

Zeolitas naturales cúpricas como microbicidas

Contreras-Arzate Diana, Olguín-Gutiérrez
María Teresa*, Alcántara-Díaz David,
Burrola- Aguilar Cristina

Resumen

La *Escherichia coli* y la *Candida albicans* se consideran indicadores de contaminación, por lo que estos organismos reflejan la calidad del agua. Existen varios tratamientos para la desinfección del agua, sin embargo se hace necesario contar con métodos alternativos de bajo costo, para tal fin. Las zeolitas naturales por sus características y propiedades, podrían incorporarse dentro de un tren de tratamiento de aguas, como intercambiadores iónico, adsorbentes y/o como agentes microbicidas. En el presente trabajo de investigación se encontró, que dependiendo del tipo de microorganismo, la cantidad de zeolita cúprica que se requiere para llevar a cabo la desinfección del agua varía, siendo mayor para el caso de levaduras que para el de las bacterias. Además de que se presentan diferencias marcadas en el tiempo al cual se llega a cabo dicho proceso.

Introducción

El agua potable es esencial para la salud del hombre, por lo que es necesario disponer de métodos para tener agua de calidad, desafortunadamente ésta puede verse alterada fácilmente, siendo la fuente de las enfermedades infecciosas más importante.

Los microorganismos patógenos, han desarrollado resistencia a una gran variedad de agentes antimicrobianos,

haciendo más difícil su erradicación para lograr un ambiente inocuo.

La estructura de las zeolitas es tridimensional y la red cristalina presenta una gran cantidad de cavidades, en las cuales están contenidos los iones (por ejemplo Na^+), que pueden sustituirse por iones metálicos con propiedades bactericidas tales como el Cu^{2+} . Cuando el material zeolítico cúprico entra en contacto con el agua, la cual contiene a su vez especies iónicas y los microorganismos, los iones metálicos se liberan de la zeolita, debido a un proceso de intercambio iónico, dando como resultado una liberación dosificada. Por lo tanto, la desorción del ion metálico de la zeolita, presente en el medio acuoso, posee un efecto microbicida de acción prolongada.

A pesar de los grandes avances en el tratamiento del agua potable y residual, todavía se presentan enfermedades por el consumo de agua contaminada con microorganismos patógenos (Toze, 1999), por lo que se necesita de su análisis periódico, debido a que la mayoría de ellos tienen diferentes dosis de infección (el número de unidades requeridas para causar un daño a la salud). Las bacterias no causan infección, a menos que se ingieran más de 10^3 células infectivas /mL (Toze, 1999; Volk, 1992).

Los microorganismos patógenos que comúnmente se encuentran en el agua potable y residual, pueden dividirse en: virus, bacterias, hongos, protozoarios y helmintos. La mayoría de estos patógenos son de origen entérico, que contamina el ambiente y tienen acceso a nuevos hospederos, por ingestión (Toze, 1999).

El control de las enfermedades transmitidas por el agua se logra por medio de la purificación y desinfección, es decir la destrucción y eliminación de los microorganismos patógenos a través de medios físicos y químicos.

Un agente antimicrobiano elimina el crecimiento de los microorganismos y

* correspondencia: e-mail: teresa.olguin@inin.gob.mx

puede ser un producto químico de síntesis o un producto natural. Los agentes que eliminan a los microorganismos suelen denominarse agentes microbicidas, con un prefijo que indica el tipo de organismos que afecta. Por lo tanto hay agentes bactericidas, fungicidas y viricidas. Un agente bactericida elimina a las bacterias, aunque puede eliminar o no a otras clases de microorganismos. Los agentes que no eliminan y solamente inhiben el crecimiento, se denominan agentes estáticos y se puede hablar de agentes bacteriostáticos, fungistáticos y virustáticos (Madigan *et al.*, 2004).

Como regla general, la concentración de los desinfectantes, de acuerdo con su naturaleza, se determina por mediciones físicas o mediante análisis químicos y la eficiencia, mediante la reducción de los microorganismos indicadores (generalmente coliformes), a valores por debajo del límite establecido en la normatividad vigente (Prescott *et al.*, 1999).

Uno de los métodos ideales de desinfección y también el más usado, es el ozono, pero tiene la desventaja de ser tóxico, inestable y de alto costo. Sin embargo, una alternativa, podría ser el uso de las zeolitas naturales como agentes bactericidas, con acciones similares a la del ozono, pero a diferencia de aquella, con las zeolitas la desinfección sería gradual (Maeda y Nosé, 1999).

El cobre no presenta efectos tóxicos para el hombre, a las concentraciones en la que se logra la mortandad de los microorganismos patógenos (Maeda y Nosé, 1999).

