbando el intercambio de material entre la célula y su entorno (Miranda Ríos et al., 2011).

Cobre (Cu)

El cobre tiene una amplia presencia en la actividad humana. Sus propiedades antimicrobianas eran conocidas desde civilizaciones antiguas al fabricar vasijas para preservar agua y alimentos, como también en la fabricación de instrumentos quirúrgicos y en la curación de heridas. (Prado et al., 2012)

Los iones de cobre, cargados positivamente forman enlaces electrostáticos con sitios de la membrana celular cargados negativamente, resultando en un debilitamiento de la misma permitiendo el intercambio celular descontrolado con su entorno (Silva Martínez et al., 2002).

Los iones de cobre interfieren inicialmente con la función de la membrana celular afectando su permeabilidad y modificando, al igual que la plata, las proteínas de superficie ricas en grupos amino (-NH₂), carboxilo (-COOH) y sulfhidrilo (-SH). A nivel del citoplasma alteran la síntesis proteica ya que al tener mayor afinidad por ellas, sustituyen iones esenciales para el metabolismo bacteriano como el zinc y el hierro, inhibiendo la formación de proteínas y/o provocando la síntesis de proteínas

disfuncionales, alterando así la actividad de enzimas esenciales para el metabolismo bacteriano ocasionando muerte celular (Magaña López y Luna Pabello, 2018; Prado et al., 2012).

También se considera que el cobre facilita la hidrólisis o el desplazamiento de reacciones nucleofílicas en cadenas de péptidos o ácidos nucleicos. Asimismo, el cobre es capaz de quelatarse con grupos fosfato resultando en posibles rompimientos de enlaces dobles (Silva Martínez et al., 2002)

Dentro de los métodos físicos:

d) Radiación UV

Se ha demostrado que la radiación UV es un agente desinfectante efectivo contra bacterias, protozoarios y virus, además de que no contribuye a la formación de subproductos tóxicos.

El espectro de radiación UV es de 100-400 nm, dentro de este rango el poder germicida radica de 220 a 320 nm correspondiente a la porción UV-C, siendo más efectivo de 255 a 265 nm.

La radiación UV se produce al golpear un arco eléctrico entre dos electrodos en lámparas que contienen mercurio líquido, así como otras mezclas de gases. La energía generada por la excitación del mercurio líquido hace que este se vaporice, en su forma gaseosa excita los electrones de las moléculas en las lámparas, produciendo fotones de luz ultravioleta.

A nivel celular, la radiación UV afecta el ADN formando dímeros de timina. De igual forma se pueden formar dímeros de citosina y de citosina-timina. La exposición a radiación UV también puede generar daños más graves como romper cadenas ADN, entrecruzar el ADN consigo mismo y entrecruzar ADN con proteínas. En general se debe generar un número significativo de enlaces u otro daño para ser un desinfectante eficaz (Metcalf & Eddy I AECOM, 2014c)

A pesar de los mecanismos anteriormente presentados, las bacterias sobreviven a la radiación UV pues han evolucionado generando un método de tolerancia al daño

a nivel ADN y por lo tanto tolerancia a este método desinfectante, poseen mecanismos de reparación: fotorreactivación, por escisión de nucleótidos (NER) y por recombinación (Rincón y Pulgarin, 2004). Una vez que los mecanismos de reparación entran en acción, el agua previamente descontaminada vuelve a tener crecimiento microbiano (Chatzisyneon et al., 2011).

2.1.3 Factores que afectan la desinfección

El proceso de desinfección de aguas residuales se ve afectado por diversos factores, como la temperatura, que puede perjudicar la tasa de reacciones químicas de los desinfectantes; el pH, que influye en la ionización del desinfectante y viabilidad del microorganismo; la turbidez y los compuestos inorgánicos y orgánicos, que aumentan la resistencia de los microorganismos a los desinfectantes ya que permiten la asociación de estos a las partículas, disminuyendo el área de contacto entre el biocida y la célula, lo que los protege de la desinfección en comparación con las bacterias suspendidas (Bitton, 2011; Pepper et al., 2015c; Sobsey, 1989). Por lo que el principal factor que afecta la desinfección radica en la calidad del agua que se desea desinfectar, por ello a través de ciertos parámetros es importante realizar una caracterización previa del agua a tratar.

2.1.4 Cuantificación de materia orgánica

Los principales constituyentes del agua residual doméstica, industrial o municipal son heces, orina, agua de ducha/baño, desechos de alimentos, productos de mantenimiento personal y del hogar, junto con una amplia variedad de otros compuestos inorgánicos y materia orgánica. (Metcalf & Eddy I AECOM, 2014a)

La concentración de materia orgánica en aguas domésticas determina el grado de tratamiento biológico requerido. Se utilizan tres pruebas para evaluar la concentración de materia orgánica: demanda bioquímica de oxígeno (DBO), cuantifica el carbono biológicamente utilizable; demanda química de oxígeno (DQO), cuantifica al carbono químicamente oxidable; y carbono orgánico total (COT), que determina la concentración de todas las formas del carbono.

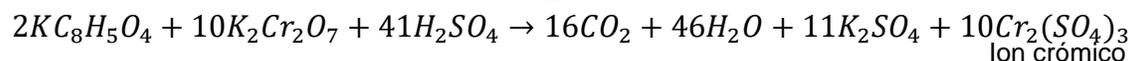
La demanda química de oxígeno se define como la cantidad de oxígeno necesario para oxidar el carbono orgánico completamente a CO_2 y H_2O . La DQO (Ec.6) se

mide por oxidación con dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$) en presencia de ácido sulfúrico y plata (catalizador de la reacción). La cantidad de oxidante consumido se expresa en términos de su equivalencia de oxígeno, por esta razón las unidades son en miligramos de oxígeno por litro. En general, 1 g de carbohidrato o 1 g de proteína equivale aproximadamente a 1 g de DQO. (Pepper et al., 2015c). Esta técnica permite determinar de manera aproximada la concentración de materia orgánica presente en el agua, la cual sirve como un indicador de contaminación.

Los compuestos inorgánicos presentes en la muestra pueden ser oxidados siendo un interferente en esta metodología, sin embargo, en la mayoría de los casos los compuestos orgánicos son los predominantes a oxidación en esta reacción (APHA et al., 2017a).

Ecuación 6. Reacción DQO

150°C 2hrs



Donde:

$2KC_8H_5O_4 =$ *biftalato de potasio (materia orgánica)*

$10K_2Cr_2O_7 =$ *ion dicromato (agente oxidante)*

$10Cr_2(SO_4)_3 =$ *ion crómico*

2.1.5 Cinética de la desinfección

Considerando que al exponer a una población microbiana ante un agente desinfectante el fenómeno de desinfección no tiene un efecto inmediato pero si gradual, se observa que la muerte de los microorganismos, al igual que su crecimiento, tiene un comportamiento exponencial o logarítmico, lo cual quiere decir que la población se reduce en niveles iguales a intervalos constantes. El número de células que mueren en cada intervalo de tiempo es una fracción del número de sobrevivientes; con esto en consideración, en 1908 Chick descubre la relación directa entre el número de bacterias sobrevivientes y el tiempo de exposición al

tratamiento con un modelo matemático. (Chick, 1908; Echeverri Prieto et al., 2007; Prescott et al., 2004b).

Actualmente el modelo matemático es de la siguiente manera:

Ecuación 7. Cinética de desinfección

$$\frac{Nt}{N0} = e^{-kt}$$

$$\ln \frac{Nt}{N0} = -kt$$

Donde

$N0$ = número de microorganismos en tiempo 0

Nt = número de microorganismos a un tiempo específico

k = constante de decaimiento o tasa de inactivación $\left(\frac{1}{t}\right)$

t = tiempo

2.2 AGREGADO MINERAL NATURAL

El Agregado Mineral Natural (AMN) es un material que se obtiene durante el proceso de extracción de metales, estos son terreros con poca cantidad de minerales por lo que carecen de un valor económico para la industria. El AMN posee trazas de diversos metales debido a la naturaleza de su obtención.

Los agregados minerales pueden ser empleados en la desinfección de aguas residuales ya que aplicados directamente promueven la inactivación, remoción e incluso destrucción de los organismos presentes en el agua, la capacidad desinfectante radica en la presencia de las trazas metálicas. Este material se ha empleado como lecho de un sistema de filtración removiendo y destruyendo organismos del caudal tales como huevos de helminto y bacterias, por esta razón el AMN es una tecnología innovadora que permite la sustitución de filtros promoviendo con esto la disminución de problemas ambientales y de costos, además presentan

ventajas como la fácil disponibilidad, obtención, manejo y transporte (Magaña López y Luna Pabello, 2018; Miranda Ríos y Luna Pabello, 2005).

2.3 *Escherichia coli*

2.3.1 *Escherichia coli* como microorganismo indicador

Las bacterias enteropatógenas típicamente causan enfermedades gastrointestinales como diarreas, fiebre tifoidea, cólera y disenteria. Estos organismos altamente infecciosos son responsables de miles de muertes cada año en áreas con poca higiene, especialmente en los trópicos (Metcalf & Eddy I AECOM, 2014a).

Uno de los principales indicadores de la idoneidad del agua para uso doméstico, industrial u otros usos es el grupo de coliformes. Se ha establecido la importancia de la concentración de coliformes totales y coliformes termotolerantes o coliformes fecales (CF) en particular, la de *Escherichia coli* como criterio de calidad del agua (APHA et al., 2017b).

Las normas: NOM-127-SSA1-2021, NOM-001-SEMARNAT-2021, NOM-003-SEMARNAT-1997, que establecen los límites permisibles de agua para su uso y consumo humano, para las descargas de aguas residuales en cuerpos receptores propiedad de la nación y para las aguas residuales tratadas que se reúsen en servicios al público respectivamente. Estas normas tienen en común especificaciones sanitarias microbiológicas particulares para el dominio bacteria, relacionado con la búsqueda y cuantificación coliformes fecales y/o *Escherichia coli*, estos como indicadores de contaminación fecal (Pepper et al., 2015b) ya que se encuentra normalmente en el intestino distal del ser humano y de animales de sangre caliente (WHO, 2018).

La presencia de *E. coli* en el agua potable se toma como un indicador de que existe un mayor riesgo, en comparación con la presencia de coliformes totales (CT), indicando que los patógenos causantes de enfermedades también podrían estar presentes, ya que nos advierte contaminación de origen fecal (Metcalf & Eddy I AECOM, 2014a).

2.3.2 Generalidades *Escherichia coli*

Escherichia coli es un microorganismo anaerobio facultativo perteneciente al dominio Bacteria, al filo Proteobacteria y familia Enterobacteriaceae, como esta lo indica radica en el intestino.

Se caracteriza por ser un bacilo (forma de bastón) Gram negativo, por lo que su citoplasma está encerrado por una membrana interna, un espacio periplásmico, una capa de peptidoglicano, una membrana externa y, finalmente, exopolisacárido. La mayoría de las cepas producen dos tipos de apéndices, flagelos para la motilidad y fimbrias (pili) para la adhesión celular. Su genoma consta de un solo cromosoma circular que generalmente se complementa con múltiples plásmidos. No hay orgánulos intracelulares y los procesos respiratorios ocurren en la membrana celular (Hawley, 2022).

Degradan azúcares mediante la ruta de Embden-Meyerhof también conocida como glucolisis, y escinden el ácido pirúvico para producir ácido fórmico. *Escherichia coli* produce grandes cantidades de gas durante la fermentación del azúcar ya que posee el complejo hidrogenoliasa fórmica (complejo de dos enzimas) que degrada el ácido fórmico a H₂ y CO₂ por lo que presenta fermentación ácido fórmica. Esta bacteria da origen a etanol y a una mezcla compleja de ácidos, en particular el ácido acético, láctico, succínico y fórmico, en consecuencia posee además de una fermentación ácido fórmica, una fermentación ácido mixta (Prescott et al., 2004c, 2004d).

2.3.3 Importancia *Escherichia coli* en el sector salud

La mayoría de las cepas de *Escherichia coli* son habituales de la microbiota del colon humano y no son patógenas. Sin embargo, algunas cepas son potenciales patógenos alimentarios (a veces transmitidos por el agua) debido a los factores de virulencia que presentan, siendo productoras de potentes enterotoxinas, portadoras de adhesinas y/o cápsula. Estas cepas se clasifican de acuerdo al tipo de toxina que sintetizan o al síndrome patológico que estas causan (Hawley, 2022; Madigan et al., 2015b).

E. coli patógena puede causar enfermedad diarreica por varios mecanismos. Se clasifica en seis patotipos: *E. coli* enteropatógena (ECEP), enterotoxigénica (ECET), enteroinvasiva (ECEI), enterohemorrágica (ECEH), productora de toxina Shiga (ECTS), enteroagregativa (ECEAgg) y *E. coli* enteroadherente (ECEA) con dos variantes, de adherencia difusa (ECAD) y localizada (ECAL) (Águila Sánchez et al., 2020).

Los patotipos ECET y ECEA están entre los agentes causales más importantes de diarrea e infecciones, principalmente en niños de regiones de ingresos bajos e intermedios, incluyendo México (Ríos Muñiz et al., 2019). De ahí la importancia de contribuir en la desinfección de alimentos y agua evitando la propagación de bacterias patógenas.

Tabla 1. Resumen de la incidencia y epidemiología de *E. coli* patógena.

| Patógeno de <i>E. coli</i> | Sitio de infección | Enfermedad asociada | Incidencia | Población objetivo | Ruta de transmisión significativa |
|----------------------------|--------------------|---|--|--|--|
| ECET | Intestino delgado | Diarrea del viajero Diarrea infantil crónica (en países en desarrollo) | Prevalencia 1.4% en pacientes con diarrea; 79,420 casos anuales de diarrea del viajero (EE.UU) | Viajeros internacionales y niños en países en desarrollo | Comida (productos crudos y vendedores ambulantes) y agua |
| ECEP | Intestino delgado | Diarrea infantil | Cientos de miles de muertos en todo el mundo | Niños en países en desarrollo | Agua, fórmula infantil |
| ECEH | Intestino grueso | Colitis hemorrágica Síndrome urémico hemolítico | 110,000 casos y 61 muertes anualmente en EE.UU | Todas las edades | Comida (res), contacto persona-persona, agua y animales |
| ECEI | Intestino grueso | Disenteria | Baja en países desarrollados | Niños en países en desarrollo | Agua (raro), contacto persona-persona |
| ECEAgg | Intestino | Diarrea acuosa con o sin sangre, aguda y crónica | En países desarrollados y en desarrollo | Niños, adultos y viajeros | Agua, comida, contacto persona-persona |

Modificado de Pepper et al., 2015b.

3 OBJETIVOS Y ESTRATEGIA DE TRABAJO

3.1 OBJETIVOS:

3.1.1 Objetivo general

Evaluar el efecto desinfectante de un agregado mineral natural sobre *Escherichia coli* cepa ATCC 11229 en presencia de materia orgánica.

3.1.2 Objetivos particulares

- Evaluar la viabilidad de *E. coli* cepa ATCC 11229, a diferentes tiempos de contacto, usando concentraciones predeterminadas frente a partículas de 2 mm de diámetro (\varnothing) de AMN 1g/10mL en solución salina isotónica, bajo condiciones controladas de laboratorio.
- Evaluar la viabilidad de *E. coli* cepa ATCC 11229 a diferentes tiempos de contacto, usando concentraciones predeterminadas frente a partículas de 2 mm de diámetro (\varnothing) de AMN 1g/10mL en agua residual tratada por procesos biológicos y estéril conteniendo diferentes concentraciones de materia orgánica, bajo condiciones controladas de laboratorio.
- Evaluar la viabilidad de *E. coli* cepa ATCC 11229 inoculada en agua residual tratada por procesos biológicos y estéril usando concentraciones predeterminadas, expuestas al AMN contenido en una columna empacada, bajo condiciones controladas de laboratorio.
-

3.2 ESTRATEGIA DE TRABAJO

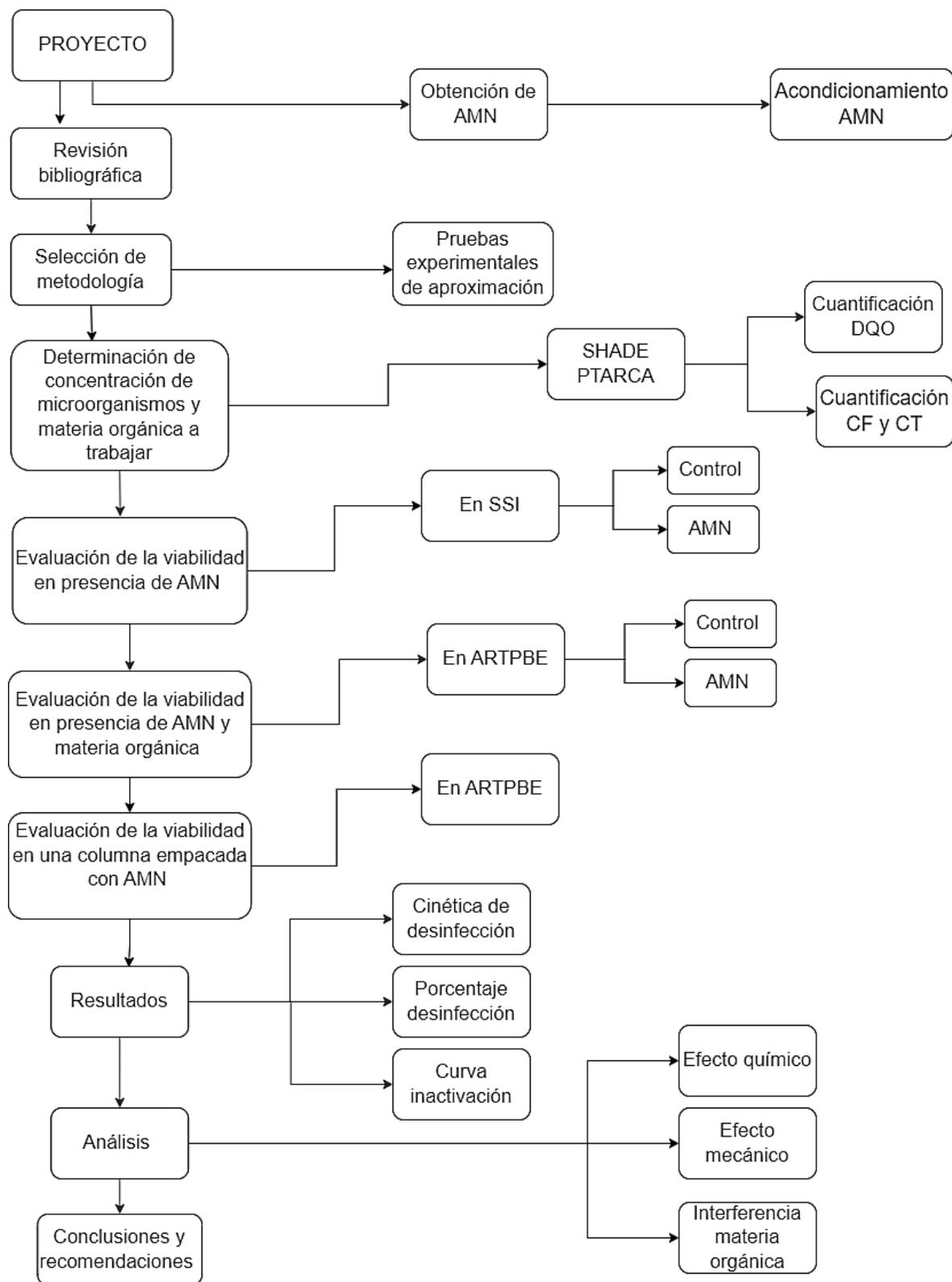


Figura 2 . Estrategia de trabajo

4 PRUEBAS EXPERIMENTALES DE APROXIMACIÓN

Se realizó una prueba partiendo de la cepa de *E. coli* ATCC 11229 en una concentración del 0.5 McFarland, esta se obtuvo inoculando con ayuda de un asa bacteriológica el microorganismo proveniente de un cultivo en agar Muller Hinton de 18-24 horas a $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ hasta llegar a la turbidez correspondiente con ayuda de la tarjeta de Wickerham en un tubo de 16x150 mm con tapón de rosca con 9 mL de SSI al 0.85% estéril. Agitado con vortex se tomaron 0.1 mL y se colocaron en un matraz Erlenmeyer de 2 L con 1 L de medio de cultivo M9, tras su homogenización, con una probeta de 100 mL estéril se trasvasaron 100 mL en matraces bafleados estériles de 200 mL con las concentraciones de AMN en polvo: 0.05 g/mL, 0.1 g/mL, 0.25 g/mL, 0.75 g/mL, 0.50 g/mL y 1 g/mL. Se evaluó la viabilidad a diferentes tiempos de incubación (0 min, 30 min, 60 min, 90 min, 180 min, 360 min, 540 min, 720 min y 1440 min) con agitación a 142 RPM. La agitación elegida permite el movimiento fluido en toda la superficie del matraz.

Al final de cada tiempo se tomó una alícuota de 0.1 mL que se colocó en un volumen de un 1 mL de SSI al 0.85% estéril en viales de 5 mL, de los cuales se tomó 1 μL que se inoculó al centro de una caja Petri Muller Hinton y se estrió radialmente. Posteriormente se incubaron las cajas a $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ y tras 24 horas se realizó el conteo de UFC.

Se utilizaron los siguientes controles: C1, medio con AMN y sin bacterias, para asegurar que el AMN no tenga microorganismos; C2, medio con *E. coli* sin AMN para determinar el crecimiento normal; y C3, medio sin bacterias y sin AMN como control de esterilidad.

Los resultados arrojaron la deficiencia del método: el mal diseño de las diluciones y el estriado, ya que no fue posible la determinación de las UFC (Figura 3). Como se muestra en la Figura 4, la presencia de microorganismos distintos en el AMN no permitió la diferenciación entre estos y *E. coli*.

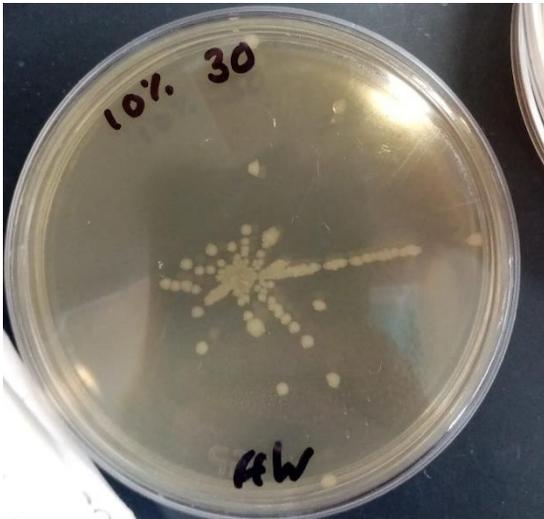


Figura 3. Crecimiento al tiempo 30 min al 10% de AMN en polvo

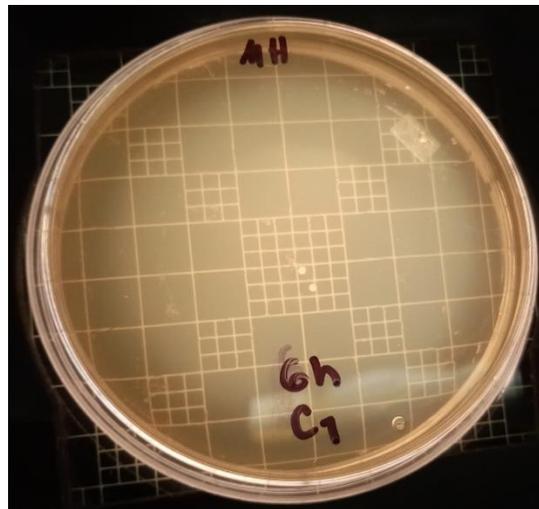


Figura 4. Crecimiento microbiano en el C1 al tiempo 360 min.

4.1 IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS EN EL AGREGADO MINERAL

Se aislaron tres bacterias crecidas en el medio Mueller Hinton provenientes del AMN. Una vez reconocidas las características de crecimiento y tinción de Gram (negativos) se identificaron mediante el sistema API 20 NE: *Acinetobacter baumannii* / *calcoaceticus*, *Pseudomonas stutzeri* y *Comamonas testosteroni* / *Pseudomonas alcaligenes*. Estos pudieron ser adquiridos directamente de la mina ya que son microorganismos que se encuentran en suelos (Orozco Rico, 2011; Parra Vera et al., 2021; Ranieri et al., 2020).

4.2 SELECCIÓN DE MEDIO DE CULTIVO

Se necesitaba seleccionar un medio de cultivo que promoviera el crecimiento de *Escherichia coli* y la inhibición y/o diferenciación con respecto a las cepas encontradas en el AMN.

Se probaron los siguientes agares: Mac Conkey, Endo, mFc, mineral con glucosa, mineral con lactosa, y cuenta estándar. Se preparó una suspensión para cada bacteria determinada en el AMN y para la de prueba (*E. coli* ATCC 11229) en tubos de 16x150 mm con tapón de rosca con 9 mL de SSI al 0.85% estéril hasta llegar a la turbidez del 0.5 McFarland comparando con la tarjeta de Wickerham. Tras su homogenización con un agitador vortex se tomaron 0.1 mL que se colocaron en un

matraz Erlenmeyer de 200 mL con 100 mL de SSI al 0.85% estéril, del cual se tomó una alícuota de 0.1 mL que se colocó en un tubo de 16x150 mm con tapón de rosca con 10 mL de SSI al 0.85% estéril. De este último tubo se tomaron 0.1 mL y se inocularon en los medios correspondientes realizando el extendido en placa con un asa bacteriológica. Las diluciones, inoculaciones y extendido en placa se llevaron a cabo en zona aséptica.

Las cajas se incubaron a $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ de manera general a excepción del medio mFc que para *E. coli* se incubó una caja a 44.5°C . El medio Endo se incubó en oscuridad cubriendo la caja con papel aluminio debido a su fotosensibilidad. Las UFC se contaron a las 24 horas.

Los resultados a las 24 horas fueron los siguientes:

Tabla 2. Resultados a las horas de la selección de medio de cultivo.

| Microorganismos | Medios | | | | | | |
|------------------------|------------|------|---------------------------|---------------------|---------------------|-----------------|-----|
| | Mac Conkey | Endo | mFc | Mineral con glucosa | Mineral con lactosa | Cuenta Estándar | |
| <i>A. baumannii</i> | X | X | X | X | X | X | |
| <i>P. stutzeri</i> | X | X | X | + | X | X | |
| <i>C. testosteroni</i> | X | X | X | X | X | X | |
| <i>E. coli</i> | + | +++ | $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ | + | + | + | +++ |
| | | | 44.5°C | X | | | |

(X) sin crecimiento, (+) poco crecimiento, (++) crecimiento, (+++) crecimiento óptimo

Los microorganismos aislados del AMN no se reportan como bacterias exigentes nutricionalmente (Matías Camacho et al., 2020; López y López Brea, 2000), a pesar de ello, los resultados a las 24 horas (Tabla 2) denotan la ausencia de crecimiento bacteriano. Es de considerar que durante el aislamiento de estas bacterias presentaron desarrollo de colonias a las 48 horas, mientras que a las 24 horas el crecimiento era imperceptible o nulo.



Figura 5. Crecimiento óptimo de *E.coli* en agar Endo



Figura 6. Crecimiento óptimo de *E.coli* en agar Cuenta Estándar

Posteriormente, cada uno de los medios de cultivos se dividió en 6 secciones, una de estas como control de esterilidad (Figura 7). En cada sección se inoculó por estría ondulada a partir del tubo de SSI al 0.85% estéril al 0.5 McFarland las diferentes bacterias.



Figura 7 Crecimiento de *E.coli*, *Acinetobacter baumannii/calcoaceticus* (C1A y C1B), *Pseudomonas stutzeri* (C2 rugosa) y *Comamonas testosteroni/Pseudomonas alcaligenes* (C3 gris) en Agar Endo.

En la Tabla 2 se observa que las bacterias encontradas en el AMN no crecieron en el medio Endo utilizando diluciones para la inoculación, sin embargo *A. baumannii* si creció cuando se inoculó a partir de una concentración al 0.5 McFarland. Por lo tanto, es posible inferir que su crecimiento en medio Endo está relacionado a la densidad bacteriana inoculada.

Se encontró que los medios que propician el crecimiento de *E. coli* es Endo y cuenta estándar ya que ambos presentan microorganismos contables (Figuras 5 y 6), sin embargo, en Endo al presenciar el cambio de color en las colonias de *E. coli* (morado a rosa), estas se hacen diferenciables con respecto a los microorganismos del AMN donde o no crecieron o son color crema o blanco, esto se observa en la Figura 7. Por lo tanto, el medio ideal para el crecimiento y diferenciación de *E. coli* es el agar Endo.

El agar Endo es selectivo ya que permite la diferenciación de la familia Enterobacteriaceae, debido a la combinación del sulfito de sodio con fucsina básica, lo cual ocasiona la supresión parcial de los microorganismos gram-positivos. Los coliformes fermentan la lactosa, y como resultado de esta fermentación, se forman colonias con un color que varía entre rosa oscuro y rojizo, con un brillo metálico verdoso iridiscente. Las colonias de microorganismos que no fermentan la lactosa son incoloras o de color rosa pálido en contraste con el fondo rosa claro del medio (BD, 2013)

4.3 RETO MICROBIANO

Con el fin de determinar la inhibición microbiana ocasionada por el AMN se realizó una suspensión de *E. coli* en un tubo de 16x150 mm con tapón de rosca con 9 mL de SSI al 0.85% estéril tomando el microorganismo con un asa bacteriológica de un cultivo de agar cuenta estándar de 18-24 horas a $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ hasta llegar al 0.5 McFarland comparando con la tarjeta de Wickerham. A partir de este tubo con un hisopo estéril se sembró masivamente en agar Endo, posteriormente se colocó el AMN con unas pinzas flameadas con etanol al 96%. Todo este procedimiento se realizó en zona aséptica.



