

Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano
Departamento de Agroindustria Alimentaria
Ingeniería en Agroindustria Alimentaria



Proyecto Especial de Graduación
Evaluación microbiológica del agua procesada por medio del
Solvatten®

Estudiante

Daniel Alfonso Fajardo Reyes

Asesores

Mayra Márquez González, Ph.D.

Adriana Hernández Santana, D.Sc.

Honduras, julio 2021

Autoridades

TANYA MÜLLER GARCÍA

Rectora

ANA M. MAIER ACOSTA

Vicepresidenta y Decana Académica

ADELA M. ACOSTA MARCHETTI

Directora Departamento de Agroindustria Alimentaria

HUGO ZAVALA MEMBREÑO

Secretario General

Agradecimientos

Un especial agradecimiento a mi asesora principal, Dra. Márquez, quien me ha aconsejado, ha enseñado y ha tenido paciencia durante el desarrollo del proyecto.

Agradezco a la fundación EUROSAN por el financiamiento del proyecto.

Contenido

Agradecimientos	3
Contenido.....	4
Índice de Cuadros.....	6
Índice de Figuras	7
Resumen	8
Abstract.....	9
Introducción.....	10
Materiales y Métodos	14
Ubicación del Estudio.....	14
Evaluación de la Presencia de Microorganismos Indicadores Después del Procesamiento Calórico del Agua	14
Tipo de agua.....	14
Preparación de inóculo	14
Preparación del equipo.....	14
Recuento microbiológico	15
Diseño Experimental.....	16
Evaluación de la presencia de Salmonella spp. después de la exposición del equipo a la irradiación solar.....	16
Preparación del inóculo de Salmonella spp.....	16
Preparación de equipo.....	16

Análisis de Salmonella.....	17
Diseño Experimental.....	17
Resultados y Discusión.....	18
Microorganismos indicadores.....	18
Inóculo bajo	19
Inóculo alto	20
Salmonella.....	24
Inóculo bajo	25
Inóculo alto	25
Conclusiones	28
Recomendaciones.....	29
Referencias.....	30

Índice de Cuadros

Cuadro 1 <i>Temperaturas internas y externas</i>	18
Cuadro 2 <i>Porcentaje de reducciones de ambos inóculos</i>	22
Cuadro 3 <i>Temperaturas internas y externas (Salmonella)</i>	25
Cuadro 4 <i>Conteo inóculo bajo Salmonella</i>	25

Índice de Figuras

Figura 1 <i>Preparación del equipo.</i>	15
Figura 2 <i>Recuentos de Bacterias Mesófilas Aerobias (BMA) y enterobacterias (ENT) en agua tratada en el equipo Solvatten (Inóculo bajo).</i>	19
Figura 3 <i>Recuentos de coliformes totales (CT) y Escherichia coli (EC) en agua tratada en el equipo Solvatten (Inóculo bajo).</i>	20
Figura 4 <i>Recuentos de Bacterias Mesófilas Aerobias (BMA) y enterobacterias (ENT) en agua tratada en el equipo Solvatten (Inóculo alto).</i>	20
Figura 5 <i>Recuentos de coliformes totales (CT) y Escherichia coli en agua tratada en el equipo Solvatten (Inóculo alto).</i>	21

Resumen

El consumo de agua contaminada interfiere en el crecimiento de los niños debido a infecciones periódicas a las que se ven expuestos. Por esta razón, se han implementado proyectos para mejorar la calidad de vida y una de las mayores promesas es el equipo de Solvatten, el cual, utiliza la irradiación solar y temperatura para la inactivación y eliminación de microorganismos en el agua tratada. El experimento se dividió en dos fases realizando un análisis de agua evaluando la eficiencia de reducción de microorganismos indicadores y otra reducción de *Salmonella*. Los objetivos se basaron en evaluar la presencia de microorganismos indicadores y *Salmonella* después del procesamiento calórico del agua. Se utilizó un diseño de muestras pareadas con dos niveles, inóculo alto y bajo, con cinco repeticiones para indicadores y tres para patógenos. Se analizaron los datos en el programa estadístico SAS v 9.4, por medio de prueba t de Student con un nivel de significancia ($P < 0.05$). Las variables dependientes conformadas por la concentración de Bacterias Mesófilas Aerobias (BMA), Enterobacterias (ENT), Coliformes Totales (CT), *E. coli* (EC) y *Salmonella* (SAL). Los resultados de inactivación fueron del 98.77% para indicadores y de 99.90% para patógenos, comprobando el Solvatten por medio radiación ultravioleta y temperatura conllevar a la disminución de las poblaciones de bacterias de interés de 2 a 4 log UFC/ mL respectivamente. Estos resultados sugieren una disminución en el riesgo de contagio a enfermedades entéricas por parte de los usuarios del equipo, el cual puede ser utilizado para proyectos sociales para incrementar la calidad microbiológica del agua ingerida.

Palabras clave: Análisis de agua, coliformes totales, *Escherichia coli*, inactivación, *Salmonella*.

Abstract

The consumption of contaminated water interferes in child growth due to periodic infections to which they are exposed. For this reason, many projects have been implemented to improve quality of life. One of the greatest promises is the Solvatten device which uses solar irradiation and temperature for the inactivation and elimination of microorganisms in water. The experiment was divided into two phases, performing a water analysis evaluating the efficacy of reducing indicator microorganisms and reducing pathogens. The objectives set for the research were based on evaluating the presence of indicator microorganisms and *Salmonella* after caloric processing of the water. A paired samples design was used with two levels, high and low inoculum, with five replications for indicators and three for pathogens. The data was analyzed in the statistical program SAS v 9.4, using a Student's t test with a significance level ($P < 0.05$). The dependent variables evaluated were the concentration of Aerobic Mesophilic Bacteria (BMA), Enterobacteria (ENT), Total Coliforms (CT), *E. coli* (EC) and *Salmonella* (SAL). The inactivation results were 98.77% for indicators and 99.9% for pathogens, demonstrating that the application of Solvatten by means of ultraviolet radiation and temperature leads to a decrease in bacteria populations from 2 to 4 log UFC/ mL. Therefore, a decrease in the risk of spreading enteric diseases by the users of the equipment can happen, showing that the equipment can be used for social projects for an increase in the water microbiological quality.

