

## **Calidad microbiológica de la arcilla bentonita. Capacidad de remoción de *Escherichia coli* ATCC 10536 en el agua potable.**

### **Microbiologic quality of the bentonite clay. Removal capacity of *Escherichia coli* ATCC 10536 in drinking water**

Autores: MSc. Yamiris Teresa Gómez D'Angelo<sup>1</sup>, Dra. María Isabel González González<sup>2</sup>, Lic. Linnet Santa Cruz Salfrán<sup>3</sup>, Lic. Sergio Chiroles Rubalcaba<sup>4</sup> y Téc. Cosset García Crucet<sup>5</sup> <sup>1</sup> M.Sc. Microbiología, Aspirante a Investigador, Profesor Instructor

<sup>2</sup> Dr. C. en Ciencias de la Salud, Investigador Titular, Profesor Instructor

<sup>3</sup> Lic. Ciencias Alimentarias, Reserva Científica \*

<sup>4</sup> Lic. Microbiología, Aspirante a Investigador

<sup>5</sup> Técnico Medio en Procesos Biológicos

Laboratorio de Microbiología de Aguas, Vicedirección Salud Ambiental. Instituto Nacional de Higiene, Epidemiología y Microbiología. Infanta 1158 e/ Clavel y Llinás, Centro Habana, CIP 10 300, Cuba. Tel. (53-7) 870-5531-34 Ext.143, Fax. (53-7) 8736320, Email: [walber@infomed.sld.cu](mailto:walber@infomed.sld.cu)

\* Grupo de Investigación, Producción y Desarrollo de los Alimentos Macrobióticos. Instituto de Producción de Vacunas y Sueros "Carlos J. Finlay". Calle 212 # 3112 entre 31 y 37. La Lisa, Cuba. Tel. (53-7) 2716557, Email: [lsantacruz@finlay.edu.cu](mailto:lsantacruz@finlay.edu.cu)

## **Resumen**

Se estudió la calidad microbiológica de la bentonita procedente del yacimiento de Managua, provincia Habana y su capacidad para la remoción de 10<sup>3</sup> cél/ml *Escherichia coli* ATCC 10536 en el agua. Se obtuvo un valor de 59 NMP/g de peso seco de coliformes totales y no se encontraron coliformes termotolerantes, considerándose que la arcilla no constituye una fuente de contaminación de bacterias de origen fecal. El contacto de la bentonita con el agua potable favoreció el crecimiento de microorganismos heterótrofos en esta última, alcanzándose concentraciones de 520 y 1800 UFC/ml en los experimentos realizados, es recomendable tener en cuenta este resultado para utilizar la bentonita en los procesos de descontaminación del agua potable. Se inoculó el agua con 10<sup>3</sup> cél/ml de *Escherichia coli* ATCC 10536 y se mantuvo 24 horas en contacto con la bentonita. Después del período de incubación la arcilla fue capaz de remover el 100% de las células de *E. coli*

## **Abstract**

Microbiologic quality of bentonite clay coming from the location of Managua, Havana and its capacity for the removal of 10<sup>3</sup> cel/ml *Escherichia coli* ATCC 10536 in the water were studied. The concentration of total coliforms was 59 NMP/g of dry weight and termotolerants coliforms were absent. Because of these results the clay doesn't constitute a source of contamination of bacterias of fecal origin. The contact of the bentonite with the drinking water promoted the growth of heterotrophic microorganisms in the water with concentrations of 520 and 1800 UFC/ml. This result is very important in order to use the bentonite in the processes of remediation of drinking water. The water was inoculated with 10<sup>3</sup> cel/ml of *Escherichia coli* ATCC 10536 and it stayed 24 hours in contact with the bentonite. After the period of incubation the clay was able to remove 100% of the cells of *E. coli*.