Figura 8. Reto microbiano *E. coli* en agar Endo

Tras incubar 24 horas a $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ se observó un pequeño halo de inhibición bacteriana alrededor del AMN, este se nota más claro cuando las partículas del AMN se encuentran muy juntas, lo que permite suponer que a mayor superficie de contacto con el AMN es más efectiva la inhibición de *E. coli* ATCC 11229.

4.4 SELECCIÓN DE LA SOLUCIÓN NEUTRALIZANTE

La solución neutralizante tiene como función separar el agente desinfectante de la bacteria, esto implica la inactivación del agente desinfectante pues este ejerce su acción a través del contacto con el microorganismo, al tiempo en el que esto ocurre se le denomina tiempo de contacto.

Las interacciones entre el agente desinfectante y el objetivo se dividen en tres: las interacciones químicas fuertes (covalentes), iónicas y de partición física. Las dos primeras se caracterizan por poseer tolerancia a los cambios de concentración, quiere decir que para este tipo de agentes desinfectantes se requieren neutralizadores específicos para su inactivación, mientras que aquellos con interacciones físicas son fácilmente inactivados mediante diluciones (Denyer y Stewart, 1998).

Uno de los mecanismos desinfectantes del AMN radica en la liberación de cationes metálicos, por lo que la interacción entre la bacteria y este es de carácter iónico, requiriendo así un neutralizador específico. De acuerdo con esta interacción el

agente neutralizante ideal es una combinación de lecitina de soya y tween 80 debido a que sus características anfipáticas permiten la separación de las moléculas con carga y de aquellas de origen lipídico.

Se probaron tres soluciones neutralizantes (Tabla 3), cada una con diferentes concentraciones de tween 80 y de lecitina de soya; la primera, descrita por Miranda Ríos (2005) es la de concentración más alta y considera la presencia de un buffer para asegurar un pH constante de 7.2; la segunda, especificada por Michaine (2013) es la de menor concentración y es comúnmente utilizada para el monitoreo de la higiene de superficies; la última es un caldo peptona de caseína-lecitina-polisorbato 80 comercial marca Merck que además de contener tween 80 y lecitina, este proporciona las condiciones óptimas para la regeneración de microorganismos dañados (Miranda Ríos y Luna Pabello, 2005; Michaine, 2013; Condalab, 2022).

Tabla 3. Soluciones neutralizantes

| Miranda Ríos (2005) | | Michaine (2013) | | Caldo peptona de caseína-lecitina-polisorbato 80 | |
|---------------------|---------|------------------|----------|--|-------|
| Para preparar 1 L | | | | | |
| Tween 80 | 280 mL | Tween 80 | 28.30 mL | Tween 80 | 40 mL |
| Lecitina de soya | 40 g | Lecitina de soya | 3 g | Medio | 25 g |
| Buffer de fosfatos | 1.25 mL | | | | |

Todas las soluciones neutralizantes evaluadas una vez preparadas y homogenizadas se esterilizaron por autoclave a 121°C durante 15 min.

Se realizaron las diluciones correspondientes partiendo del tubo 3 McFarland en SSI al 0.85% estéril con *E. coli* ATCC 11229 hasta llegar a una concentración de 10² UFC/mL (sección 5.6.1), a partir de esta se inocularon por triplicado 0.1 mL en agar Endo. Instantes previos a la inoculación del microorganismo se colocaron 0.1

mL de la solución neutralizante a evaluar. Posterior a la colocación de la solución neutralizante y el inóculo microbiano se realizó el extendido en placa con asa bacteriológica. Las placas se incubaron a $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ y se leyeron a las 24 horas.

Al control no se le colocó solución neutralizante, en su lugar se sustituyó por 0.1 mL SSI al 0.85% estéril.

Tabla 4. Resultados selección de solución neutralizante.

| Miranda Ríos (2005) | Michaine (2013) | Caldo peptona de caseína-lectina-polisorbato80 | Control |
|---------------------|-----------------|--|---------|
| UFC/mL | | | |
| 550 | 450 | 100 | 400 |
| 490 | 370 | 160 | 280 |
| 330 | 390 | 390 | 330 |

A pesar de que no hubo grandes diferencias entre las soluciones neutralizantes evaluadas puesto que no hubo disminución del orden de magnitud de bacterias, se eligió la solución propuesta por Michaine (2013) siendo la más parecida numéricamente al control, y en comparación con la solución propuesta por Miranda Ríos (2005) no presenta un cambio de coloración en el medio en la zona de inoculación. Se descartó la solución caldo peptona de caseína-lectina-polisorbato 80 puesto que en dos cajas presentó una ligera disminución al cotejar con el control. La solución de Michaine (2013) fue la más cercana al control en cuestión de número y apariencia.

5 MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 AGREGADO MINERAL NATURAL

El agregado mineral natural (AMN) fue recolectado de minas de extracción metálica ubicadas Angangueo Michoacán, los principales elementos encontrados son: Fe, Cu, Pb, As, Zn, Sn y Ag; tal como se muestra en el Anexo A1.4

Tras el acondicionamiento del AMN (Anexo A1.1) este se conservó en una caja de Petri de vidrio limpia y estéril hasta su uso. Para cada experimento se utilizó 1 g de AMN pesado en una balanza digital Sartorius BL 150 en zona aséptica, como nave de pesado se utilizó una tapa de una caja Petri de vidrio estéril y con ayuda de una espátula previamente flameada con etanol al 96% se pesó y trasvasó al matraz Erlenmeyer bafleado correspondiente.

5.2 AGUA RESIDUAL TRATADA POR PROCESOS BIOLÓGICOS Y ESTÉRIL (ARTPBE)

Para evaluar el efecto de la materia orgánica en el proceso de desinfección, se utilizó agua residual tratada por procesos biológicos y estéril (ARTPBE) proveniente del efluente del sistema humedal artificial de doble espiral (SHADE) del bosque de San Juan de Aragón y de la planta de tratamiento de aguas residuales cerro del agua (PTARCA) ubicada en Ciudad Universitaria.

Se empleó el agua muestreada de los efluentes mencionados como ARTPBE. El agua se homogenizó y se vertieron 200 mL o 198 mL (con el fin de completar el volumen de acuerdo con la dilución correspondiente) en un matraz Erlenmeyer de 300 mL para el inóculo de 10^2 UFC/mL y 10^3 UFC/mL respectivamente, y se esterilizó a 121°C durante 15 min en la autoclave Felisa FE-397.

5.3 *Escherichia coli* CEPA ATCC 11229

La cepa bacteriana que se utilizó en este trabajo fue *Escherichia coli* (Migula) Castellani y Chalmers (ATCC 11229), proporcionada por el cepario de la Facultad de Química, UNAM. Dicha cepa es utilizada como control en la aplicación de pruebas microbiológicas de filtros de membrana, almohadillas absorbentes,

formulaciones antimicrobianas para el lavado de manos, rejillas de tinta y desinfectantes (American Type Culture Collection, 2023).

5.4 CRECIMIENTO, VIABILIDAD Y CONSERVACIÓN DE LA CEPA

Escherichia coli

La cepa proporcionada por el cepario de Facultad de Química, UNAM se resembró en agar cuenta estándar y se incubó en la incubadora Labnet 15211-DS a $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ por 24 horas. Posteriormente, mediante una tira API 20 E (Figura 9) y bajo el código 7144512 se confirmó la identidad de *E. coli*.



Figura 9. Tira API 20 E de la cepa *Escherichia coli* ATCC 11229.

Para su conservación se resembró en medio CTA (Cystine Tryptic Agar) y se incubó a $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ por 24 horas, después se refrigeró a 4°C hasta su uso. Para cada experimento se activó previamente la cepa inoculando en agar cuenta estándar a $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ por 18-24 horas.

El control de calidad se realizó mensualmente por medio de tinción de Gram. En la Figura 10, se presenta una fotografía tomada con el microscopio óptico de campo claro Carl Zeiss Scope A1. Se observan las características del microorganismo, bacilos Gram negativos, descritas anteriormente.

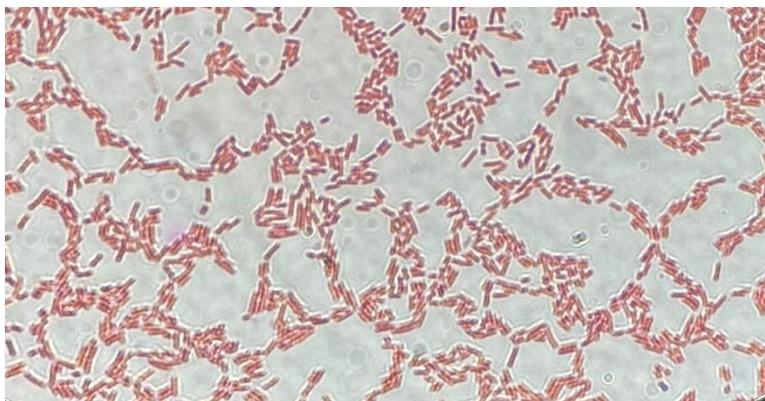


Figura 10. Tinción de Gram de Escherichia coli ATCC 11229. Fotografía tomada con microscopio óptico campo claro Carl Zeiss.

5.5 DETERMINACIÓN DE CONCENTRACIONES DE MICROORGANISMOS Y MATERIA ORGÁNICA A UTILIZAR.

Para la determinación de las concentraciones de microorganismos y materia orgánica a utilizar, se realizó la cuantificación de coliformes totales (CT), coliformes fecales (CF) y materia orgánica de los efluentes e influentes del SHADE y de la PTARCA, para este último la toma del influente se realizó antes de pasar por el filtro de arena y la del efluente después de este. Las zonas de muestreo se eligieron debido a la posible colocación de un filtro lento empacado con AMN en dichos lugares. El muestreo se realizó de acuerdo con la NMX-AA-003-1980.

5.5.1 Toma de muestra SHADE

La toma de muestra del influente se realizó en el tubo de la entrada del agua al humedal (Figura 11 y sección A de la Figura 13) con ayuda de un recipiente para muestreo, realizando tres enjuagues consecutivos con el agua a muestrear. Posteriormente, se tomó la muestra y se colocó en un frasco de vidrio ámbar, limpio, estéril, con capacidad de 1 L y debidamente etiquetado con el nombre de la muestra y la hora de muestreo.

La toma de muestra del efluente se realizó a la salida del humedal (Figura 12 y sección B de la Figura 13). Primero se permitió la salida del agua durante unos minutos y posteriormente se tomó la muestra realizando tres enjuagues previos evitando que la boquilla tocara la salida de agua, esta se colocó en un frasco vidrio

ámbar, limpio, estéril, con capacidad de 1 L y debidamente etiquetado con el nombre de la muestra y la hora de muestreo.

Ambas muestras se transportaron en una hielera con bolsas de hielo conservando la temperatura a $<10^{\circ}\text{C}$ hasta la llegada al laboratorio y el tratamiento de las mismas.



Figura 12. Toma de muestra efluente SHADE.



Figura 11. Toma de muestra influente SHADE.



Figura 13. Humedal Artificial del bosque de San Juan de Aragón (SHADE). A) Toma de muestra influente. B) Toma de muestra efluente. Fuente: Luna Pabello

5.5.2 Toma de muestra PTARCA

La toma de muestra del influente y efluente se ejecutó considerando el sistema de tratamiento de lodos activados de la planta. La toma de muestra del influente se realizó posterior al sedimentador secundario y antes del paso a través del filtro de arena tal como se denota en la Figura 14. El agua se obtuvo colocando un frasco vidrio ámbar, limpio, estéril, con capacidad de 1 L y debidamente etiquetado con el nombre de la muestra y la hora de muestreo, de manera horizontal en la canaleta del sedimentador secundario que conduce al agua hacia el filtro (Figura 15 y 16). Se tomó la muestra realizando 3 enjuagues previos.

La toma de muestra del efluente se efectuó tras el paso del agua por el filtro de arena y antes de cloración como se observa en la Figura 14. Para esto, se abrió la tapa de la escotilla (Figura 17) y con ayuda de un lazo amarrado al frasco de muestra (de vidrio ámbar, limpio, estéril, con capacidad de 1 L y debidamente etiquetado con el nombre de la muestra y la hora de muestreo) se dejó caer en al agua sumergiéndolo, se enjuagó el frasco 3 veces y se tomó la muestra.

Ambas muestras se transportaron en una hielera con bolsas de hielo conservando la temperatura a $<10^{\circ}\text{C}$ hasta la llegada al laboratorio y el tratamiento de las mismas.

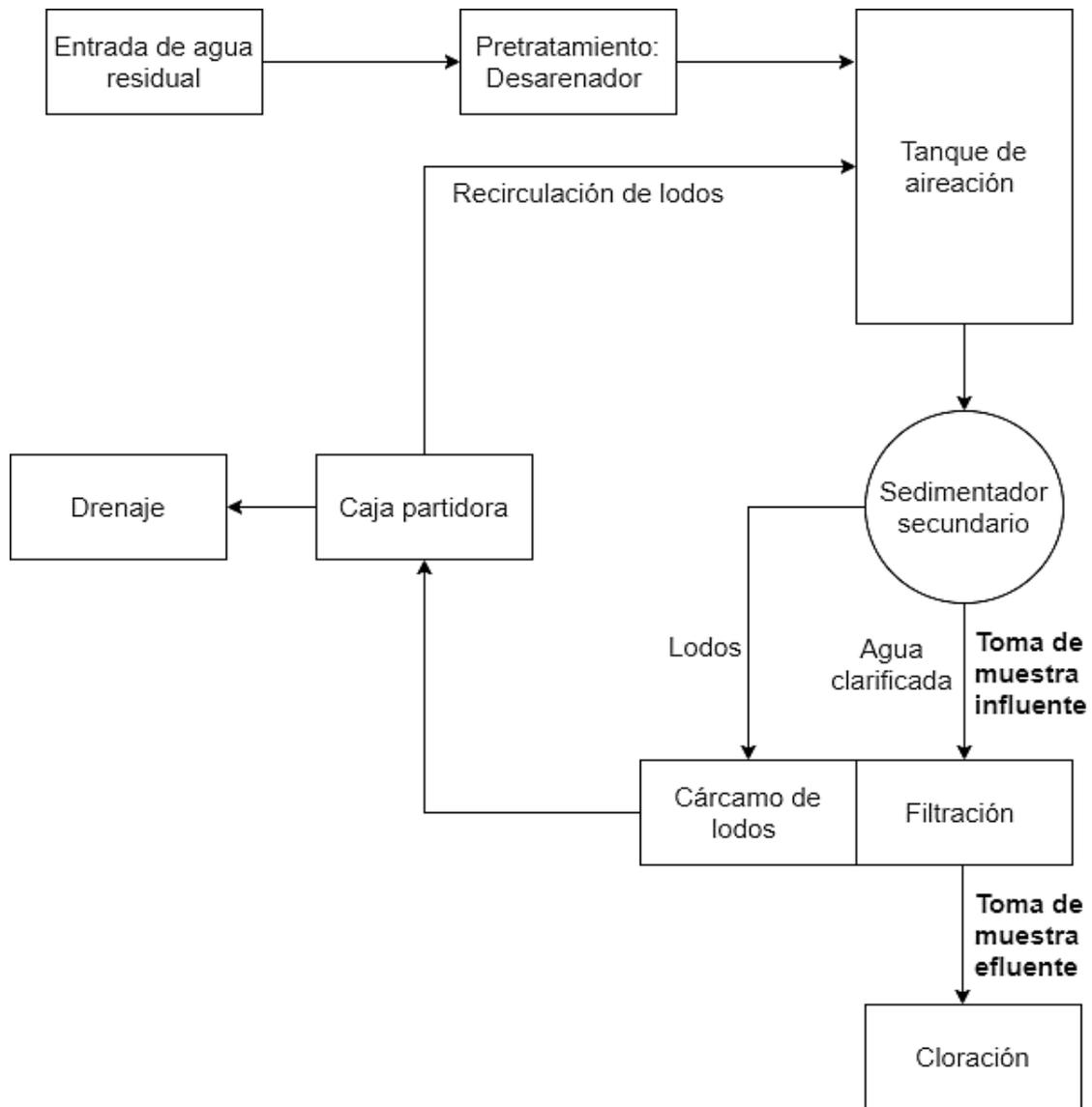


Figura 14. Diagrama PTARCA. Modificado de (González Urban, L. I y Rosete Vázquez, R., 1998)



Figura 15. Toma de muestra influente PTARCA.



Figura 16. Toma de muestra influente PTARCA.



Figura 17. Toma de muestra efluente PTARCA.

5.5.3 Cuantificación de coliformes totales y fecales

Para cuantificar la concentración de CF y CT en agua residual proveniente de una planta de tratamiento biológico se empleó la técnica de diluciones y extensión en placa en medios mFC y Endo respectivamente (APHA et al., 2017b) realizando la extensión con un asa bacteriológica. Más información sobre esta técnica en el Anexo A2.1 de esta tesis.

5.5.4 Cuantificación de materia orgánica

Para cuantificar la concentración de materia orgánica en agua residual proveniente de una planta de tratamiento biológico se utilizó la técnica de la demanda química de oxígeno (DQO) mediante el método colorimétrico a reflujo cerrado (APHA et al., 2017a). Más información sobre esta técnica en el Anexo A2.2 de esta tesis.

5.6 ESTANDARIZACIÓN DEL INÓCULO DE *Escherichia coli*

La estandarización del inóculo se realizó con una suspensión de la cepa activa de *E. coli* proveniente de un cultivo agar cuenta estándar incubado de 18-24 horas a $35\pm 2^{\circ}\text{C}$, en un tubo de 16x150 mm con tapón de rosca con 9 mL de SSI al 0.85% estéril. Se inoculó la cantidad suficiente hasta llegar a la turbidez correspondiente del tubo 3 de la curva de McFarland comparando con en una tarjeta de Wickerham. Considerando que la turbidez es equivalente a 9.0×10^8 UFC/mL se realizaron diluciones seriadas 1:10, 1:100 o 1:1000 con SSI al 0.85% estéril hasta llegar a las concentraciones de *E. coli* a evaluar.

5.6.1 Preparación inóculo *E. coli* 10^2 UFC/mL

Tras realizar la suspensión de la cepa en el tubo con SSI al 0.85% estéril y llegar a la turbidez correspondiente al tubo 3 de la curva de McFarland se homogenizó con ayuda de un agitador vortex G560 y se tomó 0.1 mL con la micropipeta de 20-200 μL BioHit Proline usando las puntas estériles correspondientes, esta alícuota se colocó en un matraz Erlenmeyer de 200 mL con 100 mL de SSI al 0.85% estéril (matraz A), tras homogenizar bien se tomaron 0.1 mL y se colocaron en un matraz Erlenmeyer de 200 mL con 100 mL de SSI al 0.85% estéril para evaluar viabilidad (matraz B).

Para evaluar el efecto de la materia orgánica se tomaron 0.2 mL del matraz A y se colocaron en un matraz Erlenmeyer de 300 mL con 200 mL de ARTPBE denominado matraz C. Tanto al matraz B como al C se les colocó una barra de agitación previamente estéril y se pusieron en agitación en un agitador magnético Thermolyne 546725 mientras se tomaban los inóculos del matraz B o C, para evaluar viabilidad o efecto de la materia orgánica respectivamente, de 10 mL mediante una pipeta graduada estéril de 10 mL y se situaron en el matraz Erlenmeyer bafleado correspondiente (control o con AMN). Todo este procedimiento se realizó en zona aséptica.

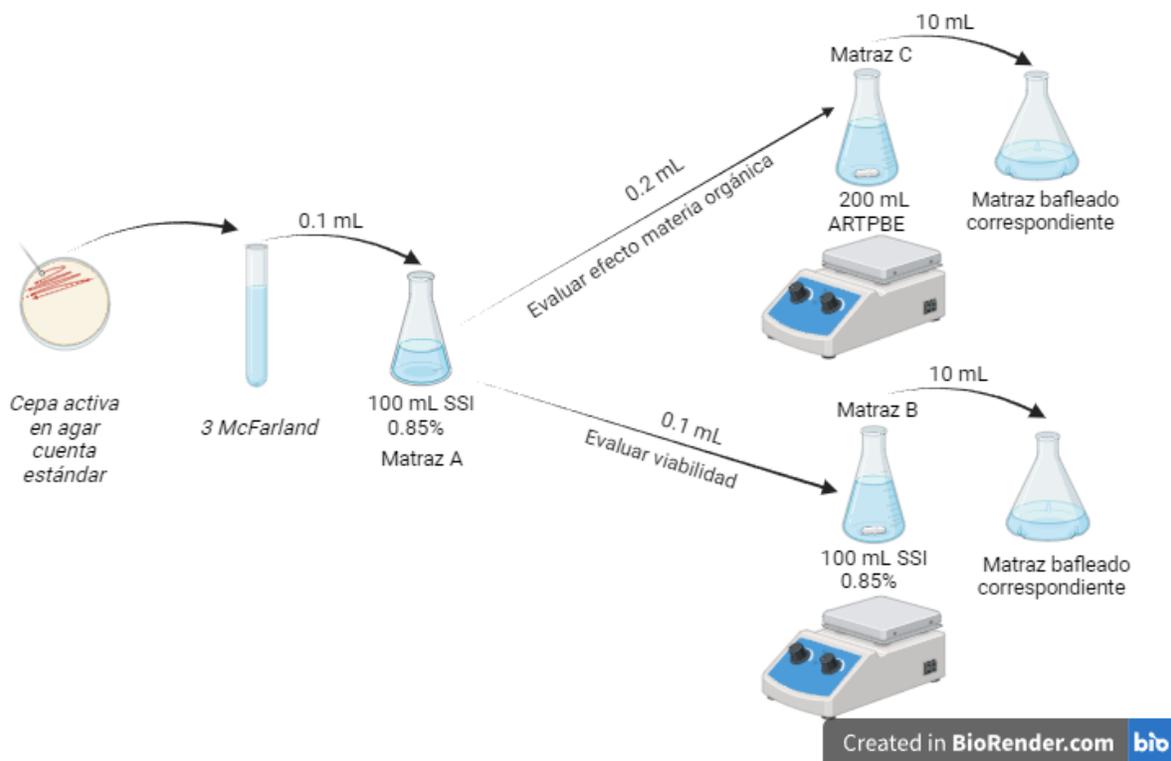


Figura 18. Diagrama de preparación del inóculo *E. coli* 10^2 UFC/mL.

5.6.2 Preparación inóculo *E. coli* 10^3 UFC/mL

Tras hacer la suspensión de la cepa en el tubo con SSI al 0.85% estéril y llegar a la turbidez correspondiente al tubo 3 de la curva de McFarland se homogenizó con ayuda de un agitador vortex G560 y se tomó 0.1 mL que se colocaron en un matraz Erlenmeyer de 200 mL con 100 mL de SSI al 0.85% estéril (matraz A), tras homogenizar bien se tomó 1 mL del matraz A con una micropipeta de 100-1000 μ L Labopette Hirschmann laborgerate con las puntas estériles correspondientes y se colocó en un matraz Erlenmeyer de 200 mL con 99 mL de SSI al 0.85% estéril para evaluar viabilidad (matraz B.1). Para evaluar el efecto de la materia orgánica se tomaron 2 mL del matraz A y se colocaron en un matraz Erlenmeyer de 300 mL con 198 mL de ARTPBE, denominado matraz C.1. Tanto al matraz B.1 y C.1 se les colocó una barra de agitación previamente estéril y se pusieron en agitación en un agitador magnético Thermolyne 546725 mientras se tomaban inóculos del matraz B.1 o C.1, para evaluar viabilidad o efecto de la materia orgánica respectivamente, de 10 mL mediante una pipeta graduada estéril de 10 mL y se situaron en el matraz

Erlenmeyer bafleado correspondiente. Todo este procedimiento se realizó en zona aséptica.

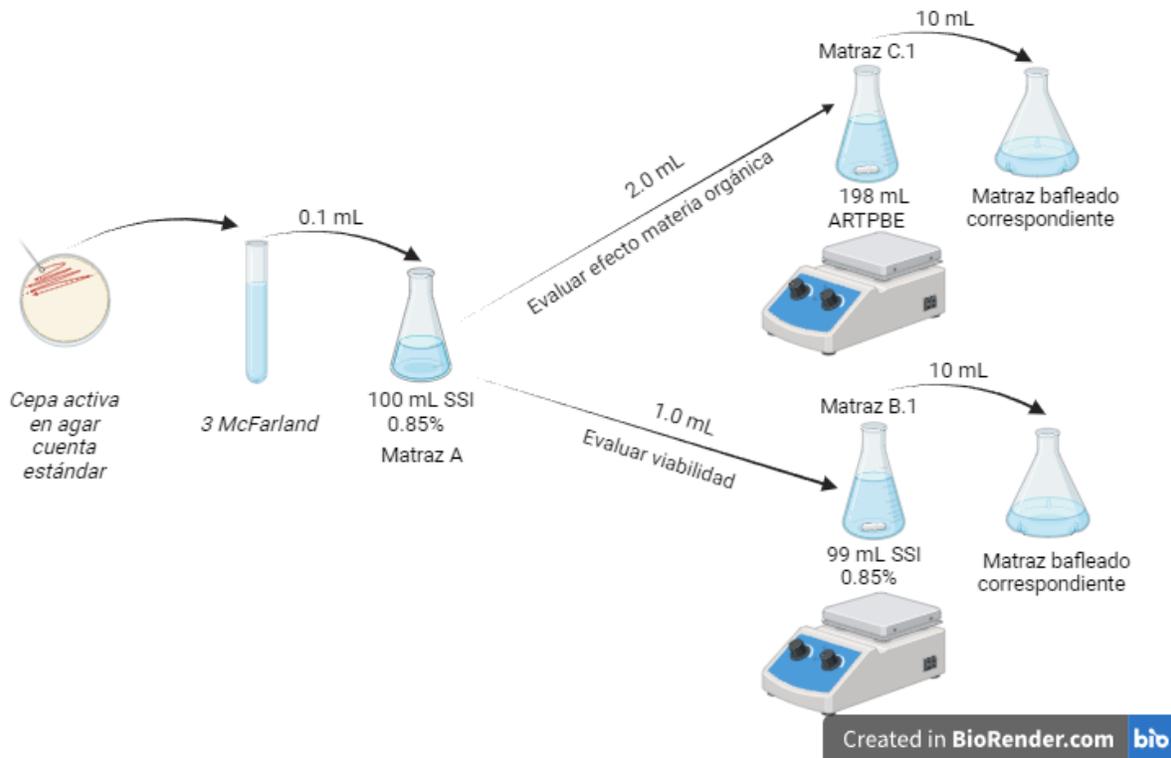


Figura 19. Diagrama de preparación del inóculo *E. coli* 10^3 UFC/mL.

5.7 ENUMERACIÓN DE *Escherichia coli*

Para cuantificar a *E. coli* durante los experimentos se empleó la técnica de diluciones y extendido en placa según *Standard Methods* (APHA et al., 2017b) realizando la extensión con asa bacteriológica.

El medio de cultivo empleado fue agar Endo (sección 4.2) en cajas Petri Plasticpure PS de 90x15 mm. Las diluciones se realizaron con 9 mL de SSI al 0.85% estéril en tubos de vidrio de 16x150 mm con tapón de rosca. Las cajas se incubaron a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ por 24 horas envueltas en papel aluminio. La cuenta de microorganismos se realizó tras 24 horas de incubación.

5.8 NEUTRALIZACIÓN DEL AMN EN LAS ALÍCUOTAS UTILIZADAS PARA LA CUANTIFICACIÓN DE *Escherichia coli*

Para la preparación de la solución neutralizante seleccionada (Sección 4.4) se pesaron 0.15 g de lecitina de soya y se midieron 1.42 mL de tween 80, ambos se colocaron en un matraz volumétrico de 50 mL. Posterior a su homogenización y afore se trasvasó a un frasco ámbar de 100 mL, el cual se esterilizó por autoclave a 121°C durante 15 min.

Esta solución se empleó colocando 0.1 mL en las cajas Petri con agar Endo donde se realizó la extensión en placa instantes previos a la colocación del inóculo microbiológico.

5.9 EVALUACIÓN DE LA VIABILIDAD DE *Escherichia coli* EN PRESENCIA DE AMN

La evaluación de la viabilidad de *E. coli* (10^2 UFC/mL y 10^3 UFC/mL) en presencia de AMN se realizó en SSI al 0.85% estéril en matraces bafleados con y sin AMN (control) en agitación para los tiempos 20, 30 y 40 min. Se tomó una alícuota al final de cada tiempo y se realizó el extendido en placa junto con la solución neutralizante en agar Endo por triplicado. Las cajas se incubaron en oscuridad y se contaron las UFC a las 24 horas.

5.9.1 Inóculo *E. coli* 10^2 UFC/mL

Se preparó el inóculo microbiológico hasta llegar a la concentración 10^2 UFC/mL, mientras este se encontraba en constante agitación (matraz B) se distribuyó en volúmenes de 10 mL en zona aséptica con ayuda de una pipeta graduada de 10 mL estéril en 6 matraces Erlenmeyer bafleados estériles, 3 de ellos sin AMN (control) y 3 con 1 g de AMN de 2 mm \varnothing .