Keywords: Escherichia coli, inactivation, Salmonella, total coliforms, Water analysis

Introducción

Desde los comienzos de la civilización los humanos tienden a establecerse en sitios próximos a fuentes de agua; siendo este un material crucial para la sobrevivencia que define entre la vida y la muerte. En la actualidad, el agua es uno de los recursos más valorados alrededor del mundo. La simple obtención de una fuente limpia presenta una gran ventaja promoviendo un mejor bienestar diario. Aunque este recurso esté presente en muchos lugares son pocas las fuentes confiables de las cuales los humanos puedan hidratarse. Se estima que menos del 2.5% de toda el agua en el planeta es agua dulce, y solo se dispone de una pequeña parte de ella para multitud de utilidades del hombre. Puede ser encontrada en lagos, mares, ríos y acueductos en la profundidad terrestre; gran parte de ella también contenida en los casquetes polares (Pierre-Louis et al. 2010). Sin embargo, no todas estas fuentes de agua pueden ser ingeridas por los seres humanos y pueden llegar a causar daño a la salud. Esto se debe a que el agua presenta condiciones óptimas para la proliferación de organismos patógenos y que este mismo recurso puede ser contaminado por materiales industriales, agrícolas y urbanos (Fernández Cirelli 2012).

Desde un aspecto nutricional el agua es un sustento para la vida y las actividades motoras del cuerpo. Al igual que el planeta Tierra, el cuerpo humano está compuesto entre un 50 a un 70% de la masa corporal de un adulto y 75% para infantes. El agua es utilizada por el cuerpo para mantener el balance dentro de él; para llevar a cabo funciones fisiológicas de solvente, transporte y estructural; y actividades metabólicas dentro del cuerpo. Además de la ingesta de agua también se debe de considerar la pérdida de fluidos (Perales-García et al. 2016), ya sea por orina, sudoración o heces. Siempre es recomendable mantener el balance hídrico dentro del cuerpo con una ingesta regular de agua de 3 L/día para adultos, 1.5 L/día para niños de 1 a 4 años y 1 L/día para lactantes (Iglesias Rosado 2011). Cabe mencionar que la ingesta de agua diaria depende del sexo, edad, embarazo y condiciones patológicas específicas. Por ello, es de vital importancia que los seres humanos cuenten con este líquido en el diario vivir, para que se pueda contar con condiciones favorables de vida.

En 2010, la Asamblea General de las Naciones Unidas reconoció el derecho humano al agua y al saneamiento reafirmando que un agua potable limpia y el saneamiento son esenciales para la realización de todos los derechos humanos (ONU 2010). Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) se estima que aproximadamente 2,200 millones de personas carecen de servicios de agua potable gestionados de manera segura y 4,200 millones no cuentan con servicios de saneamiento gestionados de manera segura (OMS 2019). El acceso a este recurso se ve regido por el nivel socioeconómico al que la comunidad pertenezca, teniendo mayor impacto en comunidades de bajos recursos. En los últimos años los lugares que más afecta es Latinoamérica y África donde se han implementado proyectos para mejorar la calidad de vida de las personas.

En comunidades rurales la obtención de agua potable presenta una ardua tarea para las familias. En estos casos, las mismas comunidades se ven obligadas a hidratarse con agua proveniente de diferentes fuentes que presentan un riesgo a la salud. Al ser comunidades con dificultades económicas estas no cuentan con servicios de tratamiento de agua ni acueductos municipales que suministren agua a sus viviendas optando por tratamientos de agua domiciliarios. Los métodos que son utilizados con mayor frecuencia son la cloración, que consta de la adición de cloro al agua de bebida almacenada en un recipiente protegido; desinfección solar, que se basa en la exposición del agua en botellas desechable de plástico transparente a la luz del sol durante un día; filtración, la cual elimina gran parte de sólidos y gérmenes por medio de filtros de cerámica; sistemas mixtos de floculación y desinfección añadidos en polvos o pastillas para coagular y flocular sedimentos en el agua; y hervor utilizando una fuente de energía calórica (OMS 2007). De esta manera se descarta los métodos de desbaste, tratamiento químico, y filtración para la mejora de la calidad del agua a recibir debido al aspecto económico de muchas comunidades rurales. Existe también la obtención de agua por medio de vertientes o manantiales naturales y pozos que permiten la adquisición del agua freática de los acuíferos subterráneos. Sin embargo, estas fuentes naturales pueden llegar a contaminarse por residuos antropogénicos arriesgando la vida de aquellos que ingieren el agua.

Otro aspecto clave para tomar en cuenta es la carga microbiológica contenida en el medio. El agua provee condiciones óptimas para la proliferación de microorganismo que pueden llegar a causar daño a la salubridad de las personas. Se estima que alrededor de un millón ochocientas mil personas mueren de enfermedades diarreicas cada año, afectando a niños menores de cinco años de edad (OMS 2007). Este tipo de enfermedad pueden llegar a afectar el consumo normal de comida y reduce la adsorción de nutrientes los cuales afectan en el desarrollo cognitivo y crecimiento físico, reduce resistencia a infecciones y mayor riesgo de desarrollo de problemas gastrointestinales a largo plazo (Rosa y Clasen 2010). Los microorganismos patógenos causantes de diarrea, cólera y fiebre están relacionados con *Shigella sonnei*, *Salmonella* spp. y *E. coli* por contaminación de material fecal al agua. En el caso de los virus estos pueden llegar a causar Hepatitis A y Hepatitis E con altos casos en países en desarrollo. También se pueden llegar a encontrar amebas, *Cryptosporidium* sp. y *Giardia* sp. que son los protozoos patógenos más comunes en el agua (CAWST 2011).

En consecuencia, se han desarrollado nuevas tecnologías y se han llevado a cabo investigaciones sobre los posibles equipos y materiales que pueden ser utilizados para disminuir la carga microbiana contenida en el agua. Al evaluar la calidad del agua son tres diferentes aspectos los que se toman en consideración, los cuales, incluyen los biológicos, como bacterias, virus y organismos indicadores; químicos como metales pesados y sólidos disueltos, y físicos como turbidez y color. Sin embargo, muchas de estas tecnologías necesitan de una alta inversión para poder ser implementadas. Una de los procesos de mayor interés es la desinfección solar (SODIS) que ha ganado gran popularidad en los últimos años en la que se utilizan contenedores transparentes, ya sean de vidrio o plástico, los cuales, son colocados a la luz del sol por al menos seis horas, haciendo el agua segura para consumo (McGuigan et al. 2012). Por ello, se han fabricado equipos apuntando hacia el sector rural de bajos recursos que faciliten la limpieza del agua, a un bajo precio y con fácil manejo, siendo uno de los más conocidos el equipo de SOLVATTEN.