**Palabras Clave:** CALIDAD DEL AGUA; AGUA POTABLE; CONTAMINACION; BACTERIAS; RECURSOS NATURALES; CONSERVACION

## INTRODUCCIÓN

El agua representa un medio de trascendental importancia en la transmisión de algunas enfermedades infecciosas tales como: shigelosis, diarrea, leptospirosis, cólera, entre otras; por consiguiente su análisis es vital si se desea descartar la presencia de microorganismos no deseables en este medio. El grado de contaminación se establece por la concentración de *Escherichia coli*, pues en la práctica es difícil encontrar especies bacterianas, que en ausencia de *E. coli* deterioren la calidad microbiológica del agua (Herman et al., 1999).

Nuevas técnicas están disponibles para la remoción de los contaminantes. La mayoría de éstas consisten en la eliminación de los compuestos químicos y microorganismos presentes en el agua por un proceso de adsorción que tiene lugar entre el contaminante y la superficie externa de materiales de naturaleza variada por ejemplo, biopolímeros, resinas y arcillas (WHO, 2005; Sims y Little, 2005).

Se ha demostrado que el empleo de 12 mg/L del biopolímero quitosan es efectivo para remover el 87.7% de bacterias en las aguas residuales, lográndose una disminución considerable de la concentración bacteriana en el agua después del tratamiento (Chung, Li y Chen, 2005; Xie et al., 2005).

La arcilla bentonita es extremadamente efectiva en la remoción de ciertos componentes catiónicos y tiene una notable afinidad por los metales, en especial metales pesados en solución. Éstos llegan a estar ligados a la arcilla a través de un proceso de intercambio iónico, entre el ión metálico contenido en solución y las superficies aniónicas de las partículas de la arcilla (García y Suárez, 2001).

La bentonita también actúa como un coagulante natural ya que a través de los procesos de coagulación y floculación logra disminuir gran parte del contenido de sólidos en suspensión presente en el agua. Además es capaz de adsorber a su superficie externa virus patógenos, bacterias, aflatoxinas, pesticidas y herbicidas (García y Suárez, 2001; Clement y Farmer, 2000).

Los objetivos de este trabajo fueron conocer la calidad microbiológica de la arcilla bentonita procedente del yacimiento de Managua, provincia Habana, así como también evaluar su capacidad para la remoción de *E. coli* ATCC 10536 inoculada en el agua de consumo.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### **Análisis para evaluar la calidad microbiológica de la arcilla bentonita.**

Se calculó el peso seco de la arcilla según lo planteado en la Norma ISO 11465 (ISO, 1993). Se determinaron las concentraciones de coliformes totales y termotolerantes en la arcilla por la técnica de Tubos Múltiples de Fermentación o Número Más Probable (APHA, 1998; González et al., 2000). Cada uno de los análisis se realizó por triplicado.

### **Calidad microbiológica del agua en contacto con la arcilla bentonita.**

El agua potable se mantuvo en contacto con la bentonita durante 24 horas. A continuación se colectaron las muestras de agua en contacto con la arcilla y se determinaron las concentraciones de coliformes totales, coliformes termotolerantes y el conteo total de bacterias heterótrofas empleándose la técnica de filtración de membrana según APHA (1998). Se realizaron tres réplicas. Las colonias obtenidas en los medios de cultivos se sembraron en tubos de Agar Hierro Kligler.

El agua potable que se utilizó en el experimento se le realizó un control microbiológico de acuerdo a lo planteado en Norma Cubana de Agua Potable (NC, 1985).

### Remoción de *Escherichia coli* ATCC 10536 del agua.

Para evaluar la capacidad de la arcilla bentonita de remoción de las células de *Escherichia coli* ATCC 10536 presentes en el agua se preparó un inóculo de esta bacteria a una concentración de 10<sup>3</sup> células/ml. Posteriormente se incubó el agua potable con el inóculo y la arcilla en las condiciones antes mencionadas.