Los matraces se incubaron a $35\pm 2^\circ\text{C}$ y a 142 RPM en una incubadora con agitación orbital Prendo INO 650M durante los tiempos 20, 30 y 40 min. Al final de cada tiempo se tomó una alícuota de 0.1 mL del matraz bafleado tanto del control como del AMN y se transfirieron a una caja de agar Endo con 0.1 mL de solución neutralizante previamente colocada, posteriormente se realizó el extendido en placa con un asa

bacteriológica. Las cajas se incubaron a $35\pm 2^\circ\text{C}$ envueltas en papel aluminio debido a la fotosensibilidad del agar y se contaron las UFC a las 24 horas.

Para el tiempo cero se tomaron 0.1 mL de la última dilución (matraz B), se inoculó, se incubó y se contaron las UFC como anteriormente descrito.

Para cada tiempo el extendido en placa se realizó por triplicado. La toma de alícuotas y extendido en placa se llevó a cabo en zona aséptica.

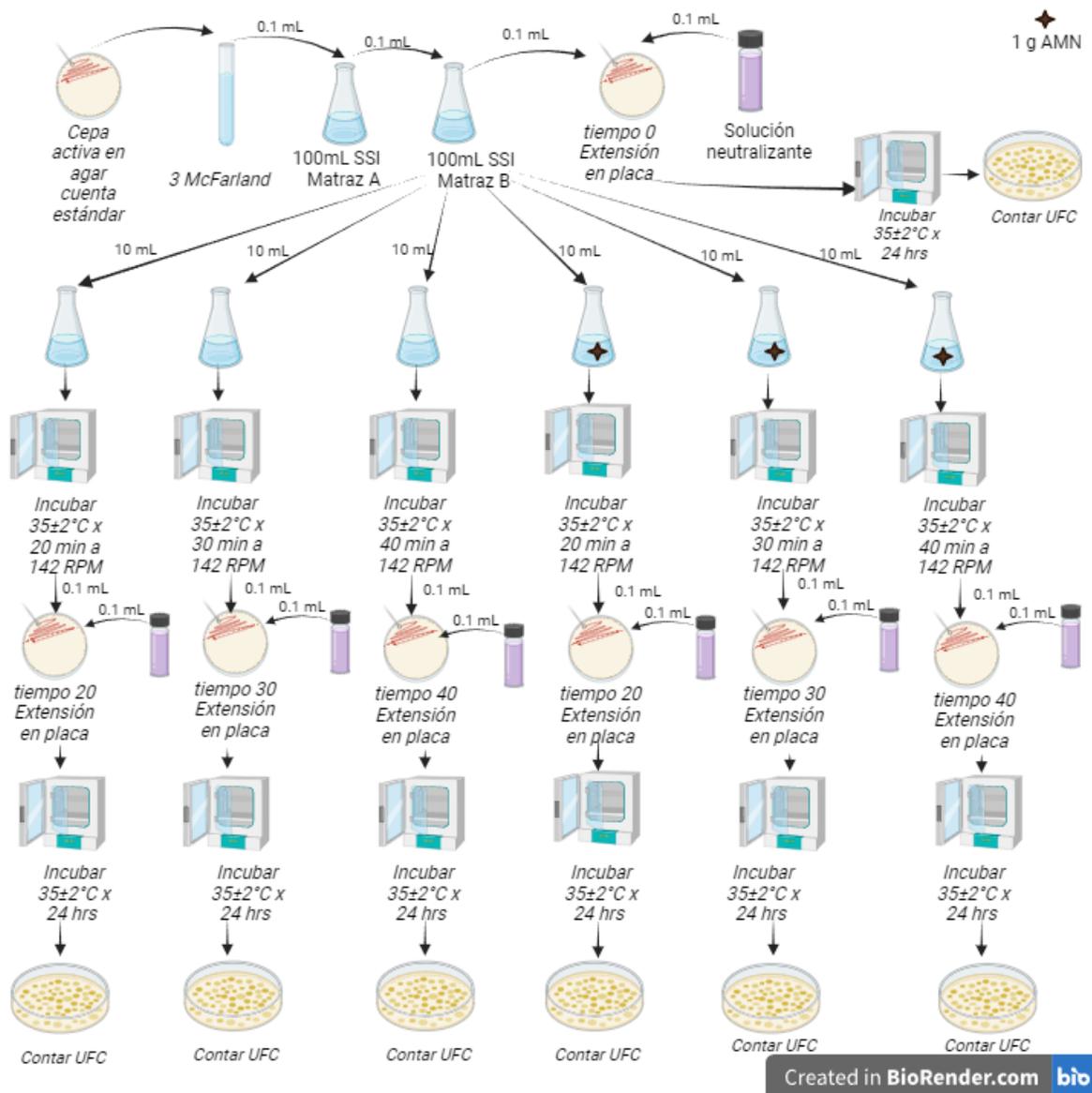


Figura 20. Diagrama de evaluación de la viabilidad de *E. coli* 10^8 UFC/mL en presencia de AMN.

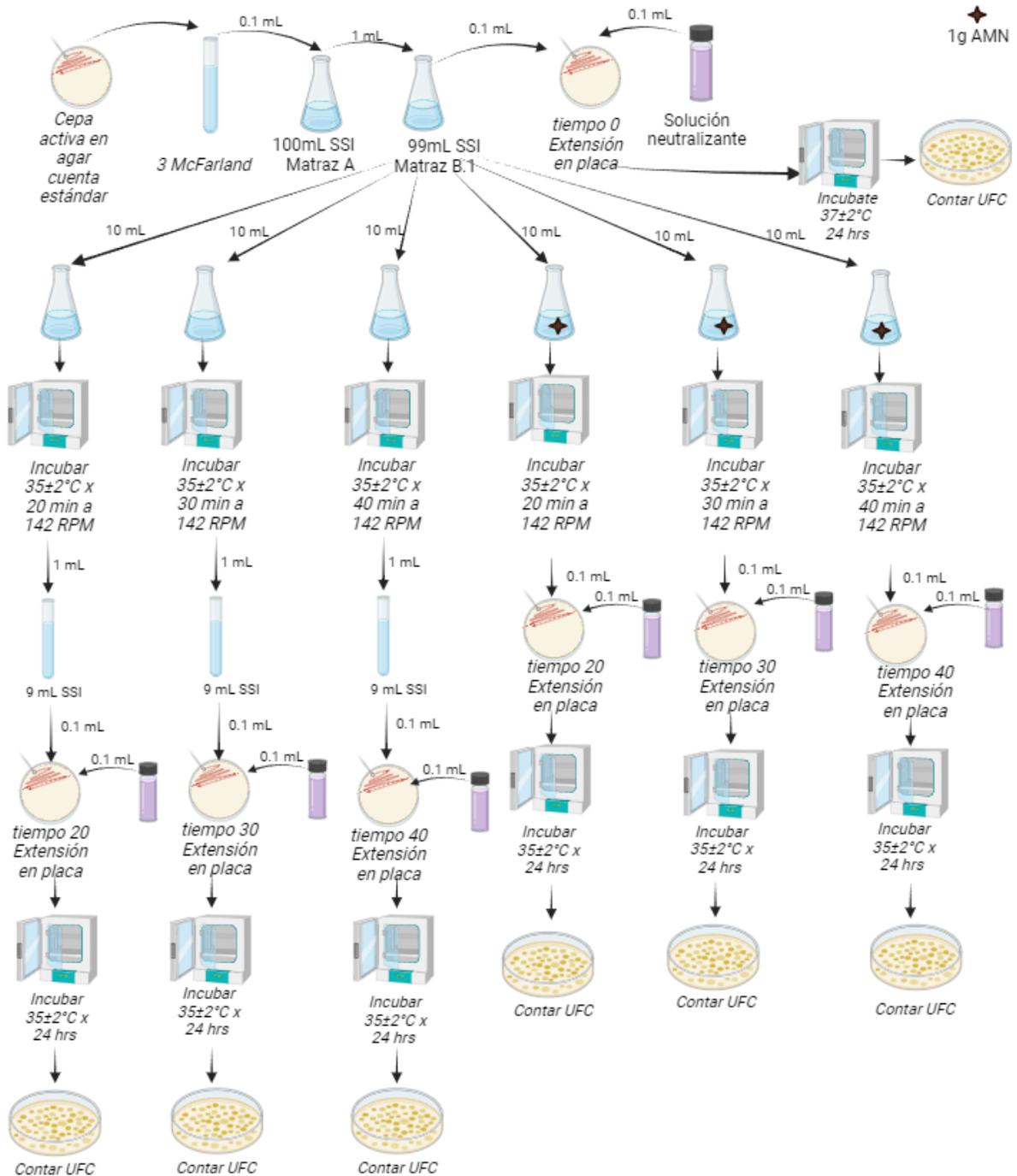
5.9.2 Inóculo *E. coli* 10³ UFC/mL

Se preparó el inóculo microbiológico hasta llegar a la concentración 10³ UFC/mL, mientras este se encontraba en constante agitación (matraz B.1) se distribuyó en volúmenes de 10 mL en zona aséptica con ayuda de una pipeta graduada de 10 mL estéril en 6 matraces Erlenmeyer bafleados estériles, 3 de ellos sin AMN (control) y 3 con 1 g de AMN.

Los matraces se incubaron a 35± 2°C y 142 RPM en una incubadora con agitación orbital Prendo INO 650M por los tiempos 20, 30 y 40 min. Al final de cada tiempo se realizó una dilución 1:10 del control, tomándose una alícuota de 1 mL de los matraces bafleados del control y se colocó en un tubo de 16x150 mm con tapón de rosca con 9 mL de SSI al 0.85% estéril, posteriormente se agitó en el vortex y de ese tubo se tomó 0.1 mL que se inocularon en una caja con agar Endo con 0.1 mL de solución neutralizante previamente colocada, posteriormente se realizó el extendido en placa con un asa bacteriológica. Las cajas se incubaron a 35±2°C envueltas en papel aluminio y se contaron las UFC a las 24 horas. Para el tiempo cero se ejecutó el mismo procedimiento a excepción que la toma de alícuota de 1 mL fue del matraz B.1.

Para los matraces bafleados con AMN se tomaron 0.1 mL directamente del matraz al final de cada tiempo y se situó en una caja de agar Endo con 0.1 mL de solución neutralizante, ulteriormente se realizó el extendido en placa, la incubación y el conteo de las UFC como anteriormente descrito.

Para cada tiempo el extendido en placa se realizó por triplicado. La toma de alícuotas y extendido en placa se llevó a cabo en zona aséptica.



Created in **BioRender.com** **bio**

Figura 21. Diagrama de evaluación de la viabilidad *E. coli* 10^3 UFC/mL en presencia de AMN.

5.10 EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LA MATERIA ORGÁNICA

La evaluación del efecto de la materia orgánica se realizó como la evaluación de la viabilidad en presencia del AMN. La diferencia radica en que esta no se efectuó con

SSI al 0.85% estéril si no en ARTPBE proveniente de los efluentes de la PTARCA y SHADE con una DQO de 153 mgO₂/L y 77 mgO₂/L respectivamente para las concentraciones predeterminadas de *E. coli* (10² UFC/mL y 10³UFC/mL).

5.10.1 Inóculo *E. coli* 10² UFC/mL

Se preparó el inóculo microbiológico hasta llegar a la concentración 10² UFC/mL, mientras este se encontraba en constante agitación (matraz C) se distribuyó en volúmenes de 10 mL en zona aséptica con ayuda de una pipeta graduada de 10 mL estéril en 12 matraces Erlenmeyer bafleados estériles, 6 de ellos sin AMN (control) y 6 con 1 g de AMN.

Los matraces se incubaron a 35±2°C y a 142 RPM en una incubadora con agitación orbital Prendo INO 650M por los tiempos 20, 30, 40, 60, 120 y 240 min. Al final de cada tiempo se tomó una alícuota de 0.1 mL del matraz bafleado tanto del control como del AMN y se situó en la caja de agar Endo correspondiente con 0.1 mL de solución neutralizante previamente colocada, posteriormente se realizó el extendido en placa con un asa bacteriológica. Las cajas se incubaron a 35±2°C envueltas en papel aluminio y se contaron las UFC a las 24 horas.

Para el tiempo cero se tomaron 0.1 mL de la última dilución (matraz C), se inoculó, se incubó y se contaron las UFC como anteriormente descrito.

Para cada tiempo el extendido en placa se realizó por triplicado. La toma de alícuotas y extendido en placa se llevó a cabo en zona aséptica.

5.10.2 Inóculo *E. coli* 10³ UFC/mL

Se preparó el inóculo microbiológico hasta llegar a la concentración 10³ UFC/mL, mientras se encontraba en constante agitación (matraz C.1) se distribuyó en volúmenes de 10 mL en zona aséptica con ayuda de una pipeta graduada de 10 mL estéril en 12 matraces Erlenmeyer bafleados, 6 de ellos sin AMN (control) y 6 con 1 g de AMN.

Los matraces se incubaron a 37± 2°C y a 142 RPM en una incubadora con agitación orbital Prendo INO 650M por los tiempos 20, 30, 40, 60, 120 y 240 min. Al final de cada tiempo se realizó una dilución 1:10 del control, tomándose una alícuota de 1

mL de los matraces bafleados del control que se colocó en un tubo de 16x150 mm con tapón de rosca con 9 mL de SSI al 0.85% estéril, posteriormente se agitó en el vortex y de ese tubo se tomaron 0.1 mL que se inocularon en una caja de agar Endo con 0.1 mL de solución neutralizante previamente colocada y se realizó el extendido en placa con un asa bacteriológica. Las cajas se incubaron envueltas en papel aluminio a $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ y se contaron las UFC a las 24 horas. Para el tiempo cero se ejecutó el mismo procedimiento a excepción que la toma de alícuota de 1 mL fue del matraz C.1.

Para los matraces bafleados con AMN se tomaron 0.1 mL directamente del matraz al final de cada tiempo y se situaron en una caja de agar Endo con 0.1 mL de solución neutralizante, ulteriormente se realizó el extendido en placa, la incubación y el conteo de las UFC como fue descrito.

Para cada tiempo el extendido en placa se realizó por triplicado. La toma de alícuotas y extendido en placa se llevó a cabo en zona aséptica.

5.11 EVALUACIÓN DEL PORCENTAJE DE REMOCIÓN DE UNA COLUMNA EMPACADA CON AMN

El porcentaje de remoción de una columna empacada con AMN se evaluó utilizando *E. coli* a una concentración de 10^2 UFC/mL, la cual fue inoculada en ARTPBE, misma que se pasó a través de la columna. Se tomaron alícuotas del ARTPBE antes y después de su paso por la columna, las cuales fueron inoculadas por triplicado en agar Endo con solución neutralizante y posteriormente se realizó el extendido en placa. Las cajas se incubaron en oscuridad y se contaron las UFC.

5.11.1 Inóculo *E. coli* 10^2 UFC/mL

La preparación del inóculo de *E. coli* se ejecutó con la cepa previamente activada en agar cuenta estándar incubado a $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ por 18-24 horas, de ese cultivo se colocó la cantidad de bacteria necesaria con un asa bacteriológica en un tubo de 16x150 mm con tapón de rosca con SSI al 0.85% estéril hasta llegar a la turbidez correspondiente al tubo 3 de la curva de McFarland comparando con la tarjeta de Wickerham, se homogenizó con vortex y se tomó 0.1 mL que se colocaron en un matraz Erlenmeyer de 200 mL con 100 mL de SSI al 0.85% estéril (matraz A), del

cual se tomó 1 mL y se situó en un matraz Erlenmeyer de 2 L con 999 mL de ARTPBE con una DQO de 150 mgO₂/L (matraz D) proveniente del efluente del SHADE.

Del matraz D se tomó una alícuota de 0.1 mL que se inoculó en agar Endo con 0.1 mL de solución neutralizante y se efectuó el extendido en placa con asa bacteriológica. Este proceso se realizó por triplicado y corresponde al control de la concentración de microorganismos que entraron a la columna empacada.

El volumen del matraz D se vertió la columna y se dejó por 4 horas, tras ese tiempo se abrió la válvula de esfera vaciando el agua en un vaso de precipitados estéril de 1 L. Después de esperar unos minutos a que toda el agua saliera de la columna, se le dispuso una barra magnética estéril al vaso y este se colocó en agitación. Durante la agitación se tomó una alícuota de 0.1 mL que se inoculó en agar Endo con 0.1 mL de solución neutralizante y se efectuó el extendido en placa con asa bacteriológica. Este proceso se realizó por triplicado y corresponde a la concentración de microorganismos que no fueron removidos por la columna.

Las cajas de Petri se incubaron envueltas en papel aluminio a 35±2°C debido a la fotosensibilidad del medio y se contaron las UFC a las 24 horas.

La preparación del inóculo, toma de alícuotas y el extendido en placa se desarrolló en zona aséptica.

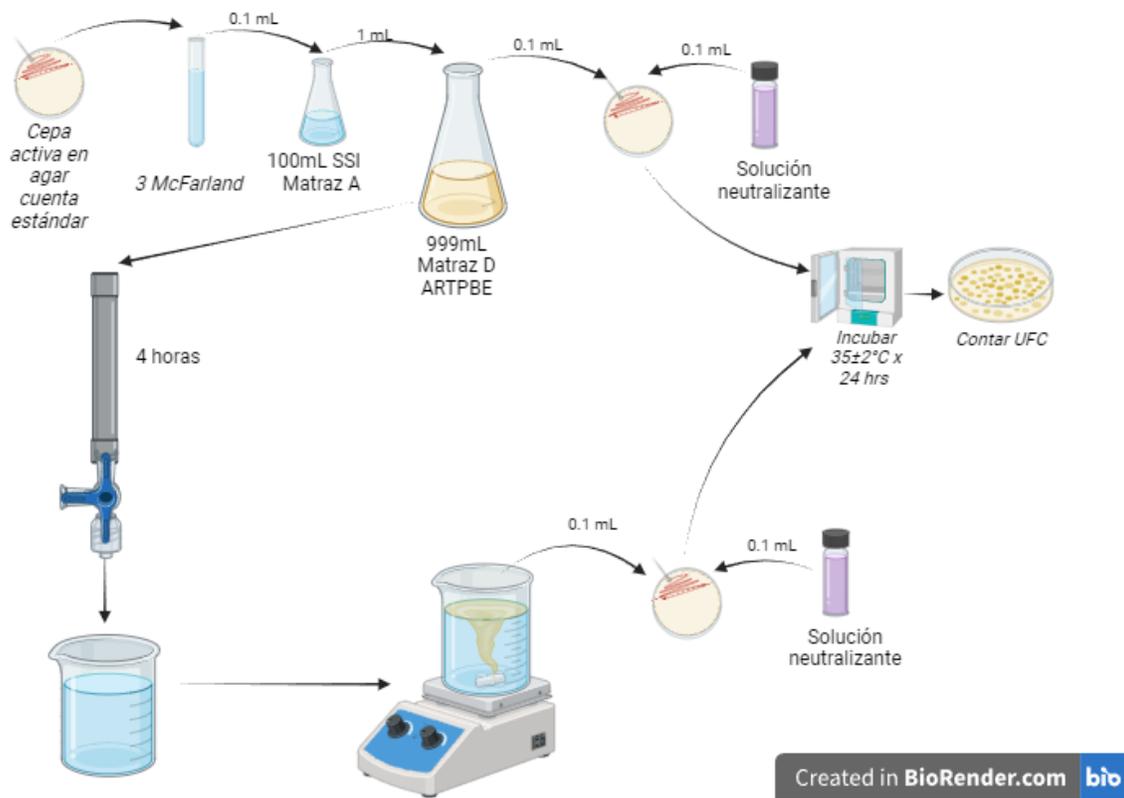


Figura 22. Diagrama de evaluación del porcentaje de remoción de una columna empacada con AMN.

5.11.2 Construcción de la columna empacada

Se construyó una columna empacada con AMN (Figura 23) de operación por lote y con flujo descendente utilizando un tubo de PVC de 2 pulgadas de diámetro. La columna se empacó con AMN ϕ de granulometría de 15 mm, 10 mm y 5 mm en tres lechos. Cada lecho mide 20 cm, 50 cm y 20 cm de largo, respectivamente, y el largo total de la columna es de 116.3 cm, incluyendo una válvula de esfera que controla la salida del agua. El agua fluye primero a través del lecho con ϕ de 15 mm, luego por el de 10 mm y finalmente por el de 5 mm (Castro Tapia, En proceso).

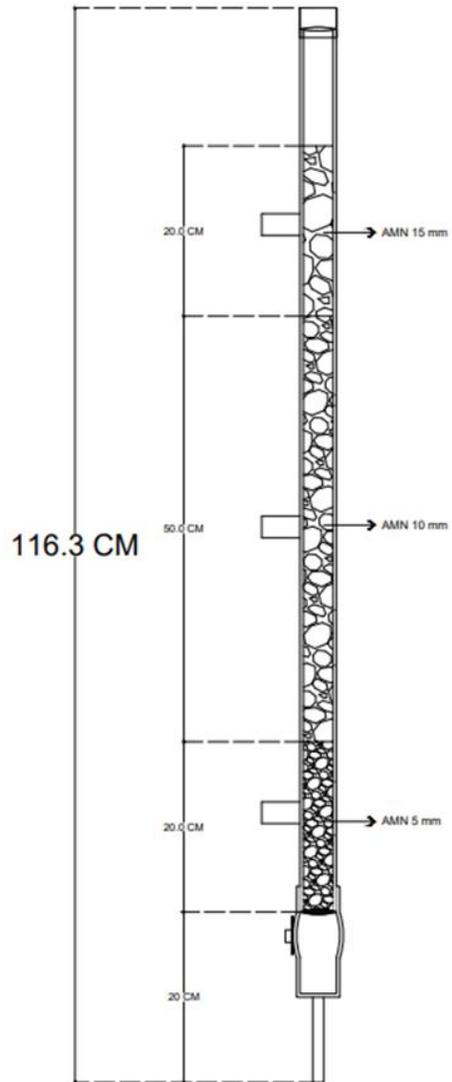


Figura 23. Esquema columna empacada con AMN. (Castro Tapia, En proceso)

6 RESULTADOS

6.1 DETERMINACIÓN DE INTERVALOS DE MICROORGANISMOS Y MATERIA ORGÁNICA A UTILIZAR

Con el fin de determinar la concentración de microorganismos y materia orgánica a utilizar para evaluar el efecto desinfectante del AMN, se cuantificó la concentración de coliformes fecales, totales y materia orgánica presentes en efluentes de tratamiento biológico (SHADE y PTARCA). La toma de muestra se realizó el 16/05/23 y el 24/04/23 para el SHADE y la PTARCA respectivamente.

6.1.1 Cuantificación de coliformes totales y fecales

Para efectos de esta tesis la determinación de la concentración de CT y CF se reportó en UFC/mL. A continuación, se presentan los resultados de cuantificación de CT y CF del influente y efluente del filtro de arena de la PTARCA y del SHADE en las Tablas 5 y 6 respectivamente.

Tabla 5. Resultados cuantificación CF y CT del efluente e influente del filtro de arena de la PTARCA

| | Influente | Efluente |
|----|----------------------------------|----------------------------------|
| CF | $1.8 \times 10^3 \frac{UFC}{mL}$ | $4.0 \times 10^2 \frac{UFC}{mL}$ |
| CT | $4.7 \times 10^3 \frac{UFC}{mL}$ | $3.0 \times 10^2 \frac{UFC}{mL}$ |

Tabla 6. Resultados cuantificación CF y CT del influente y efluente del SHADE

| | Influente | Efluente |
|----|----------------------------------|----------------------------------|
| CF | $0 \frac{UFC}{mL}$ | $0 \frac{UFC}{mL}$ |
| CT | $1.2 \times 10^3 \frac{UFC}{mL}$ | $2.6 \times 10^2 \frac{UFC}{mL}$ |

Se observa que la concentración de coliformes fecales cambia considerablemente de acuerdo con el tratamiento de agua, esta diferencia radica en la calidad de agua

que entra al sistema. El SHADE depura agua proveniente del efluente de la planta de lodos activados de “Tlacos” mientras que la PTARCA se alimenta de agua residual proveniente de descargas municipales de CU y de la colonia Copilco El Alto (Luna Pabello y Aburto Castañeda, 2014; PumAgua, 2010). En esta última se aprecia que la concentración de CT y CF son del mismo orden de magnitud, tanto del influente como del efluente, lo que permite inferir que lo que principalmente se encuentra en este sistema son CF, es importante aclarar que esta concentración no corresponde a la concentración final del sistema, ya que la toma de muestra del efluente se realizó antes de cloración.

En ambos casos la concentración de microorganismos evaluados que entran al tratamiento biológico de aguas residuales se encuentra en un orden de 10^3 UFC/mL, durante el tratamiento pasan por un proceso de remoción por lo que a la salida la concentración disminuye un orden de magnitud, encontrándose 10^2 UFC/mL. En consecuencia, las concentraciones de microorganismos a utilizar son de los órdenes 10^3 UFC/mL y 10^2 UFC/mL.

6.1.2 Demanda química de oxígeno

Los resultados de cuantificación de materia orgánica con la técnica DQO por método colorimétrico a reflujo cerrado en el influente y efluente del filtro de arena de la PTARCA y del SHADE se presentan en las Tablas 7 y 8 en el orden dado.

Tabla 7. Resultados DQO del efluente e influente del filtro de arena de la PTARCA

| | Influente | Efluente |
|-----|------------------------------------|------------------------------------|
| DQO | $314 \frac{mg \text{ de } O_2}{L}$ | $153 \frac{mg \text{ de } O_2}{L}$ |

Tabla 8. Resultados DQO del influente y efluente del SHADE

| | Influente | Efluente |
|-----|------------------------------------|-----------------------------------|
| DQO | $145 \frac{mg \text{ de } O_2}{L}$ | $77 \frac{mg \text{ de } O_2}{L}$ |

En ambos casos la concentración de materia orgánica disminuyó aproximadamente en un 50% tras cada uno de los tratamientos, independientemente de la concentración con la que ingresó, esto a pesar de las diferencias entre estos sistemas. El humedal se basa en la fitorremediación donde el desarrollo de las plantas macrófitas enraizadas en el lecho permite interacciones físicas, químicas y biológicas que depuran el agua, mientras que la planta de lodos activados se fundamenta en la capacidad de los microorganismos presentes en los lodos para descomponer la materia orgánica (Delgadillo et al., 2010; Valdivielso, 2020).

Los efluentes del SHADE y de la PTARCA (Tablas 7 y 8) presentaron una DQO de 77 mgO₂/L y de 153 mgO₂/L respectivamente. Esta es la concentración equivalente de materia orgánica oxidable que se utilizó para evaluar su efecto sobre la desinfección en ARTPBE.

6.2 EVALUACIÓN DE LA VIABILIDAD DE *Escherichia coli* EN PRESENCIA DE AMN

Se evaluó la viabilidad de la cepa en presencia de 1 g de AMN de 2 mm (\varnothing) en SSI al 0.85% estéril con *Escherichia coli* a 10² UFC/mL y 10³ UFC/mL, estas son equivalentes a 10⁴ UFC/100mL y 10⁵ UFC/100mL, respectivamente. Las concentraciones anteriormente expresadas corresponden al intervalo de valores de CT susceptibles de ser encontrados en efluentes de tratamientos biológicos de aguas residuales municipales antes de pasar al sistema de filtros de grava y arena (Metcalf & Eddy I AECOM, 2014b; Muñoz Nava y Baumann, 2017).

Es importante tener presente que la Norma Oficial Mexicana NOM-003-SEMARNAT-1997, que establece los límites máximos permisibles de contaminantes para las aguas residuales tratadas que se reúsen en servicios al público, considera 2 calidades de agua, en contacto directo y en contacto indirecto u ocasional con el público. El primero, hace referencia al llenado de lagos y canales artificiales recreativos con paseos en remo o canotaje, fuentes de ornato, lavado de vehículos, riego de jardines y parques con un límite máximo de 240 NMP/100mL de CF, dato que es equivalente a 240 UFC/100mL (2.4 UFC/mL) acorde con la NOM-127-SSA1-2021. En tanto que para el contacto indirecto u ocasional, en donde

existan barreras o personal de vigilancia que restrinjan el paso del público, como es el caso del riego de jardines y camellones en autopistas, camellones en avenidas, fuentes de ornato, campos de golf, abastecimiento de hidrantes de sistemas contra incendio, lagos artificiales no recreativos, barreras hidráulicas de seguridad y panteones, el límite máximo es de 1000 NMP/100mL de CF cifra equivalente a 1000 UFC/100mL (10 UFC/mL) conforme a la NOM-127-SSA1-2021 (DOF, 1997, 2021).