SOLVATTEN es un equipo diseñado para facilitar su uso por las personas y puedan obtener agua limpia. Este implemento utiliza la radiación solar junto con un procesamiento de filtración, pasteurización y esterilización UV para asegurar la inactivación de microorganismos que causen diarrea u otras enfermedades (Hagström y Lundström 2012). El equipo tiene una tonalidad negra para poder absorber mayor luz solar y así elevar la temperatura para inactivar los microorganismos y cuenta con dimensiones de 49 × 36 × 13 cm, con la capacidad de procesar 10 L de agua (Solvatten 2019). También cuenta con indicadores que revelan cuando el agua termina su procesamiento los cuales fueron elaborados para que personas de todas las edades logren entender. Al verter el agua dentro del equipo SOLVATTEN pasa por un filtro de tela el cual puede ser reemplazado por prendas de tela, manteniendo la estabilidad económica de los usuarios (Hagström y Lundström 2012). Todo el conjunto fue diseñado para que sea duradero y que no se necesite mayor mantenimiento. Al trabajar con la energía solar el aparato es dependiente del clima en el que se esté implementando. Es decir, que en temporadas con altas tasas de lluvia se necesitará mayor planificación de su uso y mayor tiempo de exposición para asegurar que el agua cuente con todos los requisitos de calidad para la ingesta de los usuarios. Los objetivos de este estudio fueron:

Evaluar la presencia de microorganismos indicadores después del procesamiento calórico del agua.

Evaluar la presencia de *Salmonella* spp. después del procesamiento calórico del agua.

Materiales y Métodos

Ubicación del Estudio

La investigación se realizó en el Laboratorio de Microbiología de Alimentos de Zamorano (LMAZ) ubicado en la Escuela Agrícola Panamericana Zamorano, Francisco Morazán, Honduras. El experimento se elaboró en el periodo entre septiembre y diciembre de 2020 y parte de abril de 2021.

Evaluación de la Presencia de Microorganismos Indicadores Después del Procesamiento Calórico del Agua

Tipo de agua

Se realizaron pruebas en agua para determinación de cloro residual con tiras reactivas de alcalinidad. En ambas pruebas se obtuvieron resultados de 0.05 mg/L teniendo que considerar el cloro como barrera antimicrobiana con repercusiones en los resultados en los conteos microbiológicos.

Preparación de inóculo

Se recolectaron heces frescas del área de vaquillas de Zamorano pesando 10 g para inóculo bajo (3 log UFC/ mL) y 20 g para inóculo alto (5 log UFC/ mL) a los cuales se le agregaron 100 mL de solución buffer. Se prosiguió a hacer dos diluciones (10^0 hasta 10^{-2}) utilizando una proporción de 10 mL de la mezcla de heces en 90 mL de solución buffer para inóculo bajo; en cambio, para el inóculo alto solamente se realizó la siembra directa (10^0) de la mezcla de heces. Con los 100 mL restantes de cada inóculo se aforaron a 10 L de agua purificada dentro de una bolsa de plástico estéril. Cabe destacar que se dejaron aproximadamente 200 mL de agua inoculada para analizar los recuentos microbiológicos.

Preparación del equipo

Se colocó un filtro de tela sobre el orificio de entrada del Solvatten y se vertieron los 10 L de los tratamientos dentro del equipo el cual fue expuesto al sol durante un rango de tiempo de 3 a 5 horas esperando el cambio en el indicador, significando el fin del proceso. El indicador cuenta con un interruptor en la parte superior del ala derecha del equipo compuesto de dos símbolos, cara triste

(roja) y cara verde (sonriendo); el rojo significa que el agua necesita ser tratada y verde cuando se haya terminado el procesamiento, como se puede observar en las imágenes. Una vez terminado el proceso se extrajeron muestras de ambos lados del Solvatten para que fueran analizados en laboratorio (Figura 1).

Figura 1

Preparación del equipo



Recuento microbiológico

Se analizaron Bacterias Mesófilas Aerobias (BMA), Enterobacterias (ENT), Coliformes Totales (CT) y *E. coli* (EC). Los conteos de BMA y ENT se realizaron por metodología de vaciado en placa establecido en el Bacteriological Analytical Manual (Maturin y Peeler 2001). Los recuentos de CT y EC se procesaron por medio de Filtración por Membrana (FM) con los resultados expresados en log UFC/100 mL (Baird et al. 2017). Los recuentos después de la exposición al sol se realizaron por duplicado, analizando ambos lados del equipo. Adicionalmente, se tomaron las temperaturas internas del agua y externas del equipo de ambos lados del Solvatten.

Diseño Experimental

Se utilizó un diseño de muestras pareadas con dos niveles conformados por inóculo alto y bajo. Por cada nivel se evalúan en dos tratamientos compuestos por el antes (ANT) y después (DES) del agua procesada. Las variables dependientes conformadas por la concentración de Bacterias Mesófilas Aerobias (BMA), Enterobacterias (ENT), Coliformes Totales (CT) y *E. coli* (EC), con cinco repeticiones, teniendo una totalidad de 20 unidades experimentales. Se analizaron los datos en el programa estadístico SAS v 9.4, en donde se realizó un análisis utilizando la prueba *t de Student* con un nivel de significancia del 5% ($P < 0.05$).

Evaluación de la presencia de *Salmonella* spp. después de la exposición del equipo a la irradiación solar

Preparación del inóculo de *Salmonella* spp

Se reactivó cepa de *Salmonella* entérica serotipo Typhimurium ATCC 14028 elaborando un estriado en Agar Cuenta Estándar (ACE). Se prosiguió a extraer una colonia aislada del estriado utilizando un asa metálica y se colocó dentro de Caldo Soya Tripticasa (CST). Se incubó durante 24 horas y se extrajeron 10 mL de CST para ser diluido en solución Buffer los cuales fueron evaluados a dos niveles de inóculo: Alto con 6 log UFC/ mL y bajo con 4 log UFC/mL. Para inóculo alto se aforaron 100 mL del frasco de CST sin elaborar diluciones (10^0), mientras para inóculo bajo se elaboraron dos diluciones (10^0 hasta 10^{-2}) con una proporción de 10 mL de CST con *Salmonella* en 90 mL en solución buffer (Vanderzant y Splittstoesser 1992). Se aforaron los 100 mL de inóculo de *Salmonella* y 100 mL de inóculo con materia orgánica a 10 L de agua purificada.

Preparación de equipo

Se colocó un filtro de tela sobre el orificio de entrada del Solvatten y se vertieron los 10 L de los tratamientos dentro del equipo. El Solvatten fue expuesto al sol durante un rango de tiempo de 3 a 5 horas esperando el cambio en el indicador, significando el fin del proceso. El indicador consiste en un switch en la parte superior del ala derecha del equipo compuesto de dos símbolos, cara triste (roja)

y cara verde (sonriendo); el rojo significa que el agua necesita ser tratada y verde cuando se haya terminado el procesamiento (Figura 1).

Análisis de Salmonella

Se realizaron recuentos de *Salmonella spp.* por medio de siembra por superficie y número más probable (NMP) los cuales se reportaron en unidades de log UFC/ mL y NMP / 100 mL según tablas propuestas por (Greenberg et al. 1985). Se hizo confirmación de NMP por medio de pruebas bioquímicas las cuales se analizaron corroborando los resultados plasmados en la prueba anterior y los cuales fueron reportados en NMP/ 100 mL, para luego ser convertidos a unidades de densidad microbiológica (cel/ mL) (Vanderzant y Splittstoesser 1992). Al igual que en la fase de indicadores, los recuentos se hicieron por duplicado, analizando ambas caras del equipo, donde se tomaron las temperaturas internas y externas de ambos lados del equipo.