Transcurridas las 24 horas se colectaron las muestras de agua y se procedió de acuerdo a lo planteado anteriormente.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Tabla 1 muestra los resultados de los análisis microbiológicos realizados a la bentonita, así como su peso seco. La concentración de los coliformes termotolerantes fue < 0.2 NMP/g de peso seco, que es el valor límite inferior reportado en la Tabla del Índice del Número Más Probable, lo cual expresa que no hubo crecimiento en ninguno de los tubos de las series inoculadas. La ausencia de coliformes termotolerantes en la muestra analizada indica que no hay evidencia de contaminación de origen fecal. Los coliformes totales alcanzaron un valor de 59 NMP/g de peso seco (Tabla 1). Dentro de este grupo se encuentran diferentes géneros de bacterias de origen fecal de la familia *Enterobacteriaceae*, así como también bacterias procedentes de fuentes ambientales como partículas de suelo, materia orgánica (Bartram y Pedley, 1996), por lo que la presencia de los coliformes totales en la arcilla bentonita pudiera estar asociado a alguno de estos factores, ya que la misma procede de un yacimiento natural (Yacimiento de Managua) donde es frecuente que existan altos contenidos de materia orgánica. Estos resultados están de acuerdo a lo planteado por Bartram y Pedley que expresaron que un elevado número de coliformes totales podría estar asociado a conteos bajos e incluso a la ausencia de coliformes termotolerantes.

**Tabla 1. Número Más Probable de coliformes totales y termotolerantes en la arcilla bentonita. Peso seco.**

**Table 1. Most Probable Number of total coliforms and termotolerant coliforms in bentonita clay. Dry weight.**

Muestra	Análisis microbiológicos		
Arcilla bentonita	Coliformes totales (NMP/ g de peso seco)	Coliformes termotolerantes (NMP/g de peso seco)	Peso seco
	59	0.2	0.37

Leyenda: NMP: Número Más Probable

La Tabla 2 muestra las concentraciones de coliformes totales, coliformes termotolerantes y el conteo total de heterótrofos del agua potable sin inóculo y del agua potable inoculada con 10<sup>3</sup> cél/ mL de *E. coli* ATCC 10536, ambas en contacto con la bentonita durante 24 horas de incubación.

El control microbiológico del agua que se utilizó en el experimento demostró que la misma posee la calidad higiénico-sanitaria adecuada (NC, 1985). La interacción de la arcilla bentonita con el agua en las dos condiciones evaluadas, favoreció el crecimiento de microorganismos heterótrofos en esta última, alcanzándose valores de

520 y 1800 UFC/mL, respectivamente (Tabla 2). La diferencia en las concentraciones de microorganismos heterótrofos presentes en el agua, pudiera estar asociado a la ineficacia del método de desinfección utilizado en el tanque de acero inoxidable, entre un experimento y otro, lo cual contribuyó al incremento de microorganismos heterótrofos hasta una concentración de 1800 UFC/ml en el segundo experimento.

En el análisis de las placas se encontraron dos tipos de colonias con diferentes características culturales, las cuales fueron sembradas en Agar Hierro - Kligler. La lectura de este medio demostró que estos microorganismos no fermentan la lactosa, ni la glucosa, por lo que pudiéramos estar en presencia de Bacilos Gram Negativos No Fermentadores (BNF) o de levaduras procedentes de la microbiota autóctona de la bentonita provenientes de su fuente de origen o microorganismos propios del proceso de manipulación y transporte de la arcilla.

.La presencia de elevadas concentraciones de microorganismos heterótrofos en el agua, procedentes de la arcilla, es un hecho que hay que tener en cuenta para la utilización de la bentonita en el proceso de depuración del agua potable, ya que estos microorganismos, representan un peligro potencial para la salud de las personas, si se consumen en grandes cantidades, principalmente para los pacientes inmunodeprimidos (Chaerun et al., 2005).

El conteo de coliformes totales en el agua, en ambas condiciones, fue igual a 0 UFC/100 mL (Tabla 2). Los coliformes totales presentes en la arcilla (59 NMP/100 mL, Tabla 1) no se recuperaron en el agua; este hecho puede explicarse por el fenómeno de adsorción que tiene lugar entre las células bacterianas y las partículas de la arcilla.