6.2.1 Viabilidad de *E. coli* 10² UFC/mL en presencia de AMN

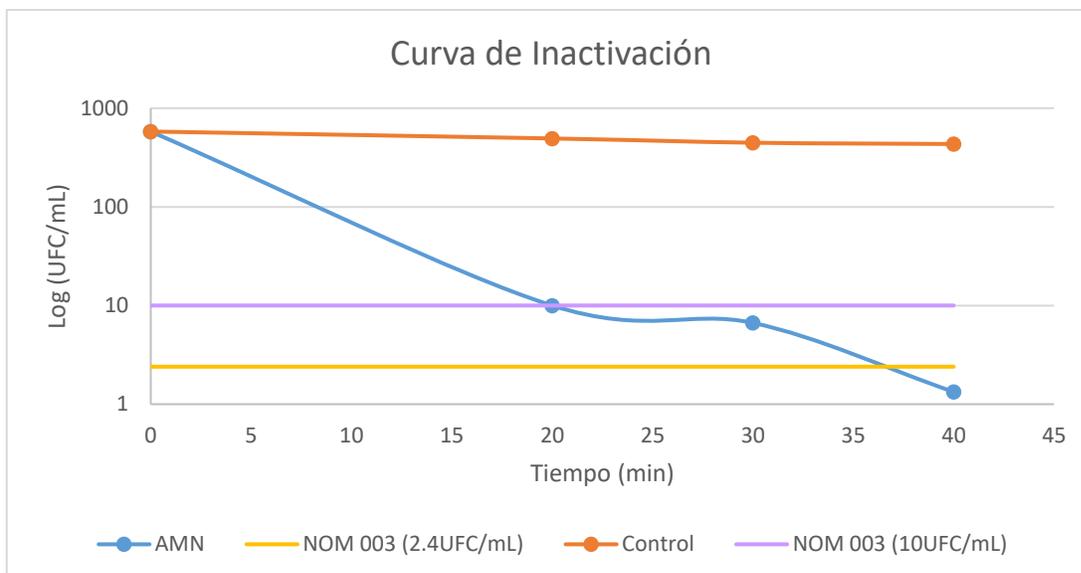
La finalidad de esta prueba fue evaluar la viabilidad de la cepa en presencia de AMN involucrando con ello el tiempo de contacto necesario para el proceso de desinfección.

En la Tabla 9, se observa que la exposición al AMN reduce en promedio la viabilidad microbiana en un orden de magnitud en cada tiempo de muestreo (10 min) expresado en UFC/mL.

Tabla 9. Resultados viabilidad E. coli (10² UFC/mL) en presencia de AMN.

| Tiempo (min) | Control (UFC/mL) | | | Promedio control (UFC/mL) | Desviación estándar (±s) | AMN (UFC/mL) | | | Promedio AMN (UFC/mL) | Desviación estándar (±s) |
|--------------|------------------|-----|-----|---------------------------|--------------------------|--------------|-----|-----|-----------------------|--------------------------|
| | | | | | | | | | | |
| 0 | 670 | 570 | 500 | 580 | 85 | 670 | 570 | 500 | 580 | 85 |
| 20 | 590 | 520 | 370 | 493 | 112 | 20 | 10 | 0 | 10 | 10 |
| 30 | 550 | 290 | 500 | 447 | 138 | 20 | 0 | 0 | 7 | 12 |
| 40 | 460 | 390 | 450 | 433 | 38 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

Muestreo por triplicado n=3



(DOF, 1997)

Figura 24. Curva de inactivación con SSI a 10^2 UFC/mL.

En el tiempo 40 min la desinfección fue total (Tabla 9) con un recuento de 0 UFC/mL en todas las placas. Se denota de manera visual el comportamiento de la disminución microbiana en la Figura 24 al encontrarse por debajo de los límites máximos permisibles de acuerdo con la NOM-003-SEMARANT-1997, a partir del tiempo 20 min para el reúso de agua en contacto indirecto con el público y a partir del tiempo 40 min para el reúso del agua en contacto directo con el público. Conforme a los resultados numéricos en cada tiempo evaluado hay un descenso de un orden de magnitud visualizándose un efecto logarítmico lineal de desinfección hasta llegar a la desinfección total de *E. coli*.

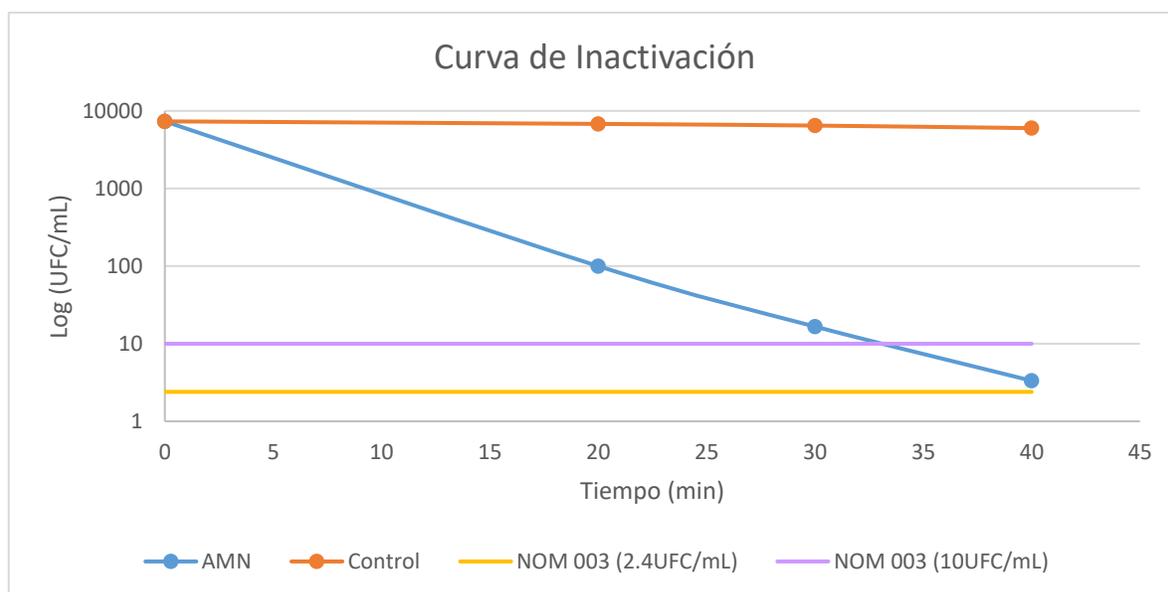
6.2.2 Viabilidad de *E. coli* 10^3 UFC/mL en presencia de AMN

En la Tabla 10 se muestran los resultados de viabilidad partiendo de 10^3 UFC/mL, en esta se observa la disminución de la viabilidad en un orden de magnitud en cada tiempo de muestreo.

Tabla 10. Resultados viabilidad *E. coli* (10^3 UFC/mL) en presencia de AMN

| Tiempo (min) | Control (UFC/mL) | | | Promedio control (UFC/mL) | Desviación estándar (±s) | AMN (UFC/mL) | | | Promedio AMN (UFC/mL) | Desviación estándar (±s) |
|--------------|------------------|------|------|---------------------------|--------------------------|--------------|------|------|-----------------------|--------------------------|
| 0 | 7600 | 8100 | 6300 | 7333 | 929 | 7600 | 8100 | 6300 | 7333 | 929 |
| 20 | 7300 | 6200 | 6900 | 6800 | 557 | 110 | 90 | 100 | 100 | 10 |
| 30 | 6000 | 6500 | 6900 | 6467 | 451 | 30 | 0 | 20 | 17 | 15 |
| 40 | 6600 | 5000 | 6400 | 6000 | 872 | 0 | 10 | 0 | 3 | 6 |

Muestreo por triplicado n=3



(DOF, 1997)

Figura 25. Curva de inactivación con SSI a 10^3 UFC/mL

Bajo los tiempos evaluados no se alcanzó una desinfección total (Tabla 10). Sin embargo, al tiempo 40 min la concentración de microorganismos resulta permisible para el reúso de agua en contacto indirecto con el público y en este mismo tiempo se acercó mucho a los límites máximos permitidos para el reúso del agua en contacto directo con el público (Figura 25). Al igual que en la concentración 10^2 UFC/mL hay un descenso de *E. coli* en un orden de magnitud en cada tiempo

evaluado. A lo largo del tiempo experimental se visualiza un efecto logarítmico lineal de desinfección.

6.3 EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LA MATERIA ORGÁNICA

Para evaluar el efecto de la materia orgánica, sobre el porcentaje de desinfección logrado por el AMN, manteniendo la concentración de *E. coli* del experimento previo, se utilizó ARTPBE proveniente de los efluentes del SHADE y de la PTARCA con los valores de 77 mgO₂/L y 153mgO₂/L de DQO respectivamente. Se evaluó el efecto desinfectante por un período de tiempo más prolongado que el descrito en la literatura (30 min) (Miranda Ríos y Luna Pabello, 2005) hasta los 240 min. Lo anterior, debido a que se esperaba que la materia orgánica interfiriera en el proceso de desinfección dada su capacidad de interaccionar con los elementos desinfectantes del AMN.

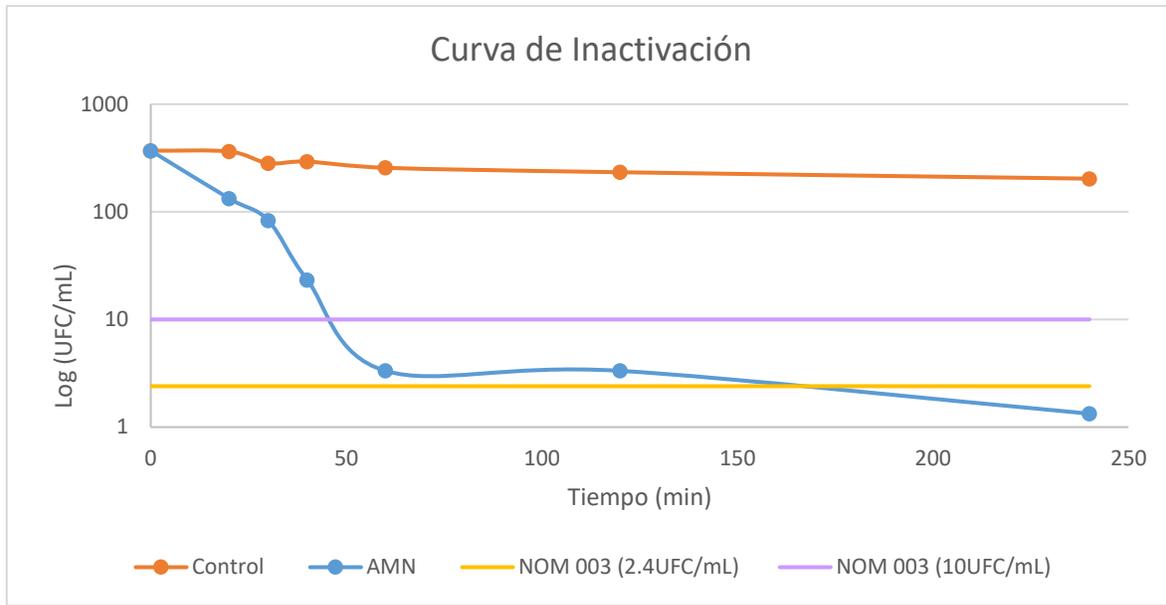
6.3.1 Efecto de la materia orgánica con *E. coli* 10² UFC/mL

A continuación, se presentan los resultados del efecto de la materia orgánica con *E. coli* 10² UFC/mL con ARTPBE provenientes de los efluentes de tratamiento biológico SHADE y PTARCA.

Tabla 11. Resultados efecto de la materia orgánica con *E. coli* (10² UFC/mL) en agua del SHADE.

| Tiempo (min) | Control (UFC/mL) | | | Promedio control (UFC/mL) | Desviación estándar (±s) | AMN (UFC/mL) | | | Promedio AMN (UFC/mL) | Desviación estándar (±s) |
|--------------|------------------|-----|-----|---------------------------|--------------------------|--------------|-----|-----|-----------------------|--------------------------|
| | | | | | | | | | | |
| 0 | 450 | 360 | 300 | 370 | 75 | 450 | 360 | 300 | 370 | 75 |
| 20 | 490 | 310 | 290 | 363 | 110 | 210 | 110 | 80 | 133 | 68 |
| 30 | 230 | 250 | 370 | 283 | 76 | 110 | 50 | 90 | 83 | 31 |
| 40 | 380 | 290 | 210 | 293 | 85 | 20 | 20 | 30 | 23 | 6 |
| 60 | 270 | 220 | 280 | 257 | 32 | 0 | 0 | 10 | 3 | 6 |
| 120 | 150 | 250 | 300 | 233 | 76 | 0 | 10 | 0 | 3 | 6 |
| 240 | 180 | 230 | 200 | 203 | 25 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

Muestreo por triplicado n=3



(DOF, 1997)

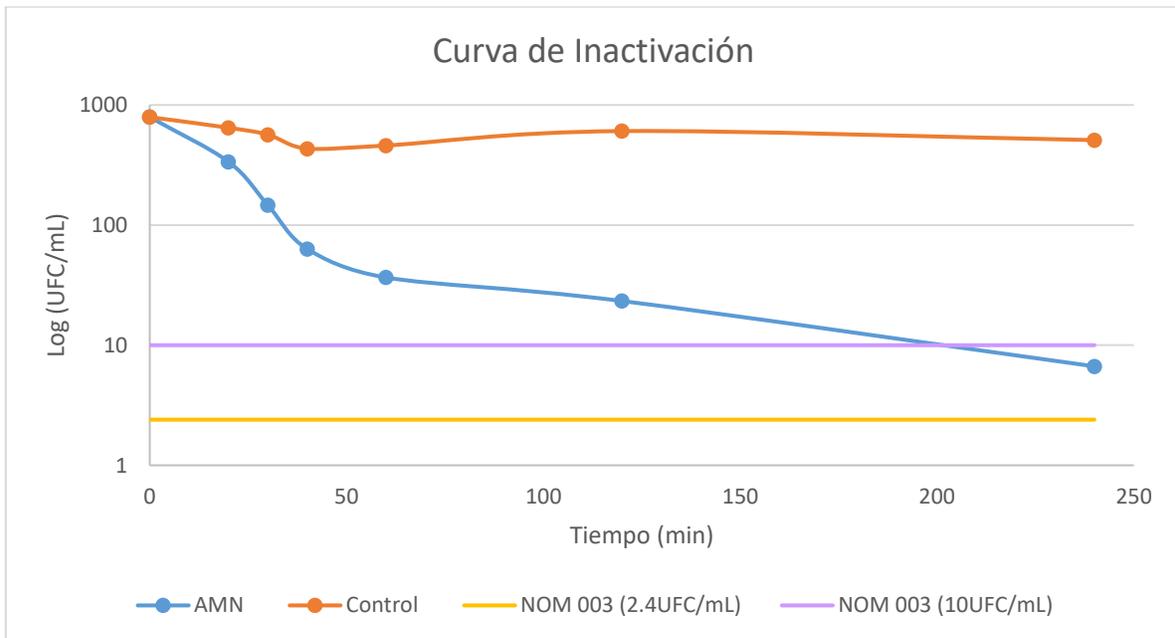
Figura 26. Curva de inactivación con materia orgánica en agua del SHADE a 10² UFC/mL.

En el tiempo 240 min, la desinfección fue total con un recuento de 0 UFC/mL en todas las placas. Se denota de manera visual el comportamiento de la disminución microbiana en la Figura 26 al encontrarse por debajo de los límites máximos permisibles para reúso de agua en contacto indirecto con el público a partir del tiempo 60 min y para el reúso en contacto directo hasta el último tiempo evaluado (240 min). De acuerdo con los resultados numéricos, con una DQO de 77 mgO₂/L cada dos tiempos evaluados hay un descenso de un orden de magnitud hasta llegar a la desinfección total de *E. coli*. Se observa respuesta logarítmica lineal con tendencia a hacerse asintótica a mayor tiempo de contacto.

Tabla 12. Resultados efecto de la materia orgánica con *E. coli* (10^2 UFC/mL) en agua del PTARCA

| Tiempo (min) | Control (UFC/mL) | | | Promedio control (UFC/mL) | Desviación estándar ($\pm s$) | AMN (UFC/mL) | | | Promedio AMN (UFC/mL) | Desviación estándar ($\pm s$) |
|--------------|------------------|-----|-----|---------------------------|---------------------------------|--------------|-----|-----|-----------------------|---------------------------------|
| | | | | | | | | | | |
| 0 | 770 | 810 | 800 | 793 | 21 | 770 | 810 | 800 | 793 | 21 |
| 20 | 710 | 550 | 680 | 647 | 85 | 250 | 400 | 360 | 337 | 78 |
| 30 | 620 | 530 | 550 | 567 | 47 | 150 | 190 | 100 | 147 | 45 |
| 40 | 350 | 440 | 510 | 433 | 80 | 50 | 80 | 60 | 63 | 15 |
| 60 | 450 | 450 | 480 | 460 | 17 | 40 | 70 | 0 | 37 | 35 |
| 120 | 830 | 460 | 530 | 607 | 197 | 0 | 50 | 20 | 23 | 25 |
| 240 | 850 | 240 | 440 | 510 | 311 | 0 | 10 | 10 | 7 | 6 |

Muestreo por triplicado n=3



(DOF, 1997)

Figura 27. Curva de inactivación con materia orgánica en agua de la PTARCA a 10^2 UFC/mL.

Bajo los tiempos evaluados no se consiguió una desinfección total (Tabla 12), sin embargo, al tiempo 240 min la concentración de microorganismos alcanzó los

límites máximos permitidos para el reúso del agua en contacto indirecto con el público, empero, esto no sucedió a ningún tiempo evaluado para el reúso en contacto directo de acuerdo con la Figura 27.

En la Tabla 12 se visualiza que con una DQO de 153 mgO₂/L hay un descenso de *E. coli* en un orden de magnitud cada tres tiempos evaluados.

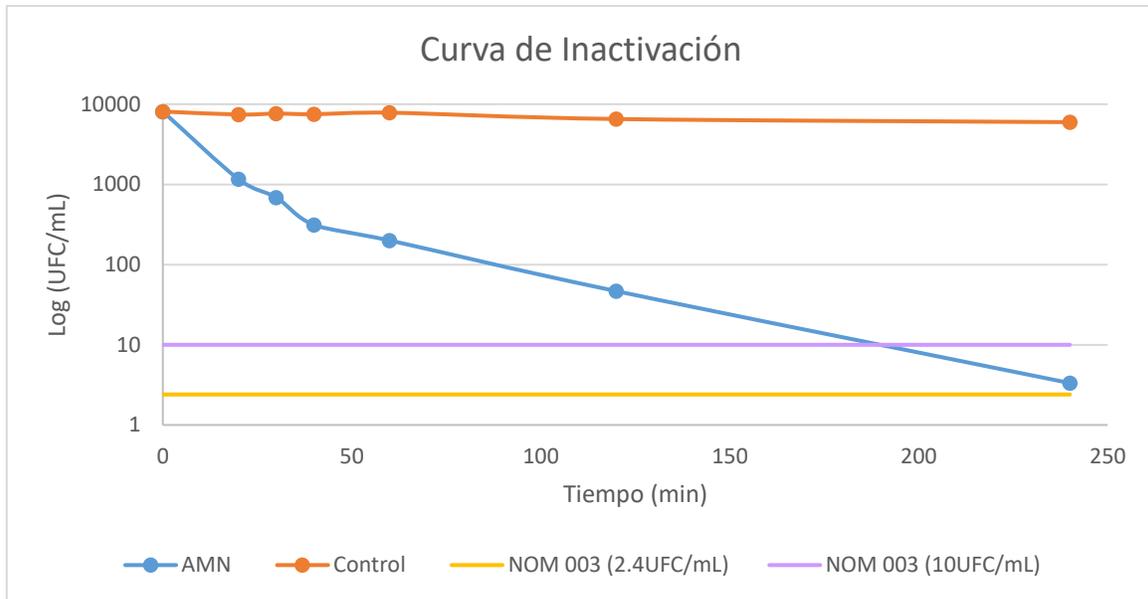
6.3.2 Efecto de la materia orgánica con *E. coli* 10³ UFC/mL

A continuación, se presentan los resultados del efecto de la materia orgánica en presencia de *E. coli* 10³ UFC/mL con ARTPBE provenientes de los efluentes de tratamiento biológico SHADE y PTARCA.

Tabla 13. Resultados efecto de la materia orgánica con *E. coli* (10³ UFC/mL) en agua del SHADE

| Tiempo (min) | Control (UFC/mL) | | | Promedio control (UFC/mL) | Desviación estándar (±s) | AMN (UFC/mL) | | | Promedio AMN (UFC/mL) | Desviación estándar (±s) |
|--------------|------------------|------|------|---------------------------|--------------------------|--------------|------|------|-----------------------|--------------------------|
| | | | | | | | | | | |
| 0 | 8200 | 8500 | 7600 | 8100 | 458 | 8200 | 8500 | 6500 | 7733 | 1079 |
| 20 | 7600 | 6500 | 8200 | 7433 | 862 | 1500 | 1020 | 970 | 1163 | 293 |
| 30 | 8700 | 7000 | 7200 | 7633 | 929 | 800 | 500 | 760 | 687 | 163 |
| 40 | 8300 | 8300 | 5900 | 7500 | 1386 | 350 | 290 | 300 | 313 | 32 |
| 60 | 7900 | 7500 | 8100 | 7833 | 306 | 180 | 320 | 100 | 200 | 111 |
| 120 | 7600 | 8000 | 4000 | 6533 | 2203 | 0 | 60 | 80 | 47 | 42 |
| 240 | 6500 | 6200 | 5200 | 5967 | 681 | 0 | 10 | 0 | 3 | 6 |

Muestreo por triplicado n=3



(DOF, 1997)

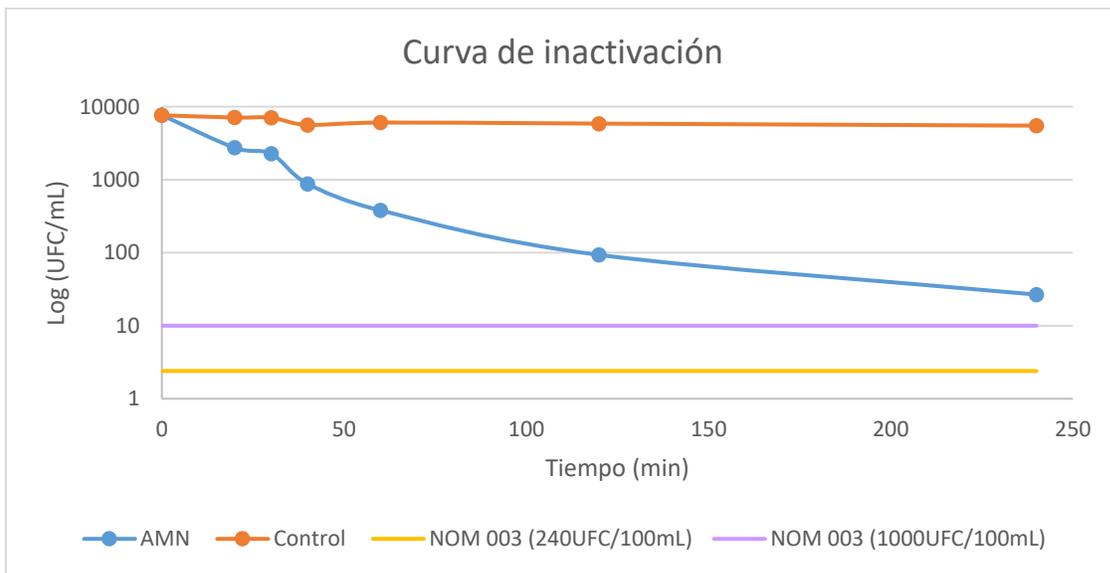
Figura 28. Curva de inactivación con materia orgánica en agua del SHADE a 10^3 UFC/mL.

Bajo los tiempos evaluados no se consiguió una desinfección total (Tabla 13), sin embargo, al tiempo 240 min la concentración de microorganismos alcanzó a los límites máximos permitidos para el reúso del agua en servicios al público en contacto indirecto, empero, esto no sucedió para el reúso en contacto directo en ningún tiempo evaluado (Figura 28).

Tabla 14. Resultados efecto de la materia orgánica con *E. coli* (10^3 UFC/mL) en agua del PTARCA

| Tiempo (min) | Control (UFC/mL) | | | Promedio control (UFC/mL) | Desviación estándar ($\pm s$) | AMN (UFC/mL) | | | Promedio AMN (UFC/mL) | Desviación estándar ($\pm s$) |
|--------------|------------------|------|------|---------------------------|---------------------------------|--------------|------|------|-----------------------|---------------------------------|
| | | | | | | | | | | |
| 0 | 8500 | 7500 | 6900 | 7633 | 808 | 8500 | 7500 | 6900 | 7633 | 808 |
| 20 | 7600 | 7700 | 6000 | 7100 | 954 | 2900 | 2300 | 3010 | 2737 | 382 |
| 30 | 7400 | 6800 | 7000 | 7067 | 306 | 1500 | 2500 | 2800 | 2267 | 681 |
| 40 | 5800 | 7100 | 4000 | 5633 | 1557 | 800 | 830 | 1010 | 880 | 114 |
| 60 | 6000 | 7200 | 5000 | 6067 | 1102 | 500 | 290 | 350 | 380 | 108 |
| 120 | 6800 | 5200 | 5600 | 5867 | 833 | 150 | 50 | 80 | 93 | 51 |
| 240 | 6500 | 5400 | 4600 | 5500 | 954 | 0 | 30 | 50 | 27 | 25 |

Muestreo por triplicado n=3



(DOF, 1997)

Figura 29. Curva de inactivación con materia orgánica en agua de la PTARCA a 10^3 UFC/mL

En la Figura 29, se denota que bajo los tiempos evaluados no se alcanzó una desinfección total y la concentración de microorganismos no se acercó a los límites máximos permitidos para el reúso del agua en servicios al público tanto en contacto directo como indirecto.

6.4 EVALUACIÓN DE PORCENTAJE DE REMOCIÓN DE UNA COLUMNA EMPACADA CON AMN

La finalidad de este experimento fue obtener datos para el diseño de un filtro desinfectante empacado con AMN. Se seleccionó la concentración de *E. coli* a inocular (10^2 UFC/mL) de acuerdo con el número de bacterias encontradas en los efluentes de tratamiento biológico PTARCA y SHADE. Se inoculó 1 L de ARTPBE proveniente del efluente del SHADE cuando en este no había recirculación del agua y las bombas no operaban de manera correcta por lo que la DQO fue de 150 mgO₂/L.

De acuerdo con los resultados del efecto de la materia orgánica el tiempo donde ocurre mayor desinfección es a los 240 min por lo que el agua permaneció en la columna durante ese tiempo. Se obtuvieron los siguientes resultados:

Tabla 15. Resultados de la evaluación del porcentaje de desinfección de una columna empacada con AMN.

| | Entrada | | | Salida | | |
|----------------------------------|---------|-----|-----|--------|-----|-----|
| <i>Escherichia coli</i> (UFC/mL) | 490 | 410 | 500 | 320 | 370 | 390 |
| Desviación estándar ($\pm s$) | 49 | | | 36 | | |
| Promedio (UFC/mL) | 467 | | | 383 | | |
| Porcentaje de desinfección | 17.9% | | | | | |

Muestreo por triplicado n=3

La concentración de microorganismos no disminuyó ni un orden de magnitud tras su paso por la columna (Tabla 15) y por lo tanto tampoco alcanzó los límites máximos permitidos para el reúso del agua en servicios al público conforme a la NOM-003-SEMARNAT-1997.

7 ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

7.1 EVALUACIÓN DE LA VIABILIDAD DE *Escherichia coli* EN PRESENCIA DE AMN

La viabilidad microbiológica se define como la capacidad de crecimiento activo, dando como resultado la formación de una colonia sobre medio sólido o turbidez visible en medio líquido (Prescott et al., 2004a). Bajo esta premisa, la pérdida de viabilidad consiste en la ausencia de crecimiento bacteriano sobre el medio de cultivo empleado, y es posible inferir que esto se encuentra directamente relacionado con la exposición de *E. coli* al agente desinfectante (AMN), debido a esta interacción se produce la inactivación o destrucción celular inhibiendo el crecimiento bacteriano. Dada esta circunstancia, se relaciona la pérdida de viabilidad con el proceso de desinfección.

La SSI al 0.85% preserva la integridad celular al mantener la osmolaridad de la célula gracias a su concentración de NaCl (Fox Ira, 2011). Esto permite la supervivencia celular y como resultado *E. coli* se muestra en números constantes en ausencia de AMN.

En esta sección se realizó la transformación de los datos obtenidos en resultados para su análisis y discusión.