Diseño Experimental

Se utilizó un diseño de muestras pareadas que consta de dos niveles conformados por inóculo alto y bajo. De la misma manera, los tratamientos están compuestos por el agua antes (ANT) y después (DES) con tres repeticiones por cada nivel, teniendo una totalidad de tres unidades experimentales. Se analizaron los datos utilizando el programa estadístico de SAS v 9.4 realizando un análisis *prueba t de Student* con un nivel de significancia de 95%.

Resultados y Discusión

Microorganismos indicadores

Después del tratamiento calórico del equipo, con un tiempo de exposición promediado de 4.62 ± 0.86 horas, se alcanzó una temperatura interna promedio de 56.5 ± 5.0 °C (Cuadro 1), y no se manifestó diferencia significativa entre ambas caras del equipo ($P > 0.05$). En cambio, en la temperatura externa existieron diferencias significativas entre ambos lados ($P < 0.05$) con un promedio de temperatura de 59.8 ± 4.4 °C para el lado A y 49.5 ± 4.7 °C para el lado B. Con estos resultados evidenciados en el Cuadro 1 se ve plasmado que el lado A y lado B ejercen un tratamiento equivalente en el agua contenida en el equipo. Por ello, los recuentos microbiológicos no fueron diferenciados por lado, los cuales fueron promediados para su análisis.

Cuadro 1

Temperaturas internas y externas.

Temperatura	Lado	Temperaturas internas y externas	
		Promedio $\pm$ DE (°C)	Valor P
Interna	A	58.05 ± 4.57	0.2065
	B	55.16 ± 5.26	
Externa	A	53.8 ± 4.44	0.0482
	B	49.46 ± 4.70	

Nota. DE: Desviación Estándar. °C: Grados Celsius.

Estos resultados concuerdan con lo investigado por Ormaza (2011), acerca de la desinfección solar del agua de río en botellas de tereftalato de polietileno (PET). En el estudio se recolectaron muestras de diferentes ubicaciones por donde transcurría el río, las cuales fueron expuestas al sol por un tiempo mínimo de 6 horas alcanzando un 99% de desinfección en las muestras. En otro estudio relacionado, investigado por Wegelin et al. (2005), se establece que la temperatura que debería de ser empleada por un método SODIS debería de oscilar entre 50 a 60 °C, la cual se debe de mantener por una hora para una inactivación eficaz de microorganismos. El calentamiento del agua se debe a la radiación de onda larga (700 nm), infrarroja, la cual es absorbida por el líquido. También se deben tomar en consideración aspectos geográficos del área ya que las regiones más favorables para aplicar

desinfección solar se ubican entre las latitudes 15 y 35° N, así como 15 y 35° S, las cuales son caracterizadas por la mayor cantidad de radiación solar. En el caso de la ubicación geográfica de la Escuela Agrícola Panamericana, esta se encuentra en latitud 14° 01' 46'' N y longitud de -87° 00' 00''. Por lo tanto, pueden basarse en la radiación solar como fuente de energía para la desinfección del agua para consumo humano (Ormaza 2011).

Inóculo bajo

Para Bacterias Mesófilas Aerobias (BMA) se obtuvieron resultados promediados previos a la exposición solar de 3.82 log UFC/ mL y de después de 0.9 log UFC/ mL (8 UFC/ mL), teniendo una reducción de 2.8 unidades logarítmicas (99.90%). En los resultados de Enterobacterias (ENT) se obtuvieron conteos iniciales de 1.45 log UFC/ mL y finales de 0.25 log o 4 UFC/ mL teniendo una reducción total de 1.2 log UFC/ mL (99.41%) (Figura 2) Para Coliformes Totales (CT) se demostró una disminución de 2.8 unidades logarítmicas o aproximadamente el 99.31%; mientras *E. coli* (EC) se observó una disminución de 2.9 unidades logarítmicas significando el 99.12% de inactivación (Figura 3).

Figura 2

Recuentos de Bacterias Mesófilas Aerobias (BMA) y enterobacterias (ENT) en agua tratada en el equipo Solvatten (Inóculo bajo).

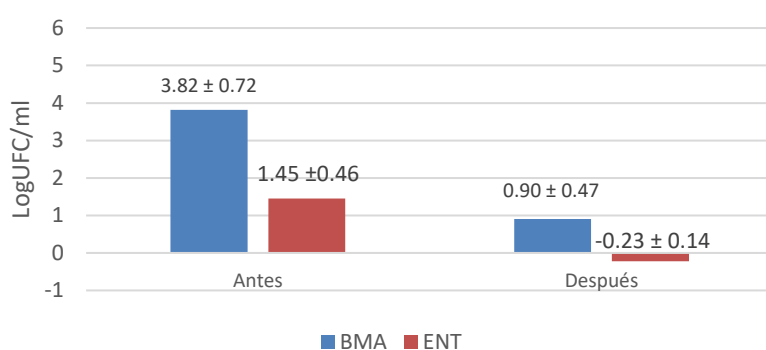
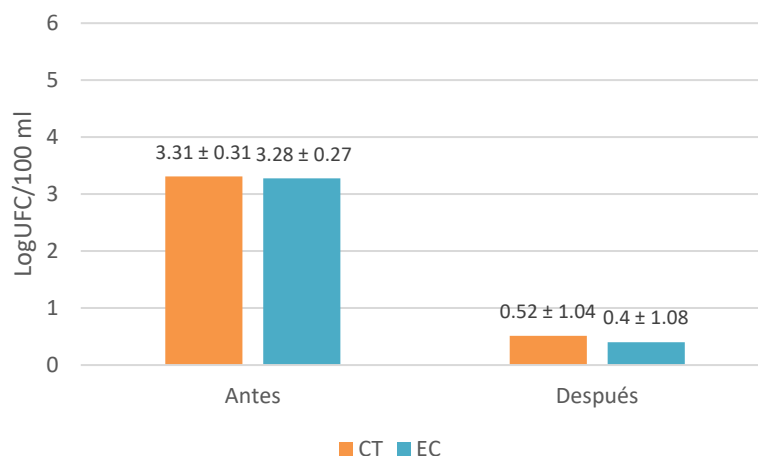


Figura 3

Recuentos de coliformes totales (CT) y Escherichia coli (EC) en agua tratada en el equipo Solvatten

(Inóculo bajo).