**Tabla 2. Coliformes totales, coliformes termotolerantes y bacterias heterótrofas presentes en el agua en contacto con la arcilla sin /con el inóculo.**

**Table 2. Total coliforms, termotolerant coliforms and heterotrophic bacteria in the water in contact with the clay without / with the inoculum.**

<b>Análisis microbiológicos</b>			
<b>Muestras</b>	<b>Coliformes totales (UFC/ 100 mL)</b>	<b>Coliformes termotolerantes (UFC/ 100 mL)</b>	<b>Conteo Total de bacterias heterótrofas (UFC/mL)</b>
Agua potable sin inóculo en contacto con la arcilla bentonita	0	0	520
Agua potable inoculada en contacto con la arcilla bentonita	0	0	1800

Es conocido que los microorganismos son capaces de adherirse a las superficies sólidas y enlazarse a los poros de las mismas (Sanglay, Eifert y Summer, 2004). La bentonita tiene la propiedad de promover el crecimiento microbiano sobre su superficie. Algunas observaciones realizadas por microscopía electrónica de transmisión al complejo formado entre la célula microbiana y la arcilla han demostrado que los microorganismos se adhieren a la superficie del mineral (Chaerun et al., 2005)

La recuperación de las células bacterianas enlazadas a las superficies sólidas y particularmente a la arcilla bentonita, por lo general no es un proceso espontáneo, sino

que es necesario utilizar diferentes métodos para removerlas, tales como el tratamiento ultrasónico combinado con diferentes temperaturas y tiempos de agitación (Kawabata, Hayashi y Matsumoto, 1993). Por lo que no es sorprendente que el conteo de coliformes totales en el agua en contacto con la arcilla sea igual a cero, ya que de acuerdo a lo planteado anteriormente la célula bacteriana se enlaza fuertemente a la superficie de este mineral.

La ausencia de coliformes termotolerantes en el agua inoculada con *E. coli* ATCC 10536 después de 24 horas de incubación con la arcilla bentonita (Tabla 2) demuestran que la misma es capaz de remover las células de *E. coli* presentes en la muestra de agua.

Algunas investigaciones realizadas han demostrado que concentraciones de 0.10 a 0.50 g/ L de bentonita húmeda son efectivas para la remoción del 100 % de la microalga *Prymnesium parvum* por el mecanismo de floculación bajo determinadas condiciones (Sengco et al., 2005) Igualmente *Schistosoma mansoni cercariae* fue removido de aguas limpias y turbias por floculación utilizando la bentonita, lográndose una disminución de más del 90% de las células en el agua (Olsen, 2003). Los virus también son eliminados de los diferentes tipos de aguas, alcanzándose una remoción de 3 a 4 log<sub>10</sub> de unidades virales (Lund y Nissen, 2003)

Las proteínas extracelulares de *Bacillus thuringiensis* tienen la capacidad de adsorberse a las partículas de bentonita y kaolinita (Lee, Saxena y Stotzky, 2003). Otros autores han encontrado que cepas de *Pseudomonas aeruginosa* presente en ambientes marinos son capaces de enlazarse, crecer y proliferar en la superficie externa de la arcilla bentonita dando lugar a la formación de una biopelícula (Chaerun et al., 2005).