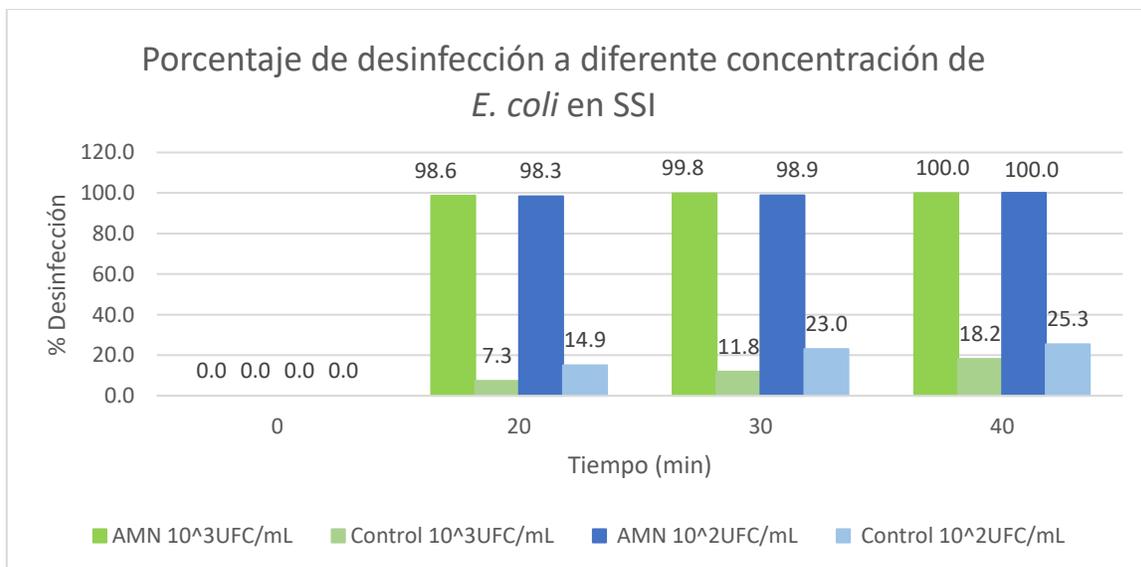
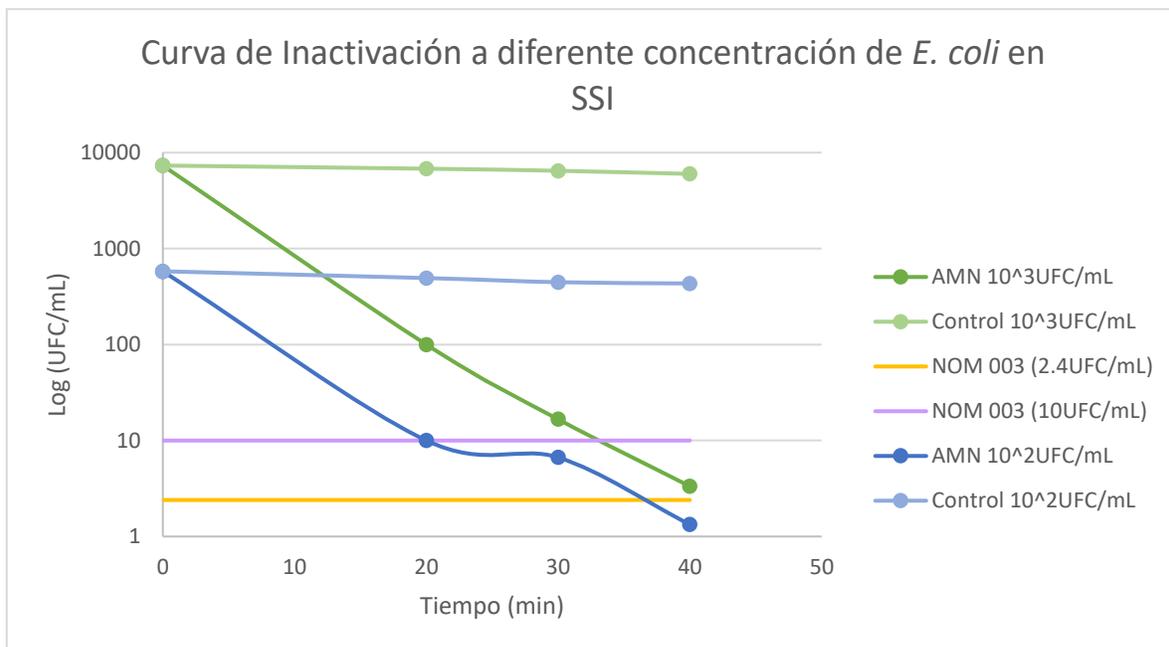


Figura 30. Gráfico de barras del porcentaje de desinfección en SSI.

A partir del primer tiempo evaluado (20 min), en ambas concentraciones, el porcentaje de desinfección es de 98% (Figura 30) disminuyendo al menos un orden de magnitud la concentración de microorganismos inoculados inicialmente. Por lo que el tiempo de contacto, para la desinfección de un orden de magnitud, en ausencia de materia orgánica partiendo de *E. coli* 10^2 UFC/mL y 10^3 UFC/mL con 1 g de AMN en 10 mL de SSI es de 20 min.

De acuerdo con las curvas de inactivación (Figura 31) y al gráfico de barras del porcentaje de desinfección (Figura 30) el AMN finge como agente desinfectante, concordante con Miranda Ríos (2005) y López Magaña (2018), en estas condiciones evaluadas y permite llegar a los niveles establecidos por la Norma Oficial Mexicana NOM-003-SEMARNAT-1997 (DOF, 1997).



(DOF, 1997)

Figura 31. Curva de inactivación a diferente concentración de *E. coli* en SSI.

En ambas curvas de inactivación se observa una tendencia logarítmica lineal de desinfección. En el orden de 10^3 UFC/mL la tendencia se mantiene mientras que en el orden 10^2 UFC/mL comienza una meseta a partir del tiempo 20 min hasta el tiempo 30 min, esto debido a que al haber menor concentración de microorganismos

la probabilidad de contacto entre estos y el AMN disminuye, por lo que el proceso de desinfección se equilibra entre los microorganismos vivos y los muertos.

7.1.1 Constante de rapidez de inactivación

Se calculó la constante de rapidez de inactivación o tasa de decaimiento, siendo este un indicador de la rapidez con que una población reduce su número de elementos ya que evalúa el cambio de la concentración de microorganismos con respecto al tiempo. Dicha constante está representada por k , siendo la pendiente de la regresión lineal, de acuerdo con la ecuación de la cinética de desinfección propuesta por Chick, y considerando hasta donde termina la linealidad (tiempo 30 min). Los resultados obtenidos (Figura 32) son de $0.205/t$ y $0.157/t$ para 10^3 UFC/mL y 10^2 UFC/mL, respectivamente. A mayor pendiente mayor cambio en la concentración de bacterias iniciales con respecto al tiempo, y por lo tanto a mayor pendiente (negativa) mayor rapidez de desinfección. En este caso, la desinfección es más rápida cuando la concentración de bacterias es de 10^3 UFC/mL en comparación con 10^2 UFC/mL. Esto se debe a que, a mayor concentración de bacterias, aumenta la probabilidad de que entren en contacto con el agente desinfectante, en otras palabras, la probabilidad de interacción entre *E. coli* y el AMN aumenta de manera proporcional a la abundancia de microorganismos.

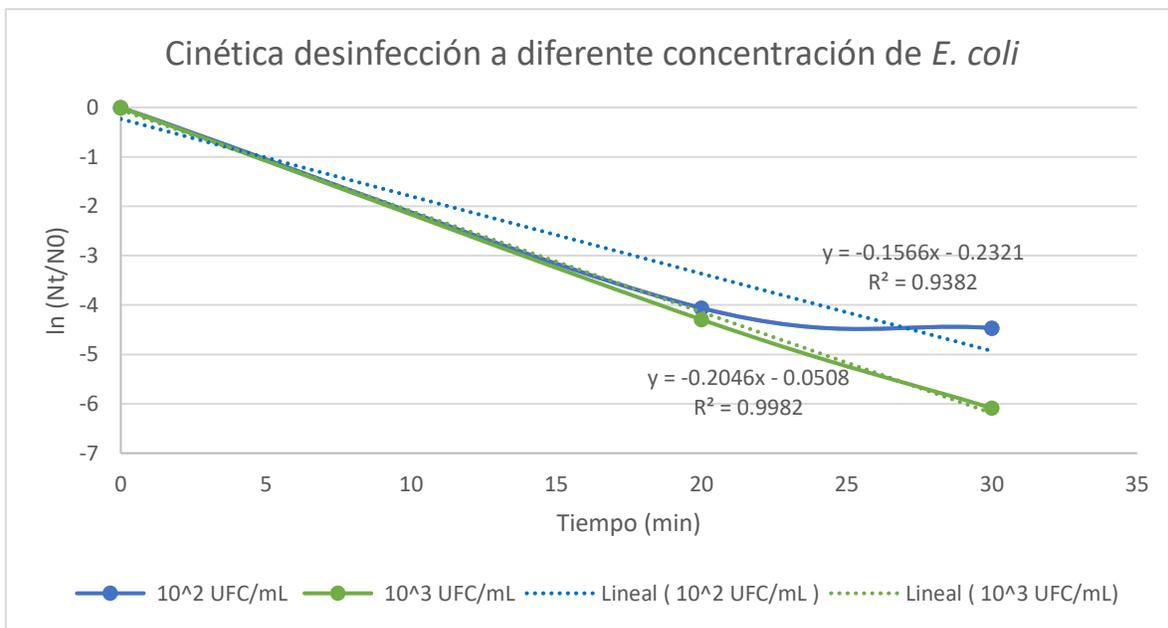


Figura 32. Cinética de desinfección de *E. coli* en SSI 10^2 UFC/mL y 10^3 UFC/mL.

7.1.2 Efecto del aumento de la concentración de *E. coli* sobre la desinfección

Tabla 16. Tabla comparativa 10^2 UFC/mL y 10^3 UFC/mL en SSI.

| Concentración <i>E. coli</i> | Tiempo 30min |
|------------------------------|---------------------------|
| | Constante de inactivación |
| 10^2 UFC/mL | 0.157/min |
| 10^3 UFC/mL | 0.205/min |

Los datos al tiempo 40 min (Figura 31) demuestran que se requiere mayor cantidad de tiempo de contacto para alcanzar la desinfección cercana a los límites máximos de reúso de agua en contacto directo con el público en el orden de 10^3 UFC/mL (a pesar de tener mayor rapidez de desinfección al tiempo 30 min) que en 10^2 UFC/mL. Esto puede interpretarse como que el poder desinfectante del AMN depende de la concentración de microorganismos evaluados, por lo que a mayor concentración de bacterias se requiere mayor tiempo de contacto para la desinfección.

Se evidencia que el AMN no se satura ni pierde su funcionalidad desinfectante en ausencia de materia orgánica en los órdenes evaluados de *E. coli* puesto que al tiempo 40 min 10^2 UFC/mL y 10^3 UFC/mL alcanzaron una desinfección casi total con 0 UFC/mL y 3 UFC/mL respectivamente.

Se observa que la tendencia de rapidez de la desinfección, hasta el tiempo 30 min (Tabla 16), que se adecua en el modelo de regresión lineal, (zona con tendencia logarítmica lineal) es aproximadamente dos veces mayor en un orden de 10^3 UFC/mL porque al tener más concentración de microorganismos estos tienen mayor probabilidad contacto con el AMN que el orden de 10^2 UFC/mL.

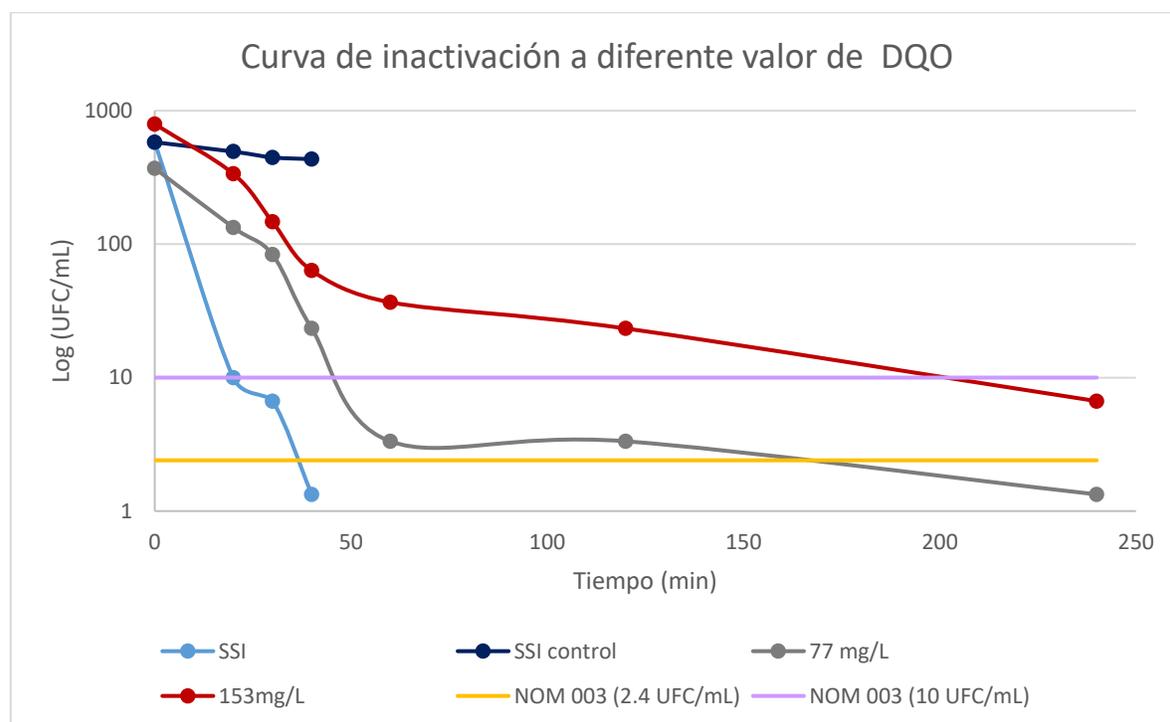
7.2 EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LA MATERIA ORGÁNICA

Los compuestos orgánicos generalmente están constituidos principalmente por oxígeno, carbono, hidrógeno. Esencialmente los constituyentes de la materia orgánica en aguas residuales son proteínas (40-60%), carbohidratos (25-50%) y grasas y aceites (8-12%). La urea es otro compuesto orgánico importante, sin embargo, debido a su rápida descomposición a nitrógeno amoniacal, comúnmente solo está presente en agua residual fresca. Además de los componentes

mencionados, el agua residual también contiene pequeñas cantidades de una gran variedad de moléculas orgánicas sintéticas de estructuras simples hasta complejas, provenientes de medicamentos no utilizados, productos de higiene personal, de limpieza y de mantenimiento del hogar. (Metcalf & Eddy I AECOM, 2014a).

La concentración de materia orgánica que se utilizó en el ARTPBE medida con la técnica DQO fue de 77 mgO₂/L y 153 mgO₂/L proveniente del SHADE y de la PTARCA, respectivamente.

7.2.1 Inóculo 10² UFC/mL



(DOF, 1997)

Figura 33. Curva de Inactivación a diferente DQO para 10² UFC/mL.

En ambas concentraciones de materia orgánica en un principio se ve un comportamiento de retraso o de hombro (Figura 33), donde el desinfectante reacciona primero con los constituyentes en el líquido, seguido de una respuesta logarítmica lineal hasta el tiempo 60 min, donde inicia una meseta. Ambos comportamientos se relacionan con la presencia de partículas (materia orgánica) que hacen la función de “proteger” a los microorganismos del contacto con el agente desinfectante. Posteriormente, las bacterias son inactivadas una vez que se

encuentran dispersas, razón por la cual la tendencia de la pendiente de la curva permanece negativa. Por el contrario, en ausencia de materia orgánica (SSI) se observó un comportamiento de desinfección (pendiente negativa) logarítmico lineal.

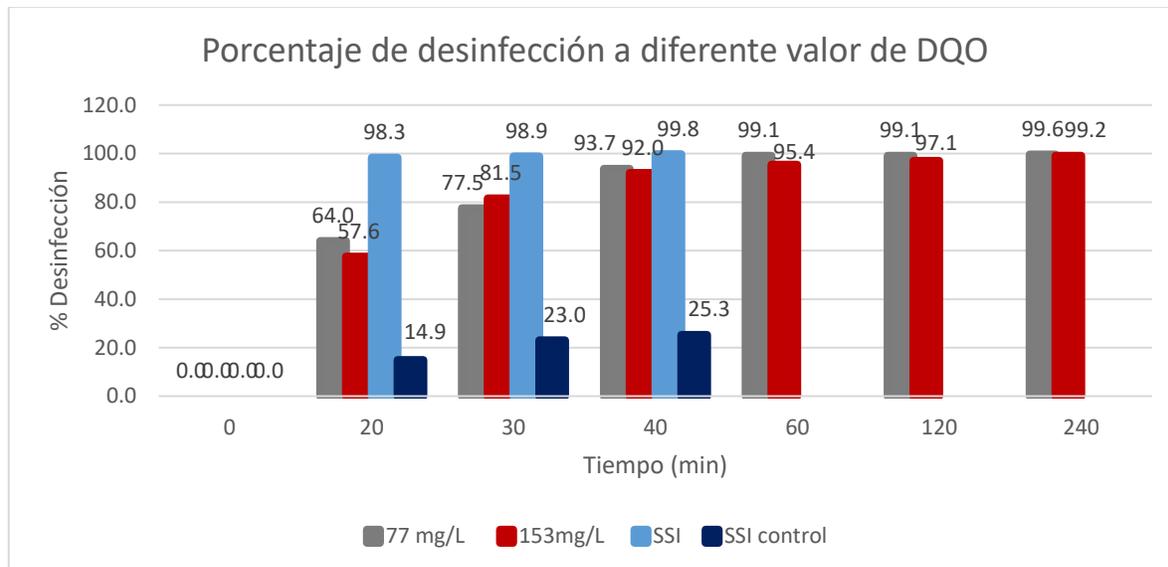


Figura 34. Gráfico de barras del porcentaje de desinfección a diferente DQO para *E. coli* 10² UFC/mL.

La presencia de la materia orgánica influye en el tiempo de contacto necesario para llegar a un porcentaje de desinfección del 99% en las condiciones evaluadas. Para DQO 77 mgO₂/L el 99% de desinfección (≤7UFC/mL remanentes) ocurrió en el tiempo 60 min, mientras que para 153 mgO₂/L fue en el tiempo 240 min, esto en comparación con el control de SSI (sin materia orgánica) que ocurrió en el tiempo 40 min (Figura 34). Todo lo anterior indica y corrobora que la materia orgánica influye en el proceso de desinfección del agua, donde a mayor concentración de materia orgánica, mayor es el tiempo de contacto necesario para la desinfección, la relación es directamente proporcional en el intervalo de concentraciones evaluado.

La diferencia entre la concentración de materia orgánica también influye en la obtención de la calidad del agua con valores acorde a la norma para el reúso del agua en contacto indirecto con el público, como se señala en la curva de inactivación (Figura 33). En este sentido, la menor concentración de materia orgánica medida como DQO evaluada, llegó a ese nivel en 60 min, mientras que la concentración de DQO de 153 mg O₂/L fue en el tiempo 240 min. En comparación con el control, sin

materia orgánica (SSI) que ocurrió al tiempo 20 min. Lo mismo sucede para los límites máximos para el reúso del agua en contacto directo con el público, donde para concentraciones de DQO de 153 mgO₂/L no sucedió en los tiempos evaluados. Para valores de DQO de 77 mgO₂/L ocurrió en el tiempo 240 min y para el control sin materia orgánica, en un tiempo 40 min. Esto refuerza lo mencionado previamente, que a mayor concentración de materia orgánica mayor es el tiempo requerido para que la desinfección alcance niveles normativos para su reúso en servicios al público.

7.2.2 Constante de rapidez de inactivación inóculo 10² UFC/mL

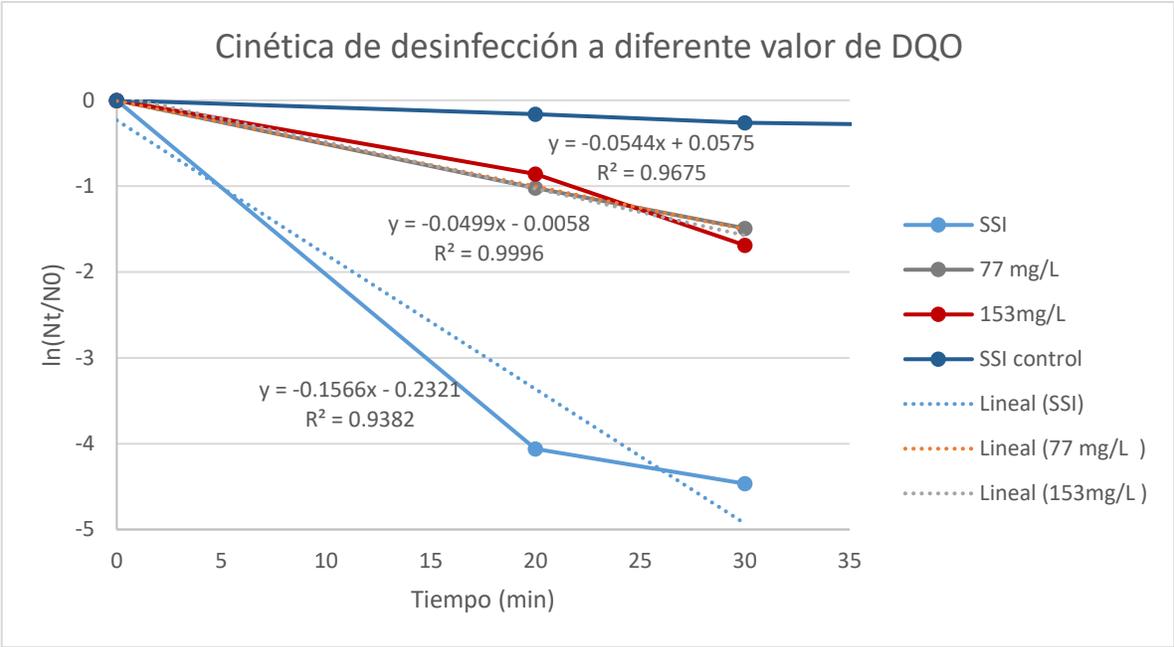


Figura 35. Cinética de desinfección a diferente valor de DQO para 10²UFC/mL durante tiempo 30 min. SSI control: sin AMN

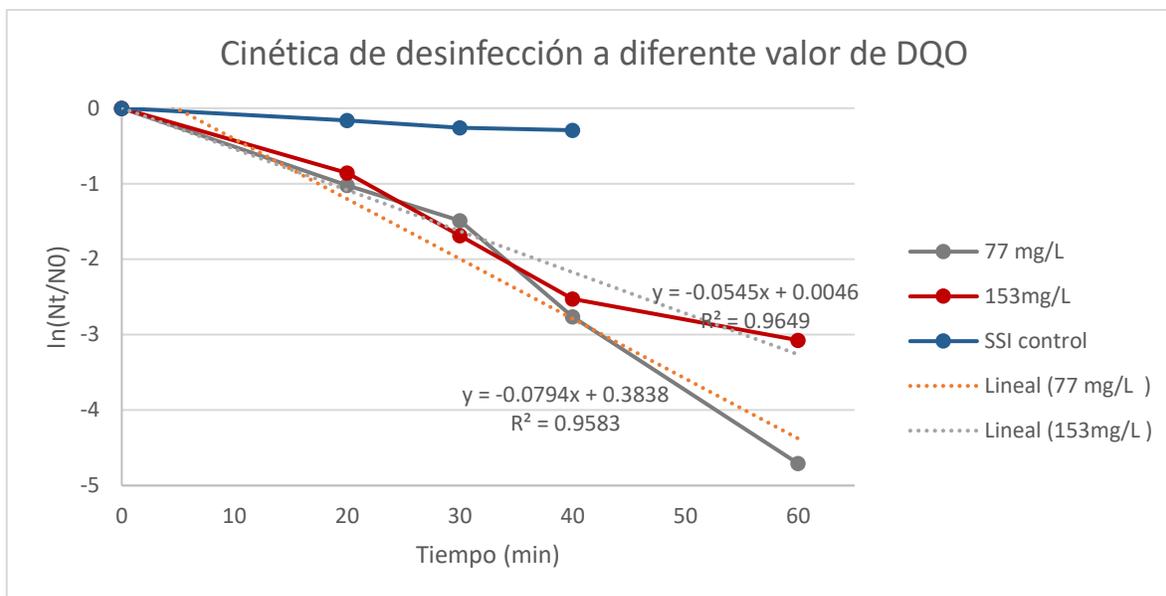


Figura 36. Cinética de desinfección a diferente valor de DQO para 10^2 UFC/mL durante tiempo 60 min. SSI control: sin AMN

Tabla 17. Tabla comparativa de *E. coli* 10^2 UFC/mL al tiempo 30min y 60min.

| Tiempo 30 min | | |
|-----------------|----------------------------|---------------------------|
| Tratamiento/DQO | Porcentaje de desinfección | Constante de inactivación |
| SSI | 98.9% | 0.157/min |
| 77 mg/L | 77.5% | 0.050/min |
| 153 mg/L | 81.5% | 0.054/min |
| Tiempo 60 min | | |
| 77 mg/L | 99.1% | 0.079/min |
| 153 mg/L | 95.4% | 0.055/min |

La rapidez y porcentaje de desinfección disminuye con la materia orgánica presente. En la Tabla 17 y Figura 35 se observa que comparando en el tiempo 30 min con el control de SSI, ambas concentraciones de materia orgánica evaluadas presentan un menor porcentaje de desinfección y menor constante de inactivación indicando una disminución en la rapidez, esto señala que la materia orgánica interfiere en el

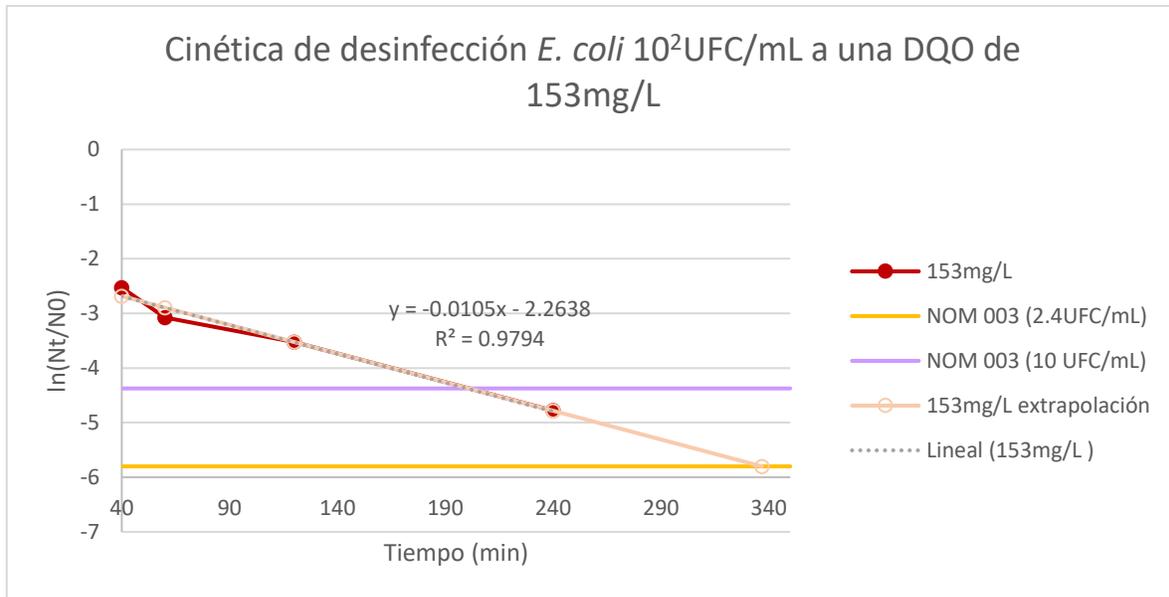
proceso de desinfección afectando la concentración de microorganismos inactivados y la rapidez en que esto sucede.

En el tiempo 60 min comparamos ambos valores de DQO (ya que para ese tiempo en ambas concentraciones de materia orgánica la regresión lineal se ajusta mejor con r^2 de 0.97 y 0.96), se visualiza que a mayor concentración de materia orgánica menor porcentaje de desinfección ya que los valores fueron de 99.1% y 95.4% con 3 UFC/mL y 37 UFC/mL para la DQO de 77 mgO₂/L y 153 mgO₂/L respectivamente (Figura 34); la rapidez también disminuyó al aumentar la concentración de materia orgánica, el valor de la constante de inactivación fue de 0.079/min y 0.055/min para 77 mgO₂/L y 153 mgO₂/L en el orden dado, esto nos demuestra que la relación entre la concentración de materia orgánica y la rapidez así como el porcentaje de desinfección son inversamente proporcionales. Cabe denotar que esto no se cumple para el tiempo 30 min ya que se observa que hay un mayor porcentaje de desinfección a mayor DQO, esto es posible ya que el agente desinfectante utilizado (AMN) a pesar de que se trató de homogenizar al lavarlo, tamizarlo y seleccionarlo por el método de cuartiles, el material per sé no es homogéneo en su composición por lo que para el matraz de 153 mgO₂/L con el 1 g de AMN podría tener mayor cantidad de metales que el evaluado con 77 mgO₂/L, a pesar de que ambos matraces tenían la misma concentración del agente desinfectante y de microorganismos.

Para conocer la cantidad de tiempo de contacto necesario para que la desinfección de *E. coli* 10² UFC/mL con un valor de DQO de 153 mgO₂/L (Figura 37) alcance los límites permisibles para el reúso del agua en servicios al público se calculó la pendiente de la meseta a partir del tiempo 40 min ya que a partir de ese tiempo se obtuvo una r^2 de 0.98 bajo la ecuación:

Ecuación 8. Ecuación de meseta a partir tiempo 40 min para E. coli 10² UFC/mL a una DQO de 153 mgO₂/L.

$$y = -0.0105x - 2.2638$$



(DOF, 1997)

Figura 37. Cinética de desinfección para *E. coli* 10² UFC/mL a una DQO de 153 mgO₂/L.

Con la ecuación anterior (Ec 8) y de acuerdo con los datos a las condiciones experimentales se realizó una extrapolación donde se calculó que se requiere un tiempo de contacto de 337 min que es equivalente a 5.6 horas (Ec 9) para desinfectar *E. coli* 10² UFC/mL con 153 mgO₂/L de DQO en 10 mL con 1 g de AMN de 2 mm y que el agua alcance el límite máximo de coliformes fecales permisible para su reúso en contacto directo con el público de acuerdo con la NOM-003-SEMARNAT-1997 (DOF, 1997).