Los resultados muestran el cumplimiento en el conteo de BMA ya que la concentración final fue de 0.90 log UFC/ mL (8 UFC/ mL), obteniendo un valor menor a < 500 UFC/ mL establecido por la ley hondureña. Mientras para los resultados de CT y EC los recuentos microbiológicos fueron mayores a lo establecido por la Secretaría de Salud (Secretaría de Estado en el Despacho de Salud 2007).

Inóculo alto

En las Figuras 4 y 5 se muestran los resultados de los recuentos de BMA, ENT, CT y EC para inóculo alto. Las BMA tuvieron una disminución de concentración de 1.6 unidades logarítmicas (92.91%) y ENT lograron una disminución de 3.6 log UFC/ mL (99.99%). La reducción CT fue de 3.6 log UFC/ 100 mL (99.96%) y de 4.3 log UFC/ 100 mL (99.94%) de EC.

Figura 4

Recuentos de Bacterias Mesófilas Aerobias (BMA) y enterobacterias (ENT) en agua tratada en el equipo Solvatten (Inóculo alto).

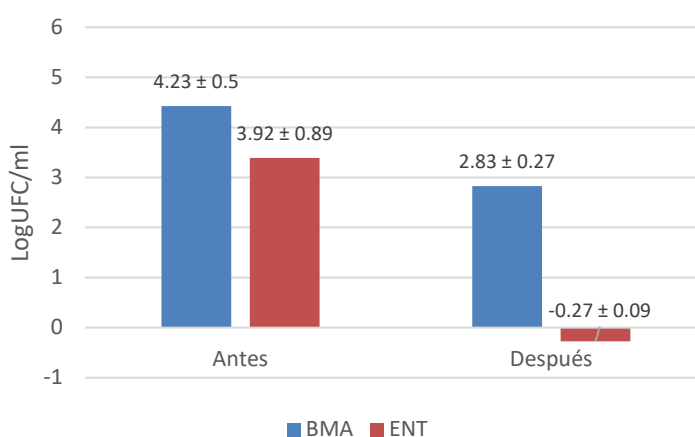
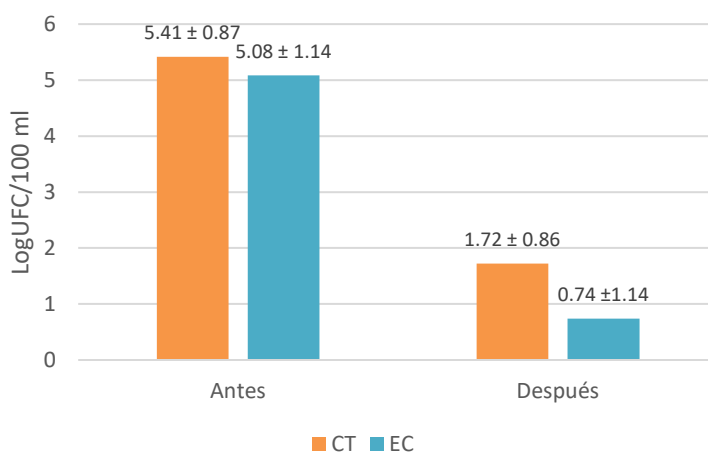


Figura 5

Recuentos de coliformes totales (CT) y Escherichia coli en agua tratada en el equipo Solvatten (Inóculo alto).



En comparación, ambos niveles de inóculo mostraron una eficiencia de reducción similar (Cuadro 2) desinfectando más del 90% de todos los microorganismos indicadores. En este análisis no se manifestaron diferencias significativas en los porcentajes de desinfección entre inóculo alto y bajo ($P > 0.05$). Por esta razón, la hipótesis nula es aceptada viéndose que el equipo ejerce una eficiencia de reducción similar para cada variable evaluada en ambos niveles de inóculo. Estos resultados están en concordancia a lo investigado por (Rijal y Fujioka 2004), donde se evaluaron materiales para desinfección solar y reportaron que después de un tiempo de exposición de tres horas y una

temperatura de 56 °C se alcanzó una reducción para *E. coli*, coliformes fecales y bacterias heterótrofas del 99.9%.

Cuadro 2

Porcentaje de reducciones de ambos inóculos.

Inóculo	Porcentaje de reducciones de ambos inóculos			
	BMA ± DE (%)	ENT ± DE (%)	CT ± DE (%)	EC ± DE (%)
Alto	92.91 ± 11.75	99.99 ± 0.002	99.96 ± 0.06	99.94 ± 0.13
Bajo	99.90 ± 0.11	99.41 ± 1.32	99.31 ± 1.28	99.12 ± 1.76
Valor P	0.2789	0.3474	0.2904	0.3327

Nota. DE: Desviación Estándar. BMA: Bacterias Mesófilas Aerobias. ENT: Enterobacterias. ENT: Enterobacterias. EC: Escherichia coli.

Se debe tomar en consideración la naturaleza de cada uno de los grupos de microorganismos, ya que pueden generar resistencia a las barreras de temperatura y radiación impuestas por el Solvatten. De acuerdo a los resultados de los porcentajes de reducción, para ambos niveles de inóculo, se vio menor porcentaje de reducción para BMA en comparación con el resto de los microorganismos indicadores. Esto se podría explicar debido a la naturaleza propia de cada microorganismo o a la familia a la que pertenecen estos.

Como grupo más general, por ende, más heterogéneo, son las bacterias mesófilas aerobias, las cuales son definidas según su rango de temperatura de crecimiento; entre ocho a 48 °C. En este grupo de bacterias se pueden encontrar Gram-positivas y negativas, bacilos, cocos, ácido lácticas y algunas hasta formadoras de esporas (Madigan et al. 2015; Obregón y Zambrano 2017). En los resultados se ve reflejado que las BMA tuvieron el menor porcentaje de reducción ya que este grupo es el más amplio y algunos microorganismos hasta pueden generar resistencias o entrar en latencia al ser expuestos a las temperaturas del Solvatten. Estos microorganismos al encontrarse de nuevo en condiciones favorables, tales como temperatura de la incubación (35 ± 2 °C) y nutrientes del agar, pueden volver a proliferar explicando la razón de menor inactivación en comparación del resto de los que fueron evaluados.

En el caso de las bacterias pertenecientes a la familia *Enterbacteracea* (ENT), considerada mesófilas aerobias, son definidas por ser bacilos, Gram-negativas, anaerobias facultativas, con la capacidad de fermentar carbohidratos en ausencia de oxígeno y sin formación de esporas. Cabe mencionar que cuentan con un crecimiento óptimo a temperatura de 35 - 37 °C, con un rango máximo hasta 45 °C (Mollinedo y Gonzáles 2014). Estas características concuerdan con los resultados, ya que para ENT se alcanzó la menor concentración final, teniendo como máximo 1 UFC/ mL en dos de las 10 repeticiones y 0 UFC/mL en ocho de las 10 repeticiones analizadas. Cabe mencionar que los coliformes totales y *E. coli* pertenecen a esta familia de microorganismos. En los resultados se ve mayor porcentaje de reducción para ambos, en comparación con ENT, debido a que cuentan con mayor concentración inicial para ambos niveles de inóculo los cuales fueron reducidos por más de 3 unidades logarítmicas.