## CONCLUSIONES

En conclusión, la bentonita no representa una fuente de contaminación de bacterias de origen fecal. El contacto de la arcilla con el agua potable favorece el crecimiento y desarrollo de microorganismos heterótrofos en esta última, procedentes de la bentonita, dando lugar a un agua no satisfactoria desde el punto de vista microbiológico. Aspecto a tener en cuenta para utilizar esta arcilla en los procesos de depuración del agua. La bentonita tiene la capacidad de remover 103 cél/mL de *E.coli* ATCC 10536 en el agua potable, sería recomendable estudiar concentraciones superiores de esta bacteria, así como también ampliar la investigación a otros microorganismos con cepas salvajes.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Hekman W.E, Heijnen C.E., Trevors J.T.y Van Elsas J.D. 1999: Water flow induced transport of *Pseudomonas fluorescens* cells through soil columns as affected by inoculant treatment. *FEMS Microbiol. Ecol.* 13 (4):313.
2. WHO (2005). Emergency treatment of drinking water at point-of-use. Technical Notes for Emergencies No.5.
3. Sims R.C. y Little L.W. 2005: Tratamiento de residuales industriales líquidos. Familia de productos B-CLEAR de BSAAM. *Environ Lett.* 4 (1): 27-34.
4. Chung Y.C., Li Y.H. y Chen C.C. 2005: Pollutant removal from aquaculture wastewater using the biopolymer chitosan at different molecular weights. *J. Environ Sci Health a Tox Hazard Subst Environ.* 40 (9): 1775-90.
5. Xie S.G., Tang X.Y., Wu W.Z., Wen D.H. y Wang Z.S. 2005: Biological pretreatment of yellow River water. *J. Environ Sci* 1 (4): 557-61.
6. García E. y Suárez M. 2001: Las arcillas: propiedades y usos. (Sitio en Internet). (Citado 6 de febrero 2001); (6P). Disponible en: URL: <http://www.uclm.es/users/higueras/yymm/Arcillas.htm>.
7. Clement L. y Farmer R. 2000: The Herb Allure Resource Toolkit. *Can. Jour. Microbiol.* 31: 50-53.

8. ISO 11465 (1993): Soil quality. Determination of dry matter and water content on a mass basis-gravimetric method.
9. APHA, AWWA, WEF, (1998): Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 20 ed. Washington.
10. González M.I., Suárez M., Torres V.T., Cisneros E., Sentmanat L.H. y Leyva Y. (2000): Manual de técnicas microbiológicas para el control sanitario de aguas mineromedicinales y peloides. Ciudad de la habana, INHEM, 122p.
11. NC 93-02 (1985): Agua potable. Requisitos sanitarios y muestreo.
12. Bartram J. y Pedley S. 1996. Microbiological analysis. En: Water quality monitoring. A practical guide to the design and implementation of freshwater quality studies and monitoring programmes. Unites Nations Environment Programme and the World Health Organization UNEP/WHO ISBN 041922320.
13. Sanglay G.C., Eifert J.D. y Summer S.S. 2004: Recovery of Salmonella spp. from raw produce surface using ultrasonication. Foodborne Pathog Dis Winter 1 (4): 295-9.
14. Chaerun S.K., Tazaki K., Asada R. y Kogure K. 2005: Interaction between clay minerals and hydrocarbon-utilizing indigenous microorganisms in high concentrations of heavy oil: implications for bioremediation. Clay Minerals 40 (1): 105-114.
15. Kawabata N., Hayashi T. y Matsumoto T. 1993: Removal of bacteria from water by adhesion to cross-linkend poly(vinylpyridinium) halide. Appl. Environ. Microbiol. 56 (1): 203-10.
16. Sengco M.R., Hagstrom J.A., Granet E. y Anderson D.M. 2005: Removal of Prymnesium parvum (Haptophyceae) and its toxins using clay minerals. Harmful Algae 4(2): 801.
17. Olsen A. 2003: Low technology water purification by bentonite clay and Moringa oleifera seed flocculation as performed in sudanese villages: effects on Schistosoma mansoni cercariae. Wat. Res. 21(5): 517-522.
18. Lund E. y Nissen B. 2003: Low technology water purification by bentonite clay flocculation as performed in Sudanese villages. Virological examinations. Wat. Res. 20(1);37-43.
19. Lee L., Saxena D. y Stotzky G. 2003: Activity of free and clay- bound insecticidal proteins from Bacillus thuringiensis subsp. israelensis against the mosquito Culex pipiens. Appl. Environ. Microbiol. 69 (7): 4111-5.