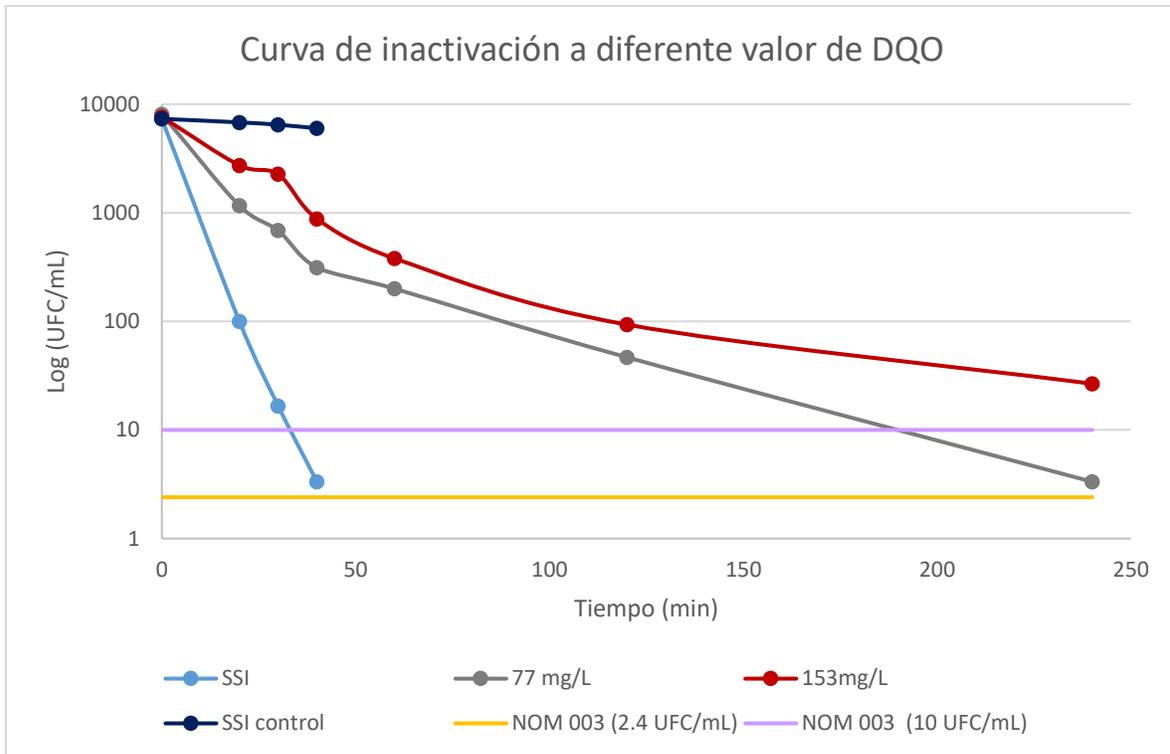
Ecuación 9. Cálculo tiempo de desinfección para *E. coli* 10² UFC/mL a una DQO de 153 mgO₂/L.

$$x = \frac{y - b}{m}$$

$$x = \frac{(-5.8007 - (-2.2638))}{-0.0105} = 336.8476 \text{ min}$$

$$-5.8007 = \ln\left(\frac{Nt}{N0}\right)$$

7.2.3 Inóculo 10³ UFC/mL



(DOF, 1997)

Figura 38. Curva de inactivación a diferente DQO para 10^3 UFC/mL. SSI control: sin AMN

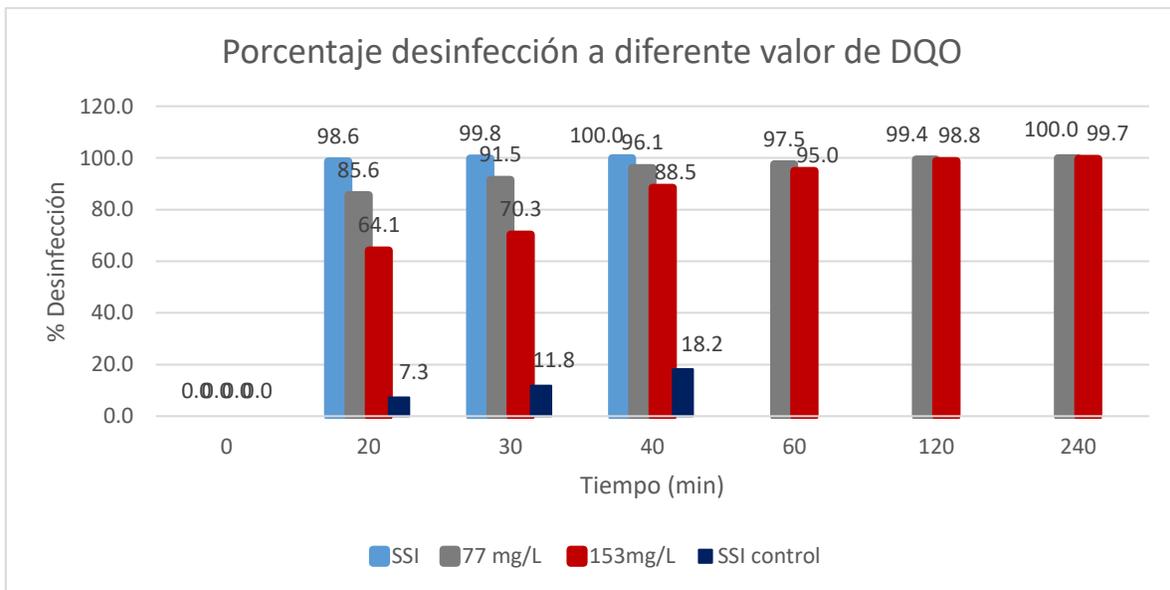


Figura 39. Gráfico de barras del porcentaje de desinfección a diferente DQO para $E. coli$ 10^3 UFC/mL. SSI control: sin AMN

El comportamiento denotado en la curva de inactivación es similar a lo descrito para el orden de magnitud de *E. coli* 10^2 UFC/mL a excepción que la gráfica se recorre ligeramente a la derecha, indicando el aumento del tiempo de contacto para alcanzar la misma concentración de microorganismos.

Para el orden de magnitud de *E. coli* 10^3 UFC/mL solamente cumplió con los límites máximos para el reúso del agua en servicios al público tanto para contacto directo como indirecto para la mínima DQO evaluada al último tiempo evaluado como se denota en la Figura 38, esto a comparación de la ausencia de materia orgánica (SSI) donde el agua entra en niveles normativos a partir del tiempo 40 min.

En la Figura 39 se denota que el porcentaje de desinfección disminuye a medida que la concentración de materia orgánica aumenta, por ejemplo; para el tiempo 40 min el porcentaje de desinfección es de 100.0, 96.1 y 88.5% para SSI, DQO 77 mgO_2/L y 153 mgO_2/L con 3, 313 y 880 UFC/mL remanentes respectivamente, esto nos señala que la concentración de materia orgánica interfiere de manera inversamente proporcional a la desinfección, es decir; a mayor concentración de materia orgánica menor desinfección. En este mismo gráfico, se expresa que, para alcanzar un mayor porcentaje de desinfección, en presencia de materia orgánica, se requiere más tiempo de contacto ya que el porcentaje de desinfección del 99% se alcanza para valores de DQO de 77 mgO_2/L en el tiempo 120 min, mientras que para concentraciones de DQO de 153 mgO_2/L sucede en el tiempo 240 min. Es en este mismo tiempo evaluado que para DQO 77 mgO_2/L se inactivaron prácticamente todos los microorganismos con un dato final de 3 UFC/mL remanentes.

7.2.4 Constante de rapidez de inactivación inóculo 10^3 UFC/mL

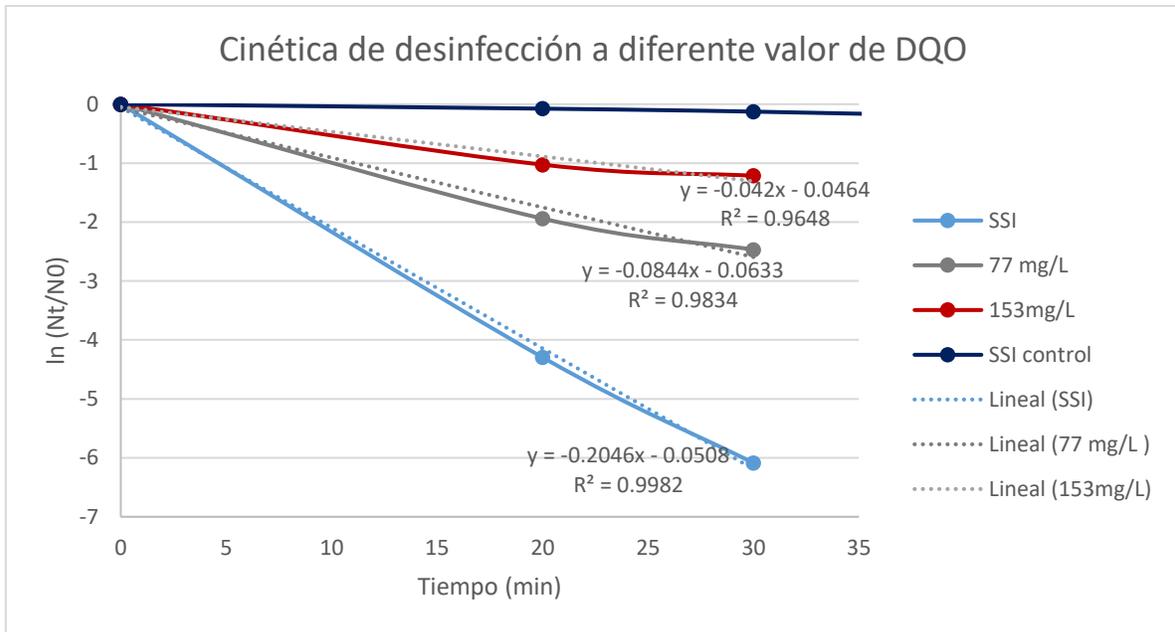


Figura 40. Cinética de desinfección a diferente valor de DQO para 10^3 UFC/mL hasta el tiempo 30 min. SSI control: sin AMN

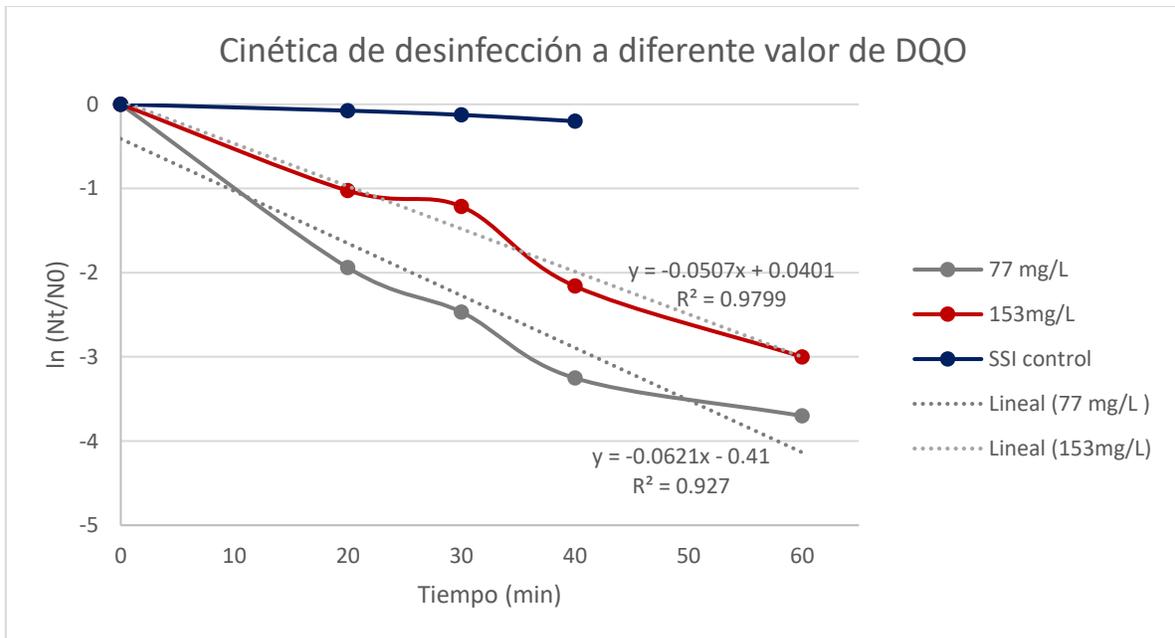


Figura 41. Cinética de desinfección a diferente DQO para 10^3 UFC/mL para tiempo 60 min. SSI control: sin AMN

Tabla 18. Tabla comparativa de *E. coli* 10³ UFC/mL al tiempo 30 min y 60 min.

| Tiempo 30 min | | |
|-----------------|----------------------------|---------------------------|
| Tratamiento/DQO | Porcentaje de desinfección | Constante de inactivación |
| SSI | 99.8 | 0.205/min |
| 77 mg/L | 91.5 | 0.084/min |
| 153 mg/L | 70.3 | 0.042/min |
| Tiempo 60 min | | |
| 77 mg/L | 97.5 | 0.062/min |
| 153 mg/L | 95.0 | 0.051/min |

En el tiempo 30 min (Tabla 18) se observa como el porcentaje de desinfección disminuye a medida que incrementa la concentración de materia orgánica de 99.8, 91.5 y 70.3% con SSI, DQO de 77 mgO₂/L y de 153 mgO₂/L, respectivamente. De la misma forma, la constante de inactivación se reduce (0.205/min, 0.084/min y 0.042/min) y con ello la rapidez de desinfección, a medida que aumenta la concentración de materia orgánica (SSI, DQO 77 mg/L y 153 mg/L). Esto también se observa en el tiempo 60 min.

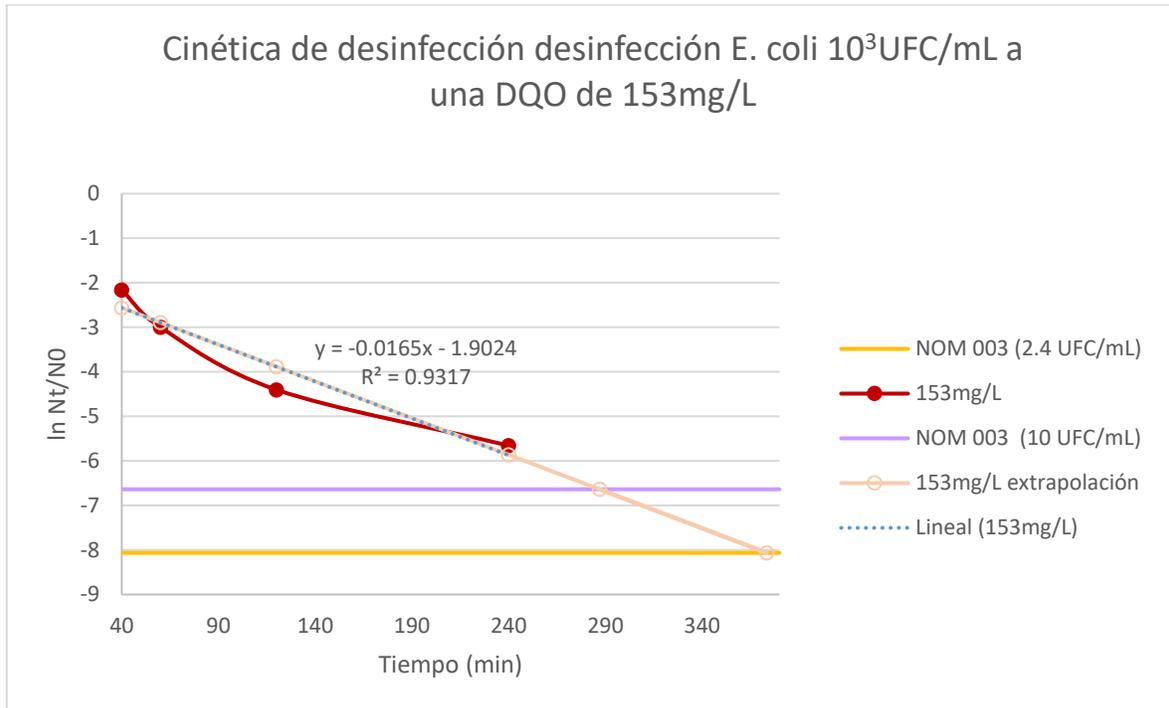
De manera general, a mayor concentración de materia orgánica, menor desinfección y menor constante de inactivación por lo que hay menor rapidez. Esto quiere decir que la concentración de materia orgánica induce un efecto desinfectante inversamente proporcional y reduce la rapidez de la misma, lo cual concuerda con lo ocurrido con el experimento realizado con el inóculo de 10² UFC/mL.

Se determinó la cantidad de tiempo de contacto necesario para que la desinfección de *E. coli* 10³ UFC/mL con un valor de DQO de 153 mgO₂/L alcance los límites máximos permisibles para el reúso del agua en servicios al público para contacto directo (2.4 UFC/mL) e indirecto (10UFC/mL) como se indica en la Figura 42 (DOF,

1997). Para esto se calculó la pendiente de la meseta a partir del tiempo 40 min ya que se obtuvo una r^2 de 0.93 con la ecuación:

Ecuación 10. Ecuación de meseta para *E. coli* 10^3 UFC/mL a una DQO de $153 \text{ mgO}_2/\text{L}$.

$$y = -0.0165x - 1.9024$$



(DOF, 1997)

Figura 42. Cinética de desinfección para *E. coli* 10^3 UFC/mL a una DQO de $153 \text{ mgO}_2/\text{L}$.

De acuerdo con la ecuación 10 y los datos obtenidos bajo las condiciones experimentales establecidas, se realizó una extrapolación calculando que se requiere un tiempo de contacto de 373 min (6.3 horas) y de 287 min (4.87 horas) para lograr la eliminación de *E. coli* 10^3 UFC/mL en presencia de $153 \text{ mgO}_2/\text{L}$ de DQO en una muestra de agua de 10 mL conteniendo 1g de AMN de 2 mm de \varnothing , a un valor permisible para su reúso en contacto directo con el público y en contacto indirecto, respectivamente.

7.2.5 Efecto del aumento de la concentración de *E. coli* sobre la desinfección en presencia de materia orgánica

Tabla 19. Tabla comparativa de *E. coli* 10^3 UFC/mL y 10^2 UFC/mL al tiempo 60 min.

| Tiempo 60 min | | |
|------------------------------|----------|---------------------------|
| Concentración <i>E. coli</i> | DQO | Constante de inactivación |
| 10^2 UFC/mL | 77 mg/L | 0.079/min |
| | 153 mg/L | 0.055/min |
| 10^3 UFC/mL | 77 mg/L | 0.062/min |
| | 153 mg/L | 0.051/min |

Los valores hasta el tiempo 60 min (indicados en la Tabla 19), permiten observar que la concentración de microorganismos influye ligeramente en la constante de inactivación en presencia de materia orgánica. A una concentración de DQO 77 mgO₂/L y de 10^2 UFC/mL, la constante de inactivación tiene un valor de 0.079/min, mientras que para 10^3 UFC/mL es de 0.062/min. La diferencia de 0.017/min indica que para la concentración de 10^2 UFC/mL resulta ligeramente más rápido el proceso de desinfección que para 10^3 UFC/mL. Este mismo comportamiento se observa para valores de DQO de 153 mgO₂/L, donde hay una diferencia de 4×10^{-3} /min, siendo la rapidez ligeramente mayor para 10^2 UFC/mL. Esto evidencia que tanto la presencia de materia como la concentración de bacterias influye en la rapidez de desinfección.

7.3 MECANISMO DE DESINFECCIÓN

La inactivación o destrucción del microorganismo es posible debido a la interacción del AMN con *E. coli*. Esta interacción tiene dos vertientes: química y mecánica. La interacción química involucra el contacto de la bacteria con los iones metálicos presentes en el AMN tales como: Fe, Cu, Zn, Ti y Ag en su forma ionizada, mientras que la interacción mecánica está asociada a la abrasión que las estructuras del AMN

ejercen sobre el microorganismo del AMN dada la agitación a 142 RPM (Magaña López y Luna Pabello, 2018; Miranda Ríos y Luna Pabello, 2005).

7.3.1 Efecto químico con materia orgánica

La materia orgánica interfiere entre la interacción del microorganismo con el AMN por lo que el proceso de desinfección es menor y ocurre con mayor lentitud como se muestra en los porcentajes de desinfección y las constantes de inactivación, estas son dependientes de la concentración de materia orgánica.

La interferencia de la materia orgánica en la desinfección involucra muchos mecanismos, desde el impedimento espacial (ya que el espacio que ocupa la interacción agente desinfectante-microorganismo es sustituido por la materia orgánica “protegiendo” a la bacteria del contacto con el desinfectante (Metcalf & Eddy I AECOM, 2014c) por lo que la posibilidad de contacto entre el agente desinfectante y *E. coli* es disminuida), hasta la interacción con los metales presentes en el AMN. Lo anterior, debido a que la materia orgánica controla con frecuencia la especiación de metales, altera la carga superficial de las partículas, es adsorbida en las superficies minerales e interfiere con reacciones de disolución/precipitación de minerales, así como reacciones redox y fotoquímicas. La coordinación de metales con materia orgánica depende principalmente de la estructura de la materia orgánica y de la afinidad de los iones metálicos por los grupos funcionales como carboxilatos, aminas, fenoles y tioles (Aiken et al., 2011; Brantley et al., 2008). La presencia de cationes divalentes induce la formación de compuestos coordinados entre estos y la materia orgánica, tales como Zn y Cu, que se coordinan fuertemente con ligandos provenientes de los efluentes de plantas de tratamiento de aguas residuales de lodos activados convencionales, ligandos que eventualmente forman agregados que disminuyen la biodisponibilidad de los cationes metálicos (Chaminda et al., 2013; Watanabi Hitomi et al., 2023).

Dentro de la materia orgánica hay especies como alcoholes, grupos fenólicos, ácidos carboxílicos, grupos N-H, aminoácidos, proteínas y polisacáridos. La existencia de estas especies está asociada a la presencia de ácidos húmicos y fúlvicos, estos son compuestos orgánicos hidrofóbicos de color rojo pajizo que

derivan principalmente del suelo y las plantas. Se ha encontrado que del 3-28% de la materia orgánica corresponde a sustancias húmicas y fúlvicas disueltas en los efluentes de las plantas de tratamiento de aguas residuales. Los ácidos húmicos y fúlvicos poseen una gran variedad de grupos funcionales que permiten formar compuestos coordinados con iones metálicos, estos se adhieren a las superficies de las partículas metálicas generando un revestimiento que altera el contacto con el microorganismo. Aunado a esto, Sikora y Stevenson (1988) documentan que las moléculas con nitrógeno y azufre promueven las interacciones entre especies húmicas y plata (Moura et al., 2007; Tang et al., 2014; Watanabi Hitomi et al., 2023).

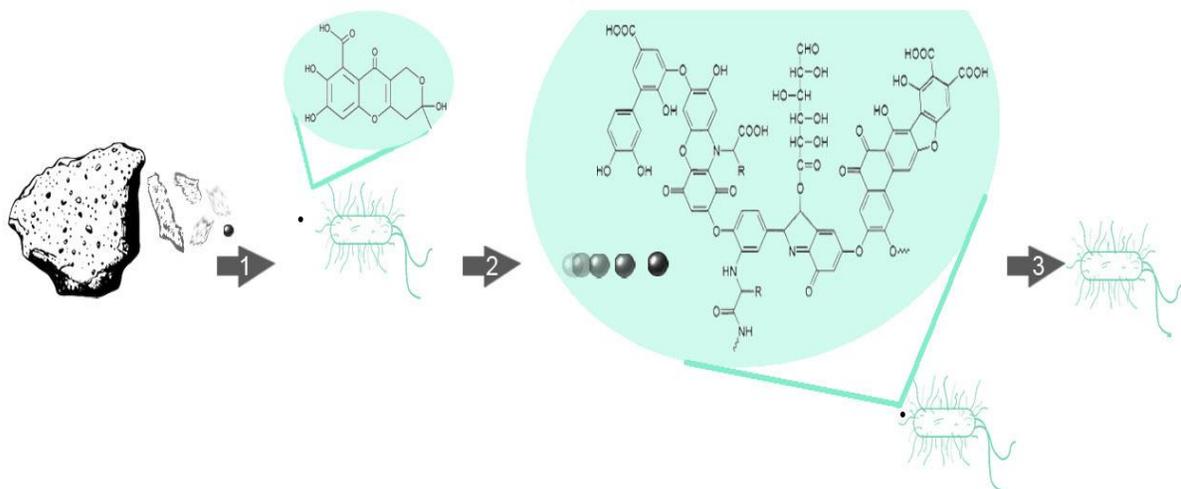


Figura 43. Interacción AMN con *E. coli* en presencia de materia orgánica. 1) Desprendimiento de iones metálicos del AMN. 2) Interacción del ion metálico con la materia orgánica. 3) Inhibición de la muerte celular. Elaboración en conjunto con Axel Macías, pasante de arquitectura de la UNAM.

En la Figura 43 se visualiza la interferencia de la materia orgánica en el proceso de desinfección de *E. coli* con el AMN, donde el ion metálico en lugar de interactuar con los componentes de la bacteria este se une a la materia orgánica (2) inhibiendo la destrucción o inactivación celular (3) “protegiendo” así al microorganismo del contacto con el agente desinfectante.

7.3.2 Efecto químico sin materia orgánica

El efecto químico tiene lugar al entrar en contacto el microorganismo con el metal, encontrándose este en la superficie del AMN o en su forma iónica en el medio acuoso; para que esta interacción suceda el agente desinfectante debe encontrarse disponible para el contacto, por lo que el metal debe estar biodisponible, este concepto está ligado a las condiciones fisicoquímicas del ambiente (Vullo, 2003). Los mecanismos potenciales de desinfección del AMN son vastos dada la presencia de distintos metales en el material. El Fe (metal de mayor concentración presente en el AMN) posee un efecto desinfectante mediante las siguientes formas: ruptura de la membrana celular e inducción de estrés oxidativo dada la formación de radicales hidroxilo y otras especies reactivas de oxígeno (ROS) mediante reacciones de Fenton o similares, causando la oxidación de los lípidos de membrana y otros constituyentes celulares. Aunado a su efecto desinfectante, este metal presenta baja toxicidad hacia los seres humanos por lo que es una ventaja para ser considerarlo como agente desinfectante (Magaña López y Luna Pabello, 2018; Qin et al., 2018; Suzuki et al., 2021).

El efecto de Ti, presente en forma de TiO_2 , en sistemas biológicos consiste en el daño que ocasionan las especies reactivas de oxígeno que se generan en la superficie de este mineral durante su actividad fotocatalítica. Esta consiste en la incidencia de luz que, como fuente de energía, desencadena reacciones de oxidación-reducción, y al estar en contacto con la superficie bacteriana ocasiona tanto la oxidación de los fosfolípidos de la membrana como el paso de los ROS al interior de la célula y, con ello, la muerte del microorganismo (Magaña López et al., 2021; Betancur Henao et al., 2016).

Las superficies de las células bacterianas poseen sitios cargados negativamente, estos tienden a unirse electrostáticamente con Ag^+ y Cu^{2+} , permitiendo la unión de estos metales con proteínas de la membrana celular y enzimas, promoviendo su inactivación y/o desnaturalización. Su acción directa radica en el bloqueo de actividades biológicas mediante inactivación enzimática, por la formación de enlaces entre el metal y cadenas laterales de los aminoácidos en las proteínas,

causando daños irreversibles al microorganismo (Pommerville, 2018; Vullo, 2003). Otro mecanismo de acción desinfectante es la acumulación de la plata en el interior de la célula debido el paso del ion a través de canales especializados para metales esenciales, lo cual ocurre debido a la similitud en carga y tamaño (Silvestry Rodríguez et al., 2007). En la Figura 44, se muestra la imagen de un acoplamiento molecular realizado con el software Golden representando la unión de Cu^{2+} con los aminoácidos: His, Asn, Arg, Asp, His, Asp y Thr, en la posición: 31, 33, 103, 105, 115, 116 y 117, respectivamente. Para ello, se utilizó una proteína transmembranal de *E. coli* bajo el código 1QJP del Protein Data Bank, esta proteína reconoce ligandos y tiene un papel en la conjugación bacteriana (Koebnik, 1999; Pautsch y Schulz, 2000).

El puntaje necesario para la unión del metal con el aminoácido está denotado en naranja (Figura 45), la línea azul que pasa ese puntaje corresponde a los aminoácidos que se unen al Cu^{2+} (Luna Pabello et al., 2023).