Según los criterios microbiológicos establecidos por la ley hondureña, para el agua apta para consumo humano se establecen valores máximos de BMA de 500 UFC/ mL y de CT y EC de 0 UFC/ 100 mL (Secretaría de Estado en el Despacho de Salud 2007). De esta manera y considerando el agua después del procesamiento como no apta para consumo, ya que no se redujo CT y EC. En el caso de CT no se logró la reducción a 0 UFC/ 100 mL para ninguna de las repeticiones de inóculo alto; sin embargo, para inóculo bajo se redujo el parámetro establecido en tres de las 10 muestras analizadas, teniendo un valor promediado de los valores positivos de 72 UFC/ 100 mL. En cambio, para EC el 50% de las muestras, para inóculo bajo, y 40% de las muestras, para inóculo alto, dieron como resultados 0 UFC/ mL. De los resultados positivos de inóculo alto se obtuvo un valor promediado de la concentración final de 95 UFC/ 100 mL y de bajo de 99 UFC/ 100 mL. Estos resultados parcialmente contradicen lo informado en la página oficial de Solvatten, la cual reporta que en muestras con concentraciones iniciales de 5.3 log UFC/ 100 mL (200,000 UFC/ 100 mL) se logró una reducción a 0 UFC/ 100 mL, cumpliendo con el criterio establecido de la OMS para *E. coli* (Solvatten [accessed 2021]).

Según lo expuesto por (López González 2011), en su investigación se evaluaron muestras provenientes de fuentes naturales en Guatemala con concentraciones iniciales promediadas de 3.85 log NMP/ 100 mL de coliformes totales y 2.31 log NMP/ 100 mL de *E. coli*, las cuales fueron expuestas al sol durante ocho horas consecutivas en botellas de PET de 2 litros. Después del procesamiento se alcanzó una reducción del 100% en 15 (75%) de las 20 muestras analizadas para *E. coli* y 13 (65%) de las 20 muestras coliformes totales, las cuales fueron evaluadas por método de Numero Más Probable (NMP) Colilert®. Esto está en concordancia con lo expuesto en los resultados, aunque se hayan utilizado dos procedimientos diferentes; Colilert® y filtración por membrana. (Lewis y Mak 1989) reportan, en su investigación comparativa en la evaluación de coliformes totales y *E. coli*, que los resultados concuerdan en 98.5% para ambas metodologías. También se debe de tomar en consideración la disminución de transmisión de energía solar debido al grosor del plástico utilizado para el procesamiento. Según (Sommer et al. 1997; López González 2011), reportan mayor facilidad de desinfección para bolsas plásticas en alcanzar los 50 °C en comparación con botes plásticos debido a que existe mayor proporción entre la superficie expuesta y la profundidad de agua. De esta misma manera existe mayor cantidad de líquido contenido, aproximadamente 10 L de agua, dentro del Solvatten en comparación con 1 o 2 L que pueden ser contenidos dentro de las bolsas o botes plásticos.

Salmonella

Con un tiempo de exposición promediado de 6.18 ± 1.25 horas, se alcanzaron temperaturas internas de 50.33 ± 6.03 °C para el lado A, 49.53 ± 4.51 °C para el lado B y temperaturas externas de 47.62 ± 5.56 °C para el lado A y 47.22 ± 4.23 °C en el lado B (Cuadro 3). Ambas temperaturas no presentaron diferencia significativa ($P > 0.05$) dando a entender que ambos lados ejercieron temperaturas iguales sobre el agua contenida dentro del equipo. Por esta razón, no se diferenciaron los recuentos microbiológicos por lado.

Cuadro 3

Temperaturas internas y externas (Salmonella).

Temperatura	Lado	Temperaturas internas y externas Promedio $\pm$ DE ($^{\circ}$ C)	Valor P
Interna	A	50.33 $\pm$ 6.03	0.7084
	B	49.53 $\pm$ 4.51	
Externa	A	47.62 $\pm$ 5.56	0.8912
	B	47.22 $\pm$ 4.23	

Nota. DE: Desviación Estándar. $^{\circ}$ C: Grados Celsius.

Inóculo bajo

En el Cuadro 4 se ven reflejados los resultados obtenidos para *Salmonella*. Se comenzó con una concentración inicial de 4.5 ± 0.16 log UFC/ mL, el cual se redujo hasta -1.08 ± 0.44 cel /mL. Se determinó por medio de prueba t de Student, con un valor de significancia del 95%, que existe diferencia significativa entre el agua antes y después del procesamiento. De esta manera se evidencia una reducción del 99.99% para *Salmonella*. Sin embargo, se obtuvieron como resultados, en dos de las tres las repeticiones elaboradas, con valores >16 NMP/ 100 mL, los cuales pueden significar mayor contenido de *Salmonella* en el agua después de que haya sido procesada.

Cuadro 4

Conteo inóculo bajo Salmonella.

Tratamiento	N	Conteo inóculo bajo <i>Salmonella</i> Promedio $\pm$ DE (UFC/mL cel/ mL)	Valor P
Antes	3	4.5 $\pm$ 0.16	<.0001
Después	3	-1.08 $\pm$ 0.44	

Nota. DE: Desviación Estándar. $^{\circ}$ C: UFC/ mL: Unidades formadoras de colonia por mililitro. Cel/ mL: Células por mililitro.

Inóculo alto

Se evaluó inóculo alto a una concentración inicial de 6 log de UFC/ mL en tres repeticiones. Para estas tres repeticiones se realizaron pruebas de Número Más Probable (NMP) con resultados finales de > 16 NMP/ 100 mL. Por consecuente, no se elaboró análisis estadístico para este nivel de inóculo ya que no se detalla el número exacto de microorganismos encontrados en las muestras.

Según lo reportado por Wegelin et al. (2005), se necesita una temperatura de 58 °C, la cual debe de ser mantenida por 60 minutos, para que haya una desinfección total de *Salmonella*. En las tomas de temperatura interna se obtuvo como valor mínimo 41.3 °C y un máximo de 57.3 °C, explicando la posible causa de desinfección parcial de las muestras analizadas de este microorganismo.