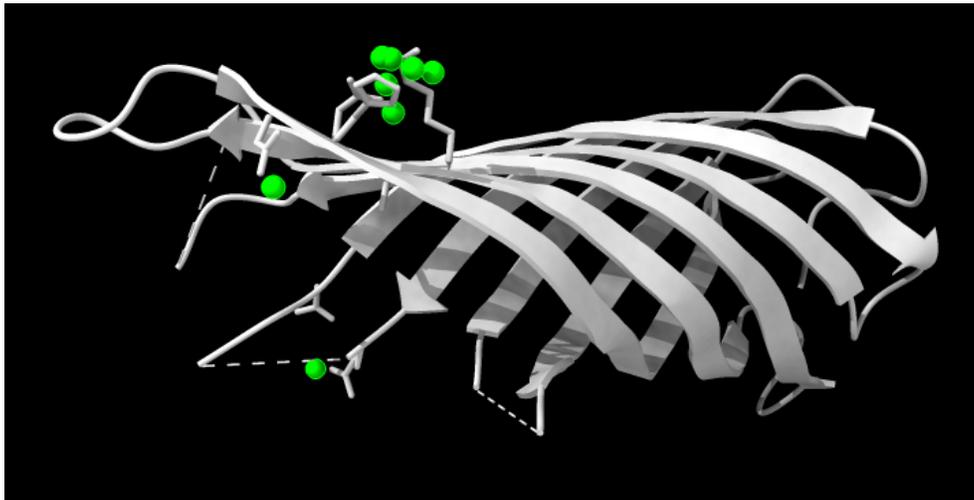


Figura 44. Acoplamiento molecular de la proteína de membrana externa con dominio transmembranal (1QJP) de *E. coli*. Cu^{2+} (esferas verdes) uniéndose a los aminoácidos: His, Asn, Arg, Asp, Thr. (Luna Pabello et al., 2023)

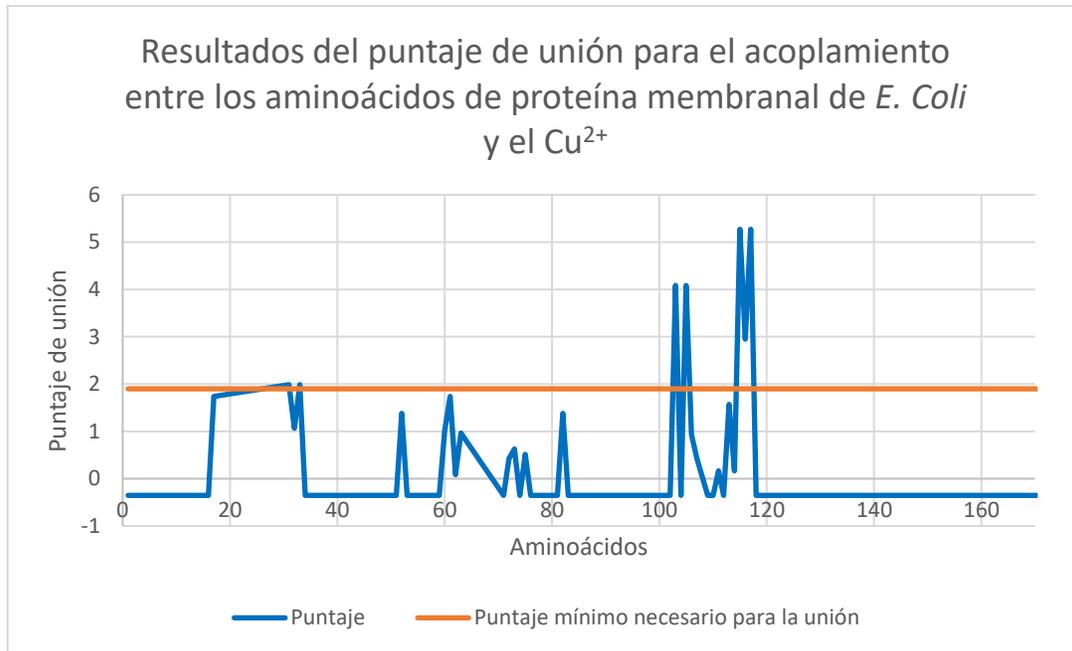


Figura 45. Resultados del puntaje de unión para el acoplamiento entre los aminoácidos de la membrana de *E. coli* y el Cu^{2+} . (Luna Pabello et al., 2023)

Esta interacción se visualiza en la Figura 46, donde se observa el desprendimiento del ion del AMN (1) para interactuar con proteínas de la membrana celular de *E. coli* (2) provocando la muerte o inactivación celular (3).

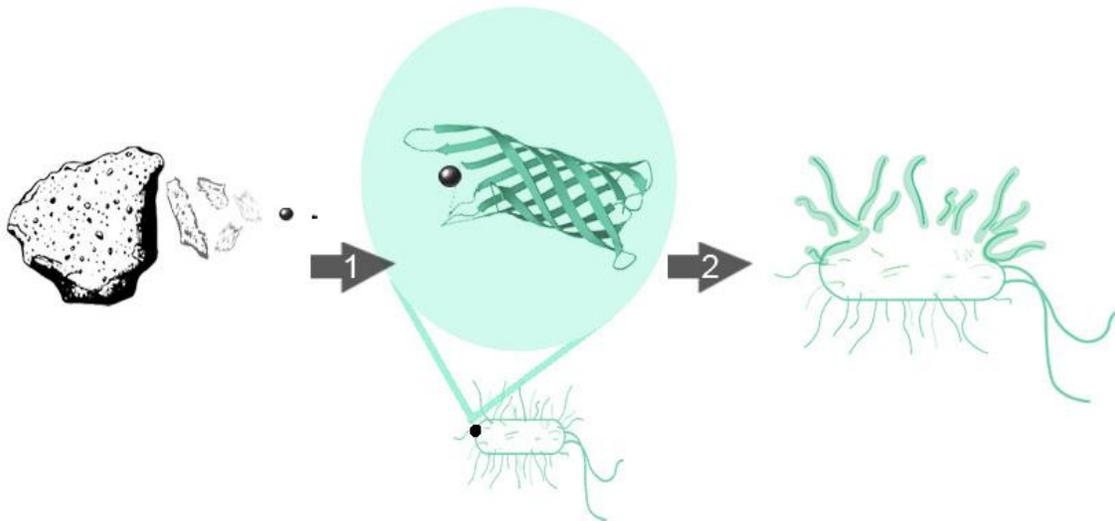
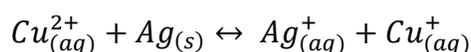


Figura 46. Interacción AMN con *E. coli*. 1) Desprendimiento de iones metálicos del AMN. 2) Interacción del ion metálico con proteínas de la membrana celular. 3) Muerte celular. Elaboración en conjunto con Axel Macías, pasante de Arquitectura de la UNAM.

Aunado a los mecanismos mencionados, no se descarta el efecto sinérgico entre los metales del AMN tal como se ha descrito en la literatura para los metales cobre y plata, donde el efecto antibacteriano es hasta 6 veces mayor que la suma de estos metales por sí solos. Sumado a lo anterior, se muestra una mejor disolución de la plata en presencia de cobre debido a la oxidación de este en la reacción redox (Ec 11) (Vasiliev et al., 2023):

Ecuación 11. Ecuación redox entre plata y cobre.



Por ello, la combinación de ambos metales reduce significativamente la cantidad de coliformes fecales (Aguilar et al., 2006).

Sin embargo, es de considerar que se requiere más investigación para comprender los mecanismos desinfectantes asociados al AMN bajo diversas condiciones experimentales. Así como técnicas espectroscópicas que permitan observar el cambio en la morfología celular.

7.4 EVALUACIÓN DE PORCENTAJE DE REMOCIÓN DE UNA COLUMNA EMPACADA CON AMN

El proceso de filtración consiste en la remoción de partículas suspendidas presentes en una suspensión acuosa. Esto ocurre a través de su paso por un medio poroso, en este caso el empaque o medio poroso corresponde al AMN. No obstante dadas las características del mismo se propician dos fenómenos físicos: el transporte de partículas dentro de los poros y la adherencia de los granos al medio, estos ocurren dependiendo del tamaño de las partículas presentes en el agua (Hernández Cruz y Tautiva Villalobos, 2020).

El uso de filtros de cerámica impregnados con nanopartículas de metales como Zn y Ag desinfecta *E. coli* en al menos un orden de magnitud. Este comportamiento es dependiente de la concentración de los metales, de la sinergia entre ellos y del tiempo de contacto entre el microorganismo y las nanopartículas metálicas (Venis y Basu, 2023). Cabe destacar que el empaque de AMN contiene trazas de metales

que, aunque se han realizado análisis para conocer su composición y concentración metálica, este no es homogéneo.

De acuerdo con los resultados experimentales de viabilidad y el reto microbiano la interacción entre la célula y el AMN propicia el efecto desinfectante, de manera que los microorganismos que permanecieron en el lecho filtrante fueron inactivados o destruidos. Por este motivo, se asume que el porcentaje de remoción corresponde al porcentaje de desinfección. Conforme a lo mencionado, la columna empacada con AMN posee dos funciones: remoción (retención física) y desinfección (pérdida de viabilidad) de microorganismos, ambos fenómenos causados por las características intrínsecas del AMN.

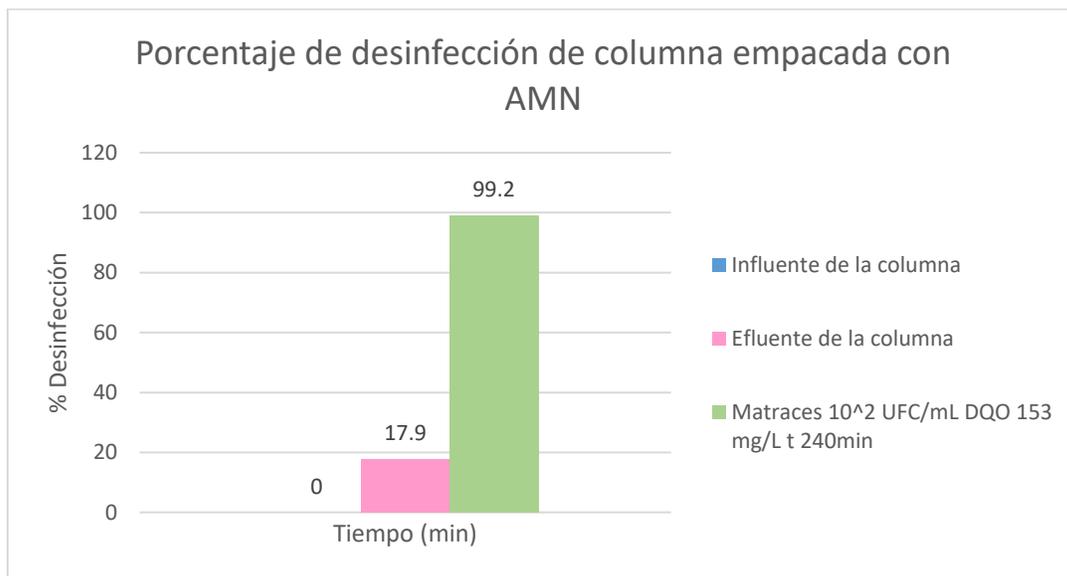


Figura 47. Gráfico de porcentaje de desinfección de columna empacada con AMN.

El porcentaje de remoción de *E. coli*, a partir de 10^2 UFC/mL en 1 L de ARTPBE proveniente del SHADE con un valor de DQO $150 \text{ mgO}_2/\text{L}$ fue del 17.9% (Figura 47), indicando que de 467 UFC/mL que entraron a la columna empacada, solamente 83 UFC/mL se removieron del agua, permaneciendo en el lecho filtrante, ya que se cuantificaron 383 UFC/mL a la salida de este. En consecuencia, la concentración de bacterias no disminuyó ni un orden de magnitud tras 240 min de tiempo de contacto. Lo anterior implica la necesidad de incrementar de manera significativa el tiempo de contacto entre los microorganismos y el AMN.

El porcentaje de desinfección de *E. coli* al tiempo de contacto de 240 min del agua fue mucho menor en la columna en comparación con las pruebas de contacto en matraces a prácticamente el mismo valor de DQO (150 mgO₂/L en la columna y 153 mgO₂/L en matraces) dado que el porcentaje de desinfección de la columna fue de 17.9% y para los matraces a ese mismo tiempo fue de 99.2%. Cabe resaltar que si bien las condiciones experimentales fueron distintas: cantidad y tamaño del AMN (4.5 kg distribuidos en 15 mmø, 10 mmø y 5 mmø en la columna vs 1 g en 2 mmø en matraces); diferente volumen (1 L vs 10 mL); temperatura (temperatura ambiente vs 35±2°C); y la agitación (ausencia en la columna vs 142 RPM). Es posible inferir que el efecto desinfectante en la columna empacada disminuyó principalmente por la menor interacción física (efecto mecánico) microorganismo-AMN, a causa de la ausencia de agitación y a la reducción de la interacción química (efecto químico) debido a la presencia de materia orgánica (Magaña López y Luna Pabello, 2018).

8 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

8.1 CONCLUSIONES

- Con partículas de 2mm de diámetro (\emptyset) de AMN 1g/10mL en solución salina isotónica, evidencian la posibilidad de eliminar *E. coli* cepa ATCC 11229 y poder usarlos como material de empaque desinfectante para filtros lentos susceptibles de producir aguas para su reúso en servicios públicos a partir de aguas residuales parcialmente tratadas mediante procesos biológicos.
- Las constantes de inactivación calculadas y el porcentaje de desinfección para SSI y el ARTPBE demostraron que las variables que afectan el proceso de desinfección son: a) la concentración de microorganismos, al aumentar la concentración disminuye la rapidez de inactivación y porcentaje de desinfección y, b) la concentración de materia orgánica, al aumentarla disminuye la rapidez de inactivación y el porcentaje de desinfección.
- La desinfección del AMN en agua residual parcialmente tratada por procesos biológicos depende de la concentración de microorganismos y de materia orgánica presente. Dependiendo de estas condiciones, es el tiempo de contacto que debe proporcionarse entre el AMN y *E. coli* para que se obtenga agua microbiológicamente apta para el reúso en servicios al público, acorde a los límites máximos permisibles establecidos en la NOM-003-SEMARNAT-1997.
- Los resultados de la columna empacada con AMN mostraron que es necesario realizarle modificaciones, como aumentar el tiempo de contacto, siendo mayor al evaluado en esta tesis (240 min), para disminuir el contenido de *E. coli* ATCC 11229 en agua residual tratada por procesos biológicos, debido a la presencia de materia orgánica.

8.2 RECOMENDACIONES

- Realizar investigación dirigida a profundizar en la comprensión de los mecanismos desinfectantes asociados al AMN bajo diversas condiciones

experimentales, en los que se cuantifique la solubilidad y arrastre de los metales del AMN en el agua tratada.

- Dar seguimiento al efecto mecánico desinfectante, mediante el uso de técnicas espectroscópicas que permitan observar el daño en la morfología celular.
- Evaluar el efecto de implementar la recirculación del agua a tratar, o bien, el aumento del tiempo de contacto con el empaque filtrante para propiciar la posibilidad de interacción microorganismo-AMN, a efecto de lograr valores de desinfección acordes a lo requerido por la NOM-003-SEMARNAT-1997.
- Determinar el tiempo de vida media del AMN y la regeneración de este tras ese lapso.
- Evaluar la capacidad desinfectante del AMN frente a diversos microorganismos y estadios de resistencia de importancia médica, tales como huevos de helminto y quistes de protozoos en presencia de diversas concentraciones de materia orgánica.
- Dar seguimiento en el tiempo a la columna empacada con AMN para evaluar la formación de biopelícula y el taponamiento de la misma.

9 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acher, A., Fischer, E., Turnheim, R., y Manor, Y. (1997). *Ecologically friendly wastewater disinfection techniques*. 31(6), 1398-140.
- Águila Sánchez, A., Rodríguez, A., Fernández Abreu, A., Cruz Infante, Y., Bravo Fariñas, L., Hernández Martínez, J. L., Blanco, S., y Bebelagua, D. (2020). *Escherichia coli* diarrogénicos, identificación de patotipos y fenotipos de resistencia antimicrobiana en aislados cubanos. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 72(1).
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0375-07602020000100008&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- Aguilar, P., Jiménez, B., Maya, C., Orta de Velasquez, T., y Luna, V. (2006). Disinfection of sludge with high pathogenic content using silver and other compounds. *Water Science and Technology: A Journal of the International Association on Water Pollution Research*, 54(5), 179-187.
<https://doi.org/10.2166/wst.2006.561>
- Aiken, G. R., Hsu-Kim, H., y Ryan, J. N. (2011). Influence of dissolved organic matter on the environmental fate of metals, nanoparticles, and colloids. *Environmental Science & Technology*, 45(8), 3196-3201.
<https://doi.org/10.1021/es103992s>
- Alegre Calvo, E. (2021). *Trihalometanos en aguas de consumo humano y efectos en la salud, problemática en las industrias alimentarias y tratamientos alternativos de desinfección del agua*. Universitat Politècnica de València.
- American Type Culture Collection. (2023). *Escherichia coli (Migula) Castellani y Chalmers—11229 | ATCC*. <https://www.atcc.org/products/11229>

- APHA, AWWA, y WEF. (2017a). 5220 D. Closed reflux, Colorimetric method. En *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (23.^a ed., pp. 5-21). American Public Health Association/American Water Works Association/Water Environment Federation.
- APHA, AWWA, y WEF. (2017b). 9215 C. Spread Plate Method. En *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (23.^a ed., pp. 9-41). American Public Health Association/American Water Works Association/Water Environment Federation.
- Arana, I., Santorum, P., Muela, A., y Barcina, I. (2000). Effect of disinfection upon dissolved organic carbon (DOC) in wastewater: Bacterial bioassays. *Letters in Applied Microbiology*, 31(2), 157-162. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2000.00793.x>
- Arzate Quintana, C. (2016). *Efectos de citotoxicidad en microorganismos patógenos expuestos a nanopartículas de plata y óxido de zinc*. Centro de Investigación en Materiales Avanzados.
- Ávila, C., Garfí, M., y García, J. (2013). Three-stage hybrid constructed wetland system for wastewater treatment and reuse in warm climate regions. *Ecological Engineering*, 61, 43-49. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2013.09.048>
- BD. (2013). *BD Endo Agar*. <https://www.bd.com/resource.aspx?IDX=8766>
- Betancur Henao, C. P., Hernández Montes, V., y Buitrago Sierra, R. (2016). Nanopartículas para materiales antibacterianos y aplicaciones del dióxido de titanio. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, 35(4), 387-402.

- Bitton, G. (2011). Chapter 7. Wastewater disinfection. En *Wastewater Microbiology*. (4.^a ed., pp. 217-266). Wiley Blackwell.
- Brantley, S., Kubicki, J., y White, A. (2008). 4. Kinetics of Sorption–Desorption. En *Kinetics of Water-Rock Interaction*. (pp. 109-142). Springer.
- Castro Tapia, J. L. (En proceso). *Obtención de datos experimentales para el diseño de una planta piloto filtro desinfectante alimentado con efluentes biológicos (en proceso)*. UNAM.
- Chaminda, T., Nakajima, F., Furumai, H., Kasuga, I., y Kurisu, F. (2013). Metal (Zn, Cu, Cd and Ni) Complexation by Dissolved Organic Matter (DOM) in Wastewater Treatment Plant Effluent. *Journal of Water and Environment Technology*, 11, 153-161. <https://doi.org/10.2965/jwet.2013.153>
- Chatzisyneon, E., Droumpali, A., Mantzavinos, D., y Venieri, D. (2011). Disinfection of water and wastewater by UV-A and UV-C irradiation: Application of real-time PCR method. *Photochemical & Photobiological Sciences*, 10(3), 389-395. <https://doi.org/10.1039/c0pp00161a>
- Chedala, K., Benhaoua, A., Hima, A., Gheriani, R., Segueni, L., y Ayachi, L. (2022). Synthesis of Co, Fe co-doped SnO₂: Characterization and applications. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, 17(4), 1163-1172. <https://doi.org/10.15251/DJNB.2022.174.1163>
- Chick, H. (1908). An Investigation of the Laws of Disinfection. *The Journal of Hygiene*, 8(1), 92-158. <https://doi.org/10.1017/s0022172400006987>
- Clara, S. (2006). *FICHA DE INVENTARIO FÍSICO DE LOCALIDADES MINERAS MUNICIPIO ANGANGUEO, ESTADO MICHOACÁN*. 3.

- Condalab. (2022). *Caldo SCDLP 80 ISO*. <https://www.condalab.com/int/es/medios-de-cultivo-deshidratados/2197-15241-caldo-scdlp-80-iso.html>
- Curiel Esparza, J., Cuenca Ruiz, M., Martín Utrillas, M., y Canto Perello, J. (2014). *Selecting a Sustainable Disinfection Technique for Wastewater Reuse Projects*. 6, 2732-2747.
- Davies, R. L., y Etris, S. F. (1997). The development and functions of silver in water purification and disease control. *Catalysis Today*, 36(1), 107-114. [https://doi.org/10.1016/S0920-5861\(96\)00203-9](https://doi.org/10.1016/S0920-5861(96)00203-9)
- Delgadillo, Ó., Camacho, A., Pérez, L., y Andrade, M. (2010). *Depuración de aguas residuales por medio de humedales artificiales*. Centro Andino para la Gestión y Uso del Agua.
- Denyer, S. P., y Stewart, G. S. A. B. (1998). *Mechanism of action of disinfectants*. 41, 261-268.
- DOF. (1997). *Diario Oficial de la Federación. Norma Oficial Mexicana NOM-003-SEMARNAT-1997, Que establece los límites máximos permisibles de contaminantes para las aguas residuales tratadas que se reúsen en servicios al público*. https://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=4893449&fecha=21/09/1998#gsc.tab=0
- DOF. (2021). *Diario Oficial de la Federación. Norma Oficial Mexicana NOM-127-SSA1-2021, Agua para uso y consumo humano. Límites permisibles de la calidad del agua*. https://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5650705&fecha=02/05/2022#gsc.tab=0

- Echeverri Prieto, L. C., Cifuentes Orjuela, G. C., Granados Ramírez, J. M., Arias Palacios, J., y Fernández López, C. (2007). Cinética de desinfección para cinco desinfectantes utilizados en industria farmacéutica. *Revista Cubana de Farmacia*, 41(2), 0-0.
- EPA. (1999). *Folleto informativo de tecnología de aguas residuales. Desinfección con ozono*. <https://www.epa.gov/sites/default/files/2015-06/documents/cs-99-063.pdf>
- Fox Ira, S. (2011). Capítulo 6. Interacciones entre células y el ambiente extracelular. En *Fisiología Humana*. (12.^a ed., pp. 128-157). McGraw-Hill.
- Hawley, H. B., M. D. (2022). *E. coli* infection. En *Magill's Medical Guide (Online Edition)*. Salem Press; Research Starters. <http://pbidi.unam.mx:8080/login?url=https://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=ers&AN=86194069&lang=es&site=eds-live>
- Hernández Cruz, A. T., y Tautiva Villalobos, Y. A. (2020). *Determinación del coeficiente de filtración (λ) global, para 3 tipos de lechos filtrantes utilizando la turbiedad inicial en PTAP a nivel Cundinamarca*. Universidad Católica de Colombia. Facultad de Ingeniería.
- INEGI. (2023). *Agua. Cuéntame de México*. <https://cuentame.inegi.org.mx/territorio/agua/distribucion.aspx?tema=T>
- Koebnik, R. (1999). Structural and Functional Roles of the Surface-Exposed Loops of the β -Barrel Membrane Protein OmpA from *Escherichia coli*. *Journal of Bacteriology*, 181(12), 3688-3694.
- Landeen, L. K., Yahya, M. T., Kutz, S. M., y Gerba, C. P. (1989). Microbiological Evaluation of Copper: Silver Disinfection Units for Use in Swimming Pools.

Water Science and Technology, 21(3), 267-270.

<https://doi.org/10.2166/wst.1989.0115>

López, S., y López Brea, M. (2000). ¿Qué debemos saber acerca de las infecciones por *Acinetobacter baumannii*? *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 18(3), 153-156.

Luna Pabello, V. M., y Aburto Castañeda, S. (2014). Sistema de humedales artificiales para el control de la eutroficación del lago del Bosque de San Juan de Aragón. *TIP. Revista especializada en ciencias químico-biológicas*, 17(1), 32-55.

Luna Pabello, V. M., Hernández Gómez, L., Martín Fuentes, R. E., Gómez Bernal, J. M., Vázquez Aguilar, E., Apátiga Hermoso, J. L., y Castro Tapia, J. L. (2023). *Effect of Mineral Aggregates in the Elimination of E. coli ATCC 11229 in Water Samples Containing or not Dissolved Organic Matter*. Congreso Internacional de Geología Médica, Nuevo León, Monterrey.

Luna Pabello, V. M., y Vázquez Aguilar, E. (2022). *Evaluación del efecto desinfectante de un agregado mineral natural sobre microorganismos de interés sanitario presentes en aguas residuales municipales*. Congreso Internacional Multidisciplinario de investigación, México, CdMx.

Madigan, M., Martinko, J., Bender, K., Buckley, D., y Stahl, D. (2015a). Capítulo 21. Microbiología del ambiente antropizado. En *Brock. Biología de los microorganismos*. (14.^a ed., pp. 708-716). Pearson.

Madigan, M., Martinko, J., Bender, K., Buckley, D., y Stahl, D. (2015b). Capítulo 31. Agua y alimentos como vehículos de enfermedades bacterianas

microbiología actual. En *Brock. Biología de los microorganismos*. (14.^a ed., pp. 989-1000). Pearson.

Magaña López, R., y Luna Pabello, V. M. (2018). *Efecto de la plata, cobre, hierro y agregados minerales sobre huevos de helminto y su potencial uso en un sistema de filtración*. UNAM.

Magaña López, R., Zaragoza Sánchez, P. I., Jiménez Cisneros, B. E., y Chávez Mejía, A. C. (2021). The Use of TiO₂ as a Disinfectant in Water Sanitation Applications. *Water*, 13(12), Article 12. <https://doi.org/10.3390/w13121641>

Matías Camacho, L., Contreras Rodríguez, A., y Aguilera Arreola, M. G. (2020). *Pseudomonas stutzeri*. *Revista chilena de infectología*, 37(4), 443-444. <https://doi.org/10.4067/S0716-10182020000400443>

Metcalf & Eddy I AECOM. (2014a). Chapter 2. Wastewater Characteristics. En *Wastewater Engineering. Treatment and Resource Recovery* (5.^a ed.). McGraw-Hill.

Metcalf & Eddy I AECOM. (2014b). Chapter 11. Separation Processes for Removal of Residual Constituents. En *Wastewater Engineering. Treatment and Resource Recovery* (5.^a ed., pp. 1117-1286). McGraw-Hill.

Metcalf & Eddy I AECOM. (2014c). Chapter 12. Disinfection Processes. En *Wastewater Engineering. Treatment and Resource Recovery* (5.^a ed., pp. 1291-1433). McGraw-Hill.

Michaine, S. (2013). *Volumen II. Monitoreo de la higiene de superficies*. Britania Lab.

Miranda Ríos, M., y Luna Pabello, M. (2005). *Estudio y evaluación del poder germicida de compuestos de plata de aguas residuales parcialmente tratadas*. UNAM.

- Miranda Ríos, M., Luna Pabello, V., Orta de Velásquez, M., y Barrera Godínez, J. (2011). Removal of *Escherichia coli* from biological effluents using natural and artificial mineral aggregates. *Water SA*, 37(2). <https://doi.org/10.4314/wsa.v37i2.65866>
- Morales, R. (2021). Exportaciones mexicanas de oro y plata toman un respiro pese a la pandemia. *El Economista*. <https://www.economista.com.mx/empresas/Exportaciones-de-oro-y-plata-toman-un-respiro-pese-a-la-pandemia-20210305-0019.html>
- Moura, M. N., Martín, M. J., y Burguillo, F. J. (2007). A comparative study of the adsorption of humic acid, fulvic acid and phenol onto *Bacillus subtilis* and activated sludge. *Journal of Hazardous Materials*, 149(1), 42-48. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2007.02.074>
- Muñoz Nava, H., y Baumann, J. (2017). Remoción de bacterias coliformes en un sistema de lodos activados y humedal construido. *Ecosistemas y recursos agropecuarios*, 4(11), 287-297. <https://doi.org/10.19136/era.a4n11.913>
- Orozco Rico, M. (2011). *Acinetobacter baumannii* multidrogo-resistente y pandrogo-resistente: Perspectiva, mecanismos de resistencia y tratamiento. *Revista Médica MD*, 2.3(1), 44-49.
- Parra Vera, H. J., Buele Chica, D. C., Jiménez Jiménez, A. D., Altamirano Rodas, D. C., Quinde Zambrano, R. M., y Morán Vargas, C. A. (2021). Comamonas testosteroni, una breve revisión microbiológica: Artículo de Revisión. *Ciencia Ecuador*, 3(4), Article 4. <https://doi.org/10.23936/rce.v3i4.48>

- Pautsch, A., y Schulz, G. E. (2000). High-resolution structure of the OmpA membrane domain. *Journal of Molecular Biology*, 298(2), 273-282.
<https://doi.org/10.1006/jmbi.2000.3671>
- Pepper, I., Gerba, C., y Gentry, T. (2015a). Chapter 1. Introduction to Environmental Microbiology. En *Environmental Microbiology* (p. 3).
- Pepper, I., Gerba, C., y Gentry, T. (2015b). Chapter 23. Indicator Microorganisms. En *Environmental Microbiology* (3.^a ed., pp. 551-560).
- Pepper, I., Gerba, C., y Gentry, T. (2015c). Chapter 29. Disinfection. En *Environmental Microbiology* (3.^a ed., pp. 645-661).
- Pommerville, J. (2018). Chapter 9. Control of Microorganisms: Physical Methods and Chemical Agents. En *Fundamentals of Microbiology* (11.^a ed., pp. 276-310). Jones & Bartlett learning.
- Prado, V., Vidal, R., y Durán, C. (2012). Aplicación de la capacidad bactericida del cobre en la práctica médica. *Revista médica de Chile*, 140(10), 1325-1332.
<https://doi.org/10.4067/S0034-98872012001000014>
- Prescott, L., Harley, J., y Klein, D. (2004a). Capítulo 6. Crecimiento microbiano. En *Microbiología* (5.^a ed., pp. 119-142). McGraw-Hill.
- Prescott, L., Harley, J., y Klein, D. (2004b). Capítulo 7. Control de microorganismos por agentes físicos y químicos. En *Microbiología* (5.^a ed., pp. 146-162). McGraw-Hill.
- Prescott, L., Harley, J., y Klein, D. (2004c). Capítulo 9. Metabolismo: Liberación y conservación de la energía. En *Microbiología* (5.^a ed., pp. 185-209). McGraw-Hill.