De acuerdo a la investigación elaborada por Walker et al. (2004), en desinfección solar de agua en bolsas plásticas de grado alimenticio, se reportaron resultados de reducción de *Salmonella* Typhimurium de 3.5 y 5.5 unidades logarítmicas. Estos resultados varían debido a que se evaluaron en distintas épocas del año en el Estado de Connecticut, teniendo mayor desinfección en el agua durante la época tardía de primavera. De la misma manera, con resultados similares a Walker et al. (2004) y Berney et al. (2006) evaluaron la eficacia de desinfección solar en microorganismos patógenos en suspensión en vidrio de cuarzo; entre ellos *Salmonella* Typhimurium. Estos fueron expuestos a temperaturas dentro de un rango de 41-52 °C, obteniendo valores de reducción de 5 log UFC / mL a 50 °C después de cuatro horas de exposición.

Un factor que se debe de tomar en consideración para la elaboración de dispositivos de desinfección solar es el material con el que se elabora el equipo. Walker et al. (2004), evaluaron diferentes materiales en bolsas para desinfección solar comparando aquellos que absorben y reflejan la luz. Se demostró que aquellas bolsas elaboradas con plásticos metalizados tuvieron un mejor desempeño sobre la reducción de *Salmonella*, llegando a reducir 3.5 unidades logarítmicas, en comparación con una unidad logarítmica para el material plástico negro para absorber luz e incrementar la temperatura del agua. De esta manera se pueden hacer mejoras sobre los dispositivos SODIS, específicamente Solvatten, en el cual se pueden hacer cambios y mejoras en los materiales, así logrando mayor inactivación microbiológica, por consiguiente una mejora en la calidad del agua.

En síntesis, el dispositivo de Solvatten mediante desinfección solar no logra la inactivación completa de microorganismos, tanto indicadores como patógenos. Para los resultados de recuentos

microbiológicos estos no cumplían con lo establecido por la (OMS 1998), ya que *E. coli* y coliformes totales no deben de ser detectables en ninguna de las muestras evaluadas. Sin embargo, la OMS también presenta un sistema de clasificación de riesgo para la salud al consumir agua contaminada con coliformes, presentados en UFC/ 100 mL, en el cual se establece que entre 1-10 es de bajo riesgo, 10-100 riesgo intermedio, 100 -1000 alto riesgo y > 1000 riesgo muy alto. Por esta razón, los resultados de reducción de microorganismos evidencian la disminución en el riesgo para la salud, en el cual, el agua antes del procesamiento se considera como muy alto riesgo y el después de un riesgo intermedio. Esto sugiere que habrá una disminución en enfermedades diarreicas en comunidades que hagan un uso correcto del equipo, con evidencias demostradas por (Rose et al. 2006) al concluir que hubo una reducción del 40% en el riesgo de diarrea en niños pertenecientes a hogares en India que utilizaban un método de desinfección solar en comparación con aquellos que no utilizaban ningún método de desinfección.

Conclusiones

Después del procesamiento calórico del agua se redujo en promedio el 98.77% de los microorganismos indicadores; BMA, ENT, CT y EC. Esto significaría una disminución en el riesgo de contagio de enfermedades causadas por coliformes en donde las muestras de inóculo bajo se redujeron hasta riesgo bajo y alto hasta riesgo intermedio.

Después del procesamiento del agua existió reducción de 5 logaritmos de *Salmonella*. Sin embargo, se deben de realizar posteriores pruebas para la detección del microorganismo ya que en la mayoría de las muestras se obtuvieron valores >16 NMP/ 100mL.

Recomendaciones

Medir la radiación solar para evaluar la sinergia existente entre temperatura y radiación para este tipo de desinfección.

Tomar en consideración otros microorganismos que pueden producir enfermedades entéricas a los humanos, como virus y protozoarios, los cuales, necesitan de procesamiento más extremos para la inactivación o eliminación en el agua.

Realizar el experimento durante diferentes estaciones para evaluar el desempeño del Solvaten en condiciones alternas.

Uso de otros materiales que mejoren el rendimiento de la desinfección solar.

Referencias

- Baird RB, Eaton AD, Rice EW. 2017. Standard methods for the examination of water and wastewater: Membrane filter technique for member of the coliform group. 23ª ed. Washington DC: American Public Health Association; American Water Works Association; Water Environment Federation. ISBN: 978-0-87553-287-5.
- Berney M, Weilenmann H-U, Simonetti A, Egli T. 2006. Efficacy of solar disinfection of *Escherichia coli*, *Shigella flexneri*, *Salmonella Typhimurium* and *Vibrio cholerae*. J Appl Microbiol; [consultado el 21 de may. de 2021]. 101(4):828–836. eng. doi:10.1111/j.1365-2672.2006.02983.x.
- [CAWST] Centre for Affordable Water and Sanitation Technology. 2011. Introducción al tratamiento del agua a nivel domiciliario y su almacenamiento seguro. Alberta, Canada: [sin editorial]; [actualizado 03/2012; consultado el 4 de sep. de 2020]. 270 p. https://sswm.info/sites/default/files/reference_attachments/CAWST%202011.%20Introducci%C3%B3n%20al%20tratamiento%20agua%20a%20nivel%20domiciliario.pdf.
- Fernández Cirelli A. 2012. El agua: un recurso esencial. Química Viva; [consultado el 5 de sep. de 2020]. 11(3):147–170. <https://www.redalyc.org/pdf/863/863250900002.pdf>.
- Greenberg A, Trussell R, Clesceri L. 1985. Standard methods for the examination of water and wastewater: Most Probable Number Technique. 16ª ed. Washington DC: American Public Health Association.
- Hagström E, Lundström H. 2012. A field study in Kenya of isolation parameters to make water drinkable in the household water treatment unit SOLVATTEN. Sweden: Uppsala Universitet; [consultado el 5 de sep. de 2020]. <http://files.webb.uu.se/uploader/858/MFS-173hagstromlundstromminskadfil.pdf>.

- Iglesias Rosado C. 2011. Importancia del agua en la hidratación de la población española: documento FESNAD. *Nutr Hosp*; [consultado el 5 de sep. de 2020]. 26(1):27–36. https://scielo.isciii.es/pdf/nh/v26n1/articulos_especiales_3.pdf.
- Lewis CM, Mak JL. 1989. Comparison of membrane filtration and autoanalysis colilert presence-absence techniques for analysis of total coliforms and *Escherichia coli* in drinking water samples. *Appl Environ Microbiol*; [consultado el 4 de jun. de 2021]. 55(12):3091–3094. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC203228/pdf/aem00105-0067.pdf>.
- López González RA. jun. 2011. Aplicación del método de desinfección solar sodis en fuentes de aguas naturales utilizadas para consumo humano en comunidades de San Juan Sacatepéquez, Guatemala [Tesis]. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala; [consultado el 22 de may. de 2021]. <https://biblioteca-farmacia.usac.edu.gt/Tesis/QB993.pdf>.
- Madigan M, Martinko J, Bender K, Buckley D, Stahl D. 2015. *Biología de los microorganismos*. 14ª ed. Madrid, España: Pearson. ISBN: 9788490352809.
- Maturin L, Peeler JT. 2001. *Bacteriological Analytical Manual: Chapter 3: Aerobic Plate Count*. 8ª ed. [sin lugar]: Food and Drugs Administration. ISBN: 0935584897; [consultado el 17 de may. de 2021]. <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-chapter-3-aerobic-plate-count>.
- McGuigan KG, Conroy RM, Mosler H-J, Du Preez M, Ubomba-Jaswa E, Fernandez-Ibañez P. 2012. Solar water disinfection (SODIS): a review from bench-top to roof-top. *J Hazard Mater*. 235-236:29–46. eng. doi:10.1016/j.jhazmat.2012.07.053.
- Mollinedo M, Gonzáles C. 2014. Bacterias gram negativas. *Revista de Actualización Clínica*; [consultado el 29 de may. de 2021]. 49:2609–2613. http://www.revistasbolivianas.org.bo/pdf/raci/v49/v49_a05.pdf.
- Obregón D, Zambrano Z. oct. 2017. Evaluación microbiológica (aerobios mesófilos, *Bacillus cereus* y *Staphylococcus aureus*) y químico- toxicología de metales pesados (ph, hg) en leche para consumo humano en el distrito de Puente Piedra- Lima [Tesis]. Lima, Perú: Universidad Nacional Mayor de