- Prescott, L., Harley, J., y Klein, D. (2004d). Capítulo 22. Bacterias: Las proteobacterias. En *Microbiología* (5.^a ed., pp. 546-548). McGraw-Hill.
- PumAgua. (2010). Planta de tratamiento de aguas residuales de Cerro del Agua en Ciudad Universitaria de la UNAM. *Gaceta PumAgua*.
- Qin, C., Chen, C., Shang, C., y Xia, K. (2018). Fe³⁺-saturated montmorillonite effectively deactivates bacteria in wastewater. *Science of The Total Environment*, 622-623, 88-95. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.11.302>
- Ranieri, L., López-Salguero, S., Galván, Y. G., y Andrés, M. (2020). A propósito de un caso: *Pseudomonas stutzeri*, una causa inusual de artritis séptica. *Revista Colombiana de Reumatología*, 27(3), 215-217. <https://doi.org/10.1016/j.rcreu.2019.09.002>
- Rincón, A.-G., y Pulgarin, C. (2004). Field solar *E. coli* inactivation in the absence and presence of TiO₂: Is UV solar dose an appropriate parameter for standardization of water solar disinfection? *Solar Energy*, 77(5), 635-648. <https://doi.org/10.1016/j.solener.2004.08.002>
- Ríos Muñiz, D., Cerna Cortés, J. F., Morán García, N., Meza Segura, M., y Estrada García, T. (2019). *Escherichia coli* enterotoxigénica y enteroagregativa: Prevalencia, patogénesis y modelos murinos. *Gaceta de México*, 155(4), 411. <https://doi.org/10.24875/GMM.19004716>
- Rojas Valencia, M. N., Orta de Velásquez, M. T., Vaca Mier, M., y Franco, V. (2004). Ozonation by-products issued from the destruction of microorganisms present in wastewaters treated for reuse. *Water Science and Technology: A Journal of the International Association on Water Pollution Research*, 50(2), 187-193.

- Rusell, A. D. (1998). *Bacterial resistance to disinfectants: Present knowledge and future problems*. 43, 57-68.
- Silva Martínez, S., Martínez Meza, E., y Álvarez Gallegos, A. (2002). *Tecnología Alternativa Compatible con el Ambiente para el Tratamiento de Aguas de Enfriamiento: Ionización de Plata y Cobre*. 18(3), 117-130.
- Silvestry Rodríguez, N., Sicarios Ruelas, E., Gerba P, C., y Bright R, K. (2007). Silver as a Disinfectant. En *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*. (Vol. 191, pp. 23-42). Springer.
- Sistema Nacional de Información del Agua. (2023). Agua renovable. SINA. <https://sina.conagua.gob.mx/sina/index.php?p=2#:~:text=El%20agua%20es%20un%20recurso,se%20les%20considera%20no%20renovables>.
- Skoog, D., Holler, J., y Crouch, S. (2008a). Capítulo 10. Espectrometría de emisión atómica. En *Principios de análisis instrumental* (6.^a ed., pp. 253-270). Cengage Learning.
- Skoog, D., Holler, J., y Crouch, S. (2008b). Capítulo 12. Espectroscopía atómica de rayos X. En *Principios de análisis instrumental* (6.^a ed., pp. 303-320). Cengage Learning.
- Skoog, D., Holler, J., y Crouch, S. (2008c). Capítulo 21. Caracterización de superficies por espectroscopía y microscopía. En *Principios de análisis instrumental* (6.^a ed., pp. 608-613). Cengage Learning.
- Sobsey, M. D. (1989). Inactivation of Health-Related Microorganisms in Water by Disinfection Processes. *Water Science and Technology*, 21(3), 179-195. <https://doi.org/10.2166/wst.1989.0098>

- Suzuki, T., Yamate, T., Hara, J., Wada, K., y Niinae, M. (2021). Inactivation of bacteria using Fe³⁺-loaded montmorillonite. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 9(4), 105637. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2021.105637>
- Tang, W.-W., Zeng, G.-M., Gong, J.-L., Liang, J., Xu, P., Zhang, C., y Huang, B.-B. (2014). Impact of humic/fulvic acid on the removal of heavy metals from aqueous solutions using nanomaterials: A review. *Science of The Total Environment*, 468-469, 1014-1027. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.09.044>
- Valdivielso, A. (2020, septiembre 29). *¿Qué es un sistema de lodos activados?* [Text]. iAgua; iAgua. <https://www.iagua.es/respuestas/que-es-sistema-lodos-activados>
- Vasiliev, G., Kubo, A.-L., Vija, H., Kahru, A., Bondar, D., Karpichev, Y., y Bondarenko, O. (2023). Synergistic antibacterial effect of copper and silver nanoparticles and their mechanism of action. *Scientific Reports*, 13(1). Scopus. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-36460-2>
- Venis, R. A., y Basu, O. D. (2023). Elution and disinfection of silver and zinc nanoparticles in co-fired ceramic water filters. *Science of The Total Environment*, 887, 163317. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.163317>
- Vullo, D. (2003). Microorganismos y metales: Una interacción en beneficio del medio ambiente. *Química Viva*, 2(3), 93-104.
- Watanabi Hitomi, C., Domingos Ferreira, R., Benedetti Fabien, M., y Rosa Henrique, A. (2023). Dissolution and fate of silver nanoparticles in the presence of

natural aquatic organic matter. *Journal of Environmental Exposure Assessment*, 2(2), 6. <https://doi.org/10.20517/jeea.2022.24>

WHO. (2018). *E. coli*. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/e-coli>

Yahya, M. T., Landeen, L. K., Messina, M. C., Kutz, S. M., Schulze, R., y Gerba, C.

P. (1990). Disinfection of bacteria in water systems by using electrolytically generated copper:silver and reduced levels of free chlorine. *Canadian Journal of Microbiology*, 36(2), 109-116. <https://doi.org/10.1139/m90-020>

ANEXO 1. EVALUACIÓN DEL AGREGADO MINERAL NATURAL

La información de este anexo fue generada en la Unidad de Servicios de Apoyo a la Investigación y a la Industria (USAI) y está referenciada en la tesis de Castro Tapia (en proceso).

La extracción del AMN se realizó en minas de explotación metálica ubicadas en Angangueo Michoacán (Figura 48). En estas minas los principales elementos a extraer son plomo, plata y zinc.

La mineralogía consiste en galena, esfalerita, cuarzo, rodocrosita, sulfosales de plata, hematita, pirita, calcita y escasa calcopirita (Clara, 2006).

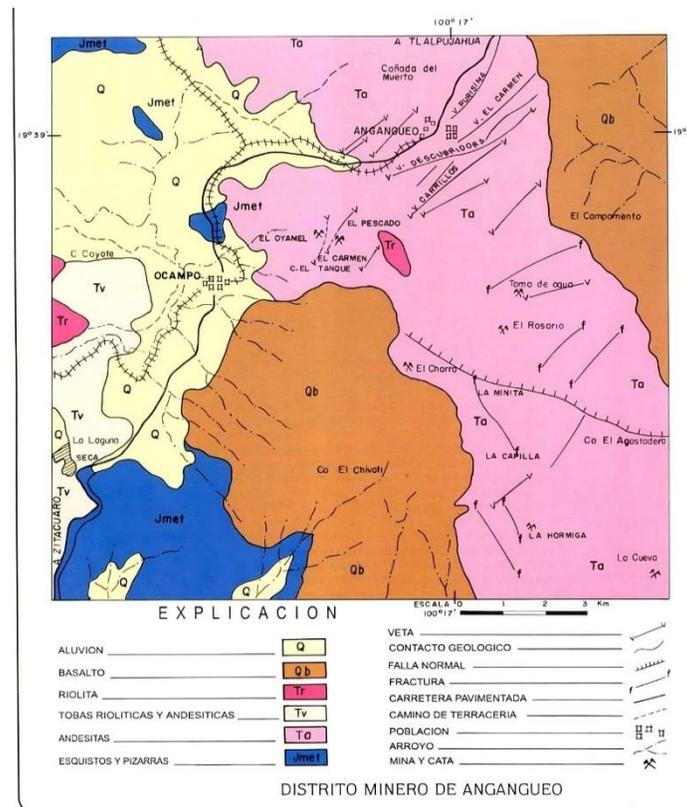


Figura 48. Distrito minero de Angangueo

La evaluación del AMN involucró el uso de diferentes técnicas para la determinación de los parámetros de interés tales como la composición química

A1.1 ACONDICIONAMIENTO AMN

El lote de AMN estaba constituido por varios pedazos de diferentes tamaños (Figura 49). Para homogenizar el material se mandó a triturar al conjunto E de la Facultad de Química por cribas en diferentes tamaños. De estos tamaños se seleccionó la criba 12 y se pasó por tamices de 1 mm y 2 mm para obtener solamente AMN de 2 mm, posteriormente se lavó con agua corriente hasta que el agua saliera transparente y se guardó en una caja Petri de vidrio estéril (Figura 50).



Figura 49. Lote de AMN



Figura 50. AMN tamizado y lavado

Mediante la técnica de cuarteos se obtuvo la muestra representativa del AMN a utilizar en esta tesis. Esta consistió en amontonar el material de modo que constituya un cono, posteriormente se aplasta, y con ayuda de la espátula se divide y desplaza cuantitativamente en dos, a su vez, estos dos montones se dividen en dos hasta obtener los cuatro cuartos.

A1.2 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (MEB)

La microscopía electrónica de barrido se basa en el paso (barrido) de un haz de electrones sobre la superficie de la materia que se desea conocer su morfología externa, los electrones retrodispersados y secundarios son detectados para construir la imagen (Skoog et al., 2008c). Es una técnica que permite el análisis morfológico de microorganismos y minerales con volumen.

El AMN se envió a la USAII dónde se empleó el microscopio electrónico de barrido JEOL JSM-5900-LV con resolución de 3.0 nm HV, 5.0 nm LV y con software Oxford Aztec 100.

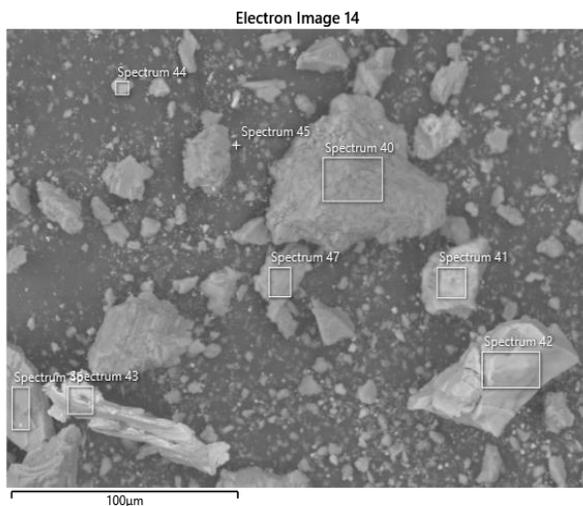


Figura 51. MEB. Imagen electrónica 14. Fotografía tomada con microscopio electrónico de barrido JEOL JSM-5900-LV.

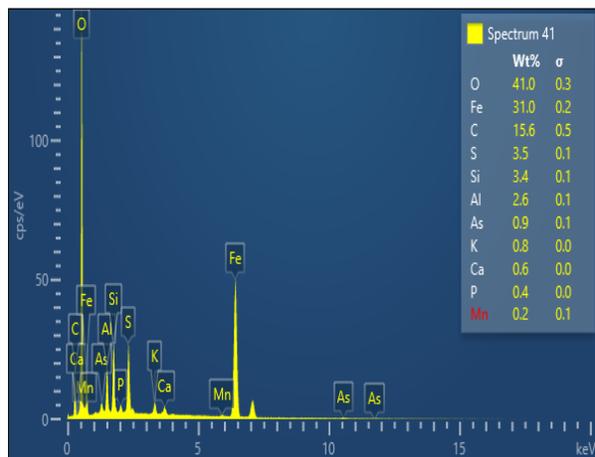


Figura 52. Espectro 41. Espectro generado con software Oxford Aztec 100 con microscopio electrónico

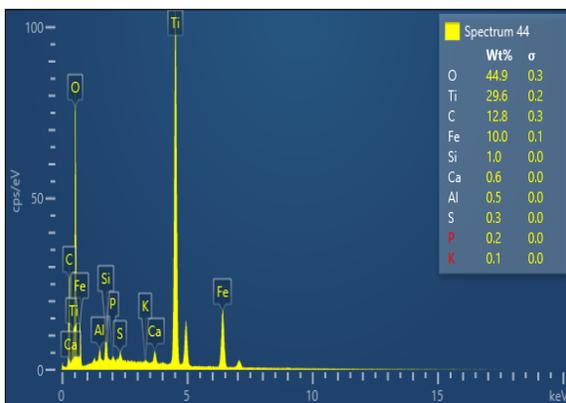


Figura 53. MEB. Espectro 44. Espectro generado con software Oxford Aztec 100 con microscopio electrónico de barrido JEOL JSM-5900-LV.

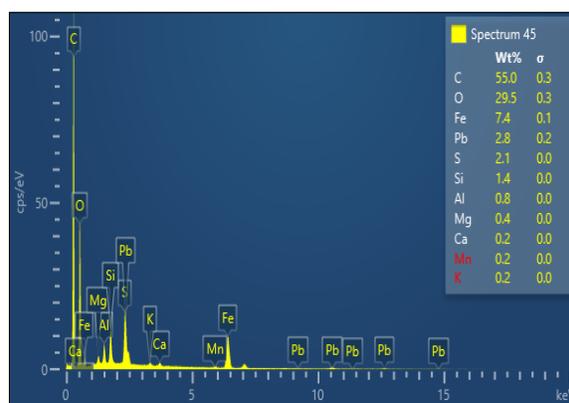


Figura 54. MEB. Espectro 45. Espectro generado con software Oxford Aztec 100 con microscopio electrónico de barrido JEOL JSM-5900-LV.

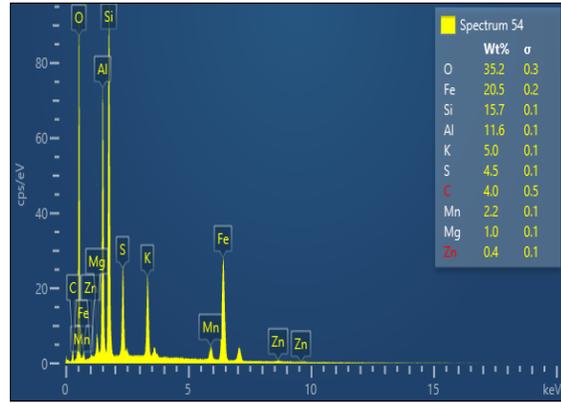
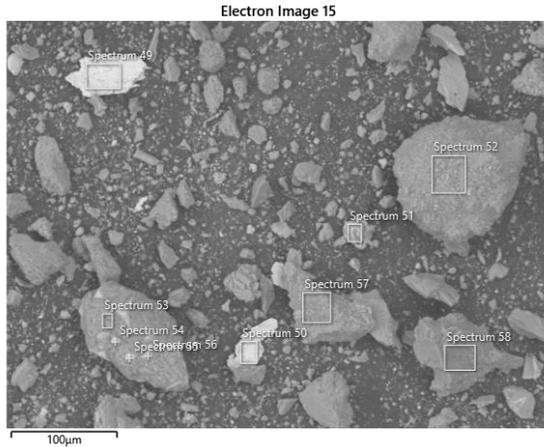


Figura 55. MEB. Imagen electrónica 15. Fotografía tomada con microscopio electrónico de barrido JEOL JSM-5900-LV.

Figura 56. MEB. Espectro 54. Espectro generado con software Oxford Aztec 100 con microscopio electrónico de barrido JEOL JSM-5900-LV.

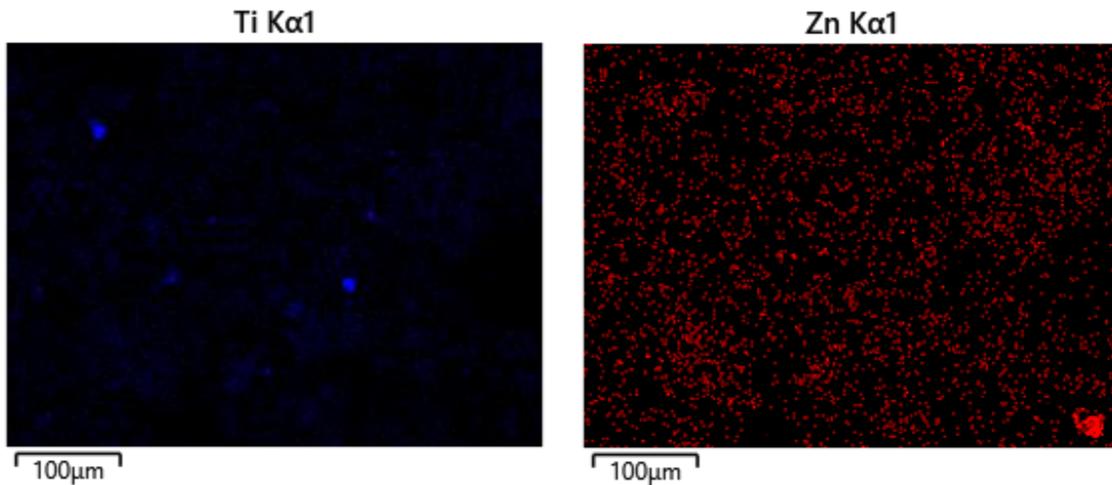


Figura 57. MEB. Mapeo de fluorescencia de Zn y Ti en la superficie del AMN. Imagen procesada por el software Oxford AZtec 100 con microscopio electrónico de barrido JEOL JSM-5900-LV.

La microscopía electrónica de barrido de las diferentes zonas muestreadas posee desigual cantidad de elementos químicos; de manera general en todos los espectros se visualiza la presencia de Ca, Fe, Mn, S, C, Si, K, Mg, Al y O. Particularmente, en zonas específicas, correspondientes a ciertos espectros se denota la presencia de Ti, Pb, As, Cr y Zn. Aunado a esto, la superficie es rica en Zn y Ti tal como se observa en la Figura 57.

A1.4 ESPECTROSCOPIA DE EMISION ATOMICA (EEA)

La espectroscopía de emisión atómica proporciona información tanto cualitativa como cuantitativa acerca de los elementos presentes en una muestra. A menudo los espectros de emisión están acoplados a una fuente de plasma, una mezcla gaseosa eléctricamente conductora que contiene una concentración importante de cationes y electrones, la carga neta es cero; esta permite la excitación de electrones e iones que emiten radiación electromagnética en longitudes de onda características de un elemento en particular (Skoog et al., 2008a).

Para el análisis se enviaron tres muestras de AMN en polvo a la USAII. Se empleó un espectrómetro de emisión atómica con plasma generado por microondas (MP-AES 420, Marca Agilent) bajo el procedimiento interno PT-USAII-FQ-EA-003. La muestra fue tratada con ácido nítrico suprapuro Empleando un horno de microondas marca MultiWave Pro Anton Paar.

Los resultados obtenidos fueron los siguientes:

Tabla 20. Resultados espectroscopía de emisión atómica

| Muestra | µg/g Cu | µg/g Fe | µg/g Sn | µg/g Ag | µg/g Zn | µg/g Pb | µg/g As |
|-----------------|----------|-----------|---------|---------|---------|---------|---------|
| AMNAM01 | 8469.57 | 368314.66 | 2.07 | 3.43 | 181.91 | 1106.90 | 322.07 |
| AMNAM02 | 11453.79 | 436322.42 | 3.36 | 2.65 | 248.10 | 1372.29 | 461.56 |
| AMNAM03 | 10260.44 | 407106.88 | 2.66 | 0.66 | 176.68 | 1157.50 | 466.86 |
| Promedio | 10061.27 | 403914.65 | 2.70 | 2.25 | 202.30 | 1212.23 | 416.83 |
| Desviación (±s) | 1502.05 | 34116.08 | 0.65 | 1.43 | 39.81 | 140.91 | 82.11 |

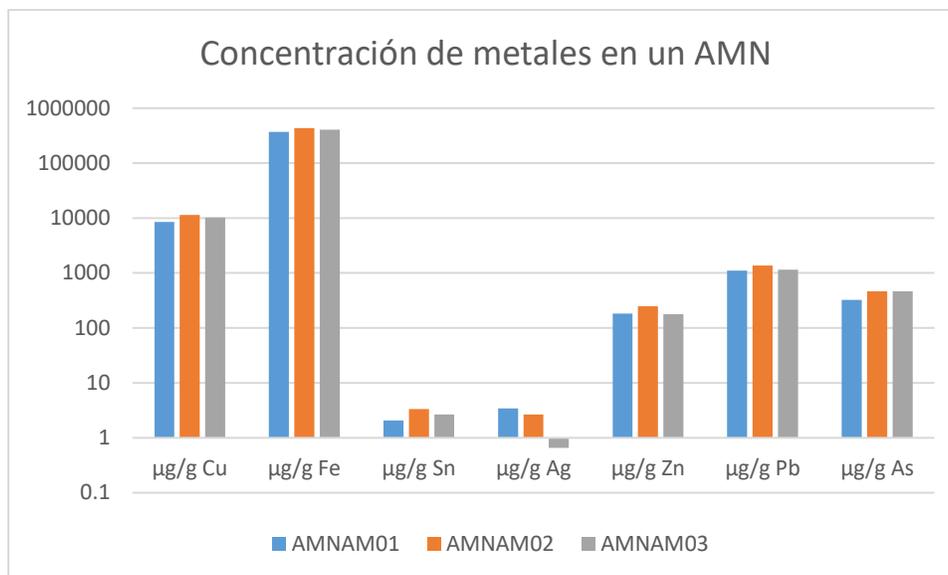


Figura 58. Gráfico de espectroscopía de emisión atómica. Elaboración en colaboración con el M en Ing Amb Eduardo Vázquez Aguilar.

Se observa que el elemento más encontrado en las muestras (en promedio) es el hierro con 403914.65 µg sobre g de muestra, continuando con cobre con 10061.27 µg sobre g de muestra, posteriormente el plomo con 1212.23 µg sobre g de muestra, sigue arsénico, zinc, estaño y plata con 416.83 µg, 202.30 µg, 2.70 µg y 2.25 µg sobre g de muestra respectivamente.

A1.2 DIFRACCIÓN DE RAYOS X

La difracción de rayos X permite identificar minerales por su estructura cristalina, consiste en atravesar una muestra de materia con radiación electromagnética X, esta interactúa con los electrones de los átomos de la muestra y son difundidos por el entorno ordenado de un cristal. Un detector de rayos X capta las señales difractadas obteniendo un difractograma, este es comparado con la base de datos de minerales hasta obtener el gráfico que coincida (Skoog et al., 2008b).

Para el análisis se envió el AMN en polvo a la USAII donde se utilizó un difractómetro de rayos x modelo D8 Advacnce DAVINVI con Software de control D8 Advance DIFFRAC.MEASUREMENT CENTER y el paquete de evaluación DIFFRAC.EVA. Se comparó con la base de datos ICDD-PDF4: ICDD PDF2, PDF4+, PDF4/Organics, PDF4/Minerals

De la lista de posibles candidatos y en comparación con la base de datos, se encontraron los siguientes minerales con un factor de emparejamiento mayor a 0.6 que coinciden con los metales de transición encontrados en las pruebas anteriores (MEB y EEA): carbonatos, óxidos y silicatos de Ti, Ag, Cu, Fe y Zn.

ANEXO 2. METODOLOGÍAS PARA LA DETERMINACIÓN DE CONCENTRACIONES DE MICROORGANISMOS Y MATERIA ORGÁNICA A TRABAJAR

A2.1 CUANTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS

La cuantificación de coliformes fecales y coliformes totales se realizó basándose en el *Standard Methods* sección 9215.C por el método de extensión en placa (APHA et al., 2017b)

A2.1.1 Materiales:

- a) Agitador vortex G560
- b) Asa bacteriológica
- c) Autoclave Felisa FE-397
- d) Gradilla
- e) Incubadora Labnet 15211-DS
- f) Matraz volumétrico de 1 L
- g) Matraz volumétrico de 10 mL
- h) Matraz volumétrico de 25 mL
- i) Medidor de pH Oakton RS232
- j) Medios de cultivo: agar M-FC y agar Endo
- k) Micropipeta de 100-1000 μ L Labopette Hirschmann labogerate
- l) Micropipeta de 20-200 μ L BioHit Proline
- m) Papel aluminio
- n) Pipeta graduada de 5 mL
- o) Solución de fosfatos (KH_2PO_4) 0.25 M
- p) Solución de MgCl_2 0.4 M
- q) Tubos de 16x150 mm con tapón de rosca

A2.1.2 Preparación de reactivos

- a) Buffer de dilución

Se tomaron 1.25 mL del stock de fosfatos y 5.0mL del stock de cloruro de magnesio y se aforaron a 1 L con agua destilada, verificar pH 7.2 ± 0.1 . Se esterilizó por autoclave durante 15 min a 121°C .

b) Stock de fosfatos 0.25 M

Se pesaron 0.34 g de KH_2PO_4 , se disolvieron y se aforaron a 10 mL con agua destilada.

La solución se descarta si presenta turbidez.

c) Stock de cloruro de magnesio 0.4 M

Se pesaron 2.02 g de MgCl_2 y aforaron a 25 mL con agua destilada.

La solución se descarta si presenta turbidez.

A2.1.3 Metodología para la cuantificación de CF y CT en agua

Se tomaron 0.1 mL de muestra y se inocularon por duplicado en Agar Endo y Agar mFc para coliformes totales y fecales respectivamente, posteriormente se realizó la extensión en placa con ayuda de un asa bacteriológica. Posteriormente se tomó 1mL de la muestra y se colocó en 9 mL de buffer de dilución estéril (tubo 1), se homogenizó con vortex y se tomó una alícuota de 0.1mL para inocular y extender en ambos medios por duplicado.

Del tubo 1 se tomó una alícuota de 1 mL y se colocó en 9 mL de buffer de dilución estéril (tubo 2), se homogenizó e inocularon 0.1 mL en ambos agares realizando la extensión. Se repitió el procedimiento de diluciones seriadas 1:10 y extendido en placa hasta el tubo 5.

Para reportar se eligieron las cajas que presentaban 30-300 UFC y se realizó el cálculo de acuerdo con la dilución correspondiente.

A2.2 DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO

La técnica de la determinación de la demanda química de oxígeno se realizó a refluo cerrado por el método colorimétrico basándose en el *Standard Methods* sección 5220.D (APHA et al., 2017a)

A2.2.1 Materiales:

- a) Ag_2SO_4
- b) Agua destilada
- c) Bureta
- d) Campana de extracción
- e) Celda de cuarzo de 3mL
- f) Digestor Hanna Instruments HI839800
- g) Espectrofotómetro Pharamcia Biotech 80210620
- h) Gradilla
- i) H_2SO_4
- j) HgSO_4
- k) $\text{HOCC}_6\text{H}_4\text{COOK}$ (KHP)
- l) Horno Roberts Law
- m) $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$
- n) Matraz volumétrico de 1 L
- o) Matraz volumétrico de 250 mL
- p) Micropipeta de 100-1000 μL Labopette Hirschmann labogerate
- q) Micropipeta de 0.5-5 mL Transferpette
- r) Pinzas mariposa
- s) Soporte universal
- t) Tubos de vidrio de 16x100 mm con tapón de rosca
- u) Vaso de precipitados de 250 mL

A2.2.2 Preparación de reactivos

- a) Solución de digestión

Se pesaron 2.0432 g de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ previamente seco en el horno a 150°C por 2 horas, se disolvió en 100 mL de agua destilada, se adicionaron lentamente 33.4 mL de H_2SO_4 y 6.66 g de HgSO_4 . Posteriormente se disolvió, se dejó enfriar y se aforó a 250 mL.

- b) Solución de biftalato de potasio (KHP)

Se pesaron 106.5 mg de biftalato de potasio previamente seco en el horno a 150°C por 24 horas y se aforaron a 250 mL con agua destilada.

c) Reactivo de ácido sulfúrico

Se agregaron 5.06 g de Ag_2SO_4 en un matraz volumétrico de 500 mL y se aforó con H_2SO_4 . Se dejó reposar de 1-2 días para su total disolución.

d) Curva de calibración

En tubos se colocaron las siguientes cantidades de agua y solución de KHP

Tabla 21. Curva de calibración DQO

| mL KHP | mL H_2O | mgO_2/L |
|--------|-------------------------|-------------------------|
| 0 | 2.0 | 0 |
| 0. | 1.7 | 75 |
| 0.6 | 1.4 | 150 |
| 0.8 | 1.2 | 200 |
| 1.0 | 1.0 | 250 |
| 1.5 | 0.5 | 375 |
| 2.0 | 0 | 500 |

e) Preparación de muestras

Se pasaron 10 mL de muestra en un filtro de jeringa con poro de 0.20 μm , posteriormente se colocaron 2 mL del agua muestreada y filtrada en tubos por triplicado.

f) Preparación de blancos

Los dos blancos se prepararon con 2 mL de agua destilada. Solo uno de estos se digestó.

A2.2.3 Metodología para la determinación de la DQO

A cada tubo, tanto de la curva de calibración como de las muestras y los blancos se le agregaron 1.2 mL de solución de dicromato con ayuda de una bureta, 3.5 mL de solución de ácido sulfúrico y se homogenizaron con un agitador vortex. Los tubos se colocaron en el digestor a 150 °C durante 2 horas.

Tras la digestión, los tubos se dejaron enfriar destapados. La lectura se realizó con un espectrofotómetro a 600 nm, ajustando a cero el blanco no digerido, la lectura del blanco digerido se le resta a las absorbancias de la curva de calibración y de las muestras.

Se graficó en el eje de las abscisas la concentración de DQO teórica de acuerdo con las diluciones de la curva de calibración y en el eje de las ordenadas las absorbancias. Se obtuvo la ecuación de la recta y con base en esta se realizó una interpolación conociendo la absorbancia medida de la muestra, obteniendo así la concentración de materia orgánica en la muestra de agua.