San Marcos; [consultado el 30 de may. de 2020]. <https://core.ac.uk/download/pdf/323341338.pdf>.

[OMS] Organización Mundial de la Salud. 1998. Guías para la calidad del agua potable. 2ª ed. Ginebra, Suiza: Organización Mundial de la Salud. 3 vol. (vol. 3). ISBN: 92 4 354503 5; [consultado 5 de junio de 2021]. <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/41985/9243545035-spa.pdf>.

[OMS] Organización Mundial de la Salud. 2007. Lucha contra las enfermedades transmitidas por el agua en los hogares. Ginebra, Suiza: [sin editorial]. ISBN: 978 92 4 359522 1; [consultado el 3 de sep. de 2020]. https://www.who.int/household_water/advocacy/combating_disease_es.pdf.

[OMS] Organización Mundial de la Salud. 2019. 1 de cada 3 personas en el mundo no tiene acceso al agua potable, según UNICEF y la OMS: Un nuevo informe sobre las desigualdades en el acceso al agua, el saneamiento y la higiene también revela que en más de la mitad del mundo no hay acceso a servicios seguros de saneamiento. Nueva York: [sin editorial] ; [consultado el 6 de jun. de 2021]. <https://www.who.int/es/news/item/18-06-2019-1-in-3-people-globally-do-not-have-access-to-safe-drinking-water-%E2%80%93-unicef-who>.

[ONU] Organización de las Naciones Unidas. 2010. Resolución aprobada por la Asamblea General el 28 de julio de 2010: 64/292 El derecho humano al agua y el saneamiento. Nueva York: Organización de las Naciones Unidas; [consultado 5 de sept. de 2020]. https://www.un.org/ga/search/view_doc.asp?symbol=A/RES/64/292&Lang=S.

Ormaza CO. 2011. Desinfección solar en el agua del río Tomebamba [Monografía]. Ecuador: Universidad de Cuenca Facultad de Ingeniería Escuela de Ingeniería Civil; [consultado el 22 de may. de 2021]. <https://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/744/1/ti872.pdf>.

Perales-García A, Estévez-Martínez I, Urrialde R. 2016. Hidratación: determinados aspectos básicos para el desarrollo científico-técnico en el campo de la nutrición [Hydration: certain basic aspects for developing technical and scientific parameters into the nutrition knowledge]. Nutr Hosp;

[consultado el 4 de sep. de 2020]. 33(4):12–16. spa. <https://dx.doi.org/10.20960/nh.338>. doi:10.20960/nh.338.

Pierre-Louis K, Blumenfeld S, Lu C. 2010. Agua potable, diversidad biológica y desarrollo: guía de prácticas recomendadas. Montreal: [sin editorial]. ISBN: 92-9225-239-9; [consultado el 16 de may. de 2021]. <https://www.cbd.int/development/doc/cbd-good-practice-guide-water-booklet-web-es.pdf>.

Reglamento Técnico de Calidad de Agua Envasada y Hielo para Consumo Humano Directo e Indirecto, La Gaceta: Diario oficial de la República de Honduras. No. 31,381 (2007 ago. 14).

Rijal GK, Fujioka RS. 2004. Use of reflectors to enhance the synergistic effects of solar heating and solar wavelengths to disinfect drinking water sources. *Water Science and Technology*. 48(11-12):481–488. doi:10.2166/wst.2004.0897.

Rosa G, Clasen T. 2010. Estimating the scope of household water treatment in low- and medium-income countries. *Am J Trop Med Hyg*; [consultado el 19 de may. de 2020]. 82(2):289–300. eng. doi:10.4269/ajtmh.2010.09-0382.

Rose A, Roy S, Abraham V, Holmgren G, George K, Balraj V, Abraham S, Muliyl J, Joseph A, Kang G. 2006. Solar disinfection of water for diarrhoeal prevention in southern India. *Arch Dis Child*; [consultado el 5 de jun. de 2021]. 91(2):139–141. eng. doi:10.1136/adc.2005.077867.

Solvatten. [consultado el 30 de may. de 2021]. What is Solvatten?: What level of contamination can be treated? [sin lugar]: Solvatten. <https://solvatten.org/what-is-solvatten/>.

Solvatten. 2019. Solar safe water system, SSWS-10. [sin lugar]: Solvatten; [consultado el 27 de may. de 2021]. <https://www.engineeringforchange.org/wp-content/uploads/2015/08/Product-Specification-2019.pdf>.

Sommer B, Mariño A, Solarte Y, Dierolf C, Valiente C, Mora D, Rechsteiner R, Setter P, Wirojanagud W, Ajarmeh H, et al. 1997. SODIS-an emerging water treatment process. *Journal of Water Supply*;

[consultado el 20 de may. de 2021]. 46(3):127–137. https://www.researchgate.net/publication/235803199_SODIS-An_emerging_water_treatment_process.

Vanderzant C, Splittstoesser D, editores. 1992. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 3ª ed. Washington DC: APHA.

Walker DC, Len S-V, Sheehan B. 2004. Development and evaluation of a reflective solar disinfection pouch for treatment of drinking water. *Appl Environ Microbiol.* 70(4):2545–2550. eng. doi:10.1128/AEM.70.4.2545–2550.2004.

Wegelin M, Saladin M, Mercado A, Encalada M, Soto B, Medrano G, Altamirano O. 2005. Desinfección solar del agua: Guía de aplicación. 1ª ed. Cochabamba, Bolivia: Fundación Sodis; [consultado el 21 de may. de 2021]. <https://www.bivica.org/files/agua-desinfeccion-solar.pdf>.