El cobre es un metal rojizo, que se encuentra naturalmente en rocas, suelo, agua, sedimento y en bajos niveles en el aire. Es un elemento esencial para todos los organismos vivos, incluyendo al hombre, debido a que se requiere para una gran variedad de procesos metabólicos (Lewis, 1995; ATSDR, 2002 a).

En la última década, se han reportado numerosas patentes en países como Japón, Cuba y Estados Unidos, que describen la obtención de materiales con propiedades antibacterianas, antifúngicas y microbicidas, a partir de zeolitas. Las zeolitas se han probado como ungüentos antimicrobianos (Gómez y Perdomo, 2001; Perdomo *et al.*, 1999), agentes antifúngicos, para el tratamiento contra la candidiasis (Chow, Matear y Lawrence, 1999). Así mismo, se han llevado a cabo investigaciones orientadas hacia la desinfección del agua (Rivera 1999; Burrola, 2003; De la Rosa 2007). Las zeolitas no presentan toxicidad hacia el hombre derivado de sus diferentes aplicaciones.

Objetivo

Evaluar el efecto microbicida de la clinoptilolita cúprica sobre microorganismos indicadores de contaminación del agua.

Desarrollo Experimental

El desarrollo experimental del presente trabajo se llevó a cabo en el Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares (ININ), dentro de los laboratorios de Química y Biología y se dividió en dos etapas:

Etapas 1: *Acondicionamiento y caracterización de la Zeolita.*

El acondicionamiento del material zeolítico se llevó a cabo: 1) con una solución de NaCl y 2) con una solución de una sal de cobre.

Roca Zeolítica.

Las rocas zeolíticas (ricas en clinoptilolita), que se emplearon se obtuvieron de las manifestaciones de los estados de Guerrero y San Luis Potosí.

Caracterización del Mineral Zeolítico.

Se realizó la caracterización del material zeolítico natural, sódico y el

cúprico, mediante microscopía electrónica de barrido (MEB), determinando la composición elemental (EDS) de cada uno de ellos, así como por difracción de rayos-X (DRX).

Etapa 2: Ensayos microbiológicos.

Los ensayos de la cinética de desactivación microbiana, se realizaron partiendo de una concentración inicial de 10^3 células infectivas /mL en el agua (bacterias o levaduras). Durante cada prueba se registró la cantidad de microorganismos como una función del tiempo [N (t)].

Se trabajó con cepas de *Escherichia coli* y *Candida albicans*. El medio de cultivo utilizado fue Agar Bacteriologico, LB y TSA.

Precultivo y Número de Células Microbianas.

Del cultivo puro de referencia se tomo una muestra, la cual se sembró en un matraz que contenía LB. Se incubaron durante una noche a temperatura de 37 °C en un baño con agitación, para obtener un cultivo de células frescas. La solución microbiana se centrifugo y se resuspendió en agua NO destilada.

Desinfección del agua por las Zeolitas cúpricas.

El mineral zeolítico sódico y cúprico, se coloco en concentraciones variables, en un matraz con 100 mL de agua NO destilada estéril (sistema en lote).

Toma de Alícuotas.

A tiempos de 0 a 24 h, se tomaron alícuotas de 0.1 mL de cada matraz (agua-consorcio microbiano- mineral zeolítico) y se sembraron en cajas de Petri con medio de cultivo. Las cajas sembradas se incubaron. Cada experimento se realizo por triplicado.

Conteo del Número de Células Viables.

Las colonias desarrolladas de cada una de las cajas Petri, se contaron y se

realizaron los cálculos para determinar la cantidad de UFC/mL y así obtener el porcentaje de supervivencia.

Resultados y Discusión

Las rocas zeolíticas de Guerrero y San Luis Potosí, no presentan cambios en su morfología, después de los tratamientos sódico y cúprico con relación a la zeolita sin acondicionar.

Los patrones de difracción de rayos-X, de las rocas zeolíticas natural, sódica y cúprica de Guerrero y San Luis Potosi, muestran que el componente principal de dichos materiales, es la clinoptilolita. No se observan desplazamientos en las reflexiones, comparados con el material no natural, lo que indica que los acondicionamientos no modifican la estructura cristalina de la clinoptilolita.

La Tabla 1 muestra las UFC/mL de la *E. coli* ATCC 8739 y *C. albicans* ATCC 10231, a los diferentes tiempos de contacto entre las fases (suspensión de microorganismos/zeolita cúprica). A partir de 1 hora, se observa la disminución de la población de la *E. coli*, aunque en forma significativa el efecto se aprecia después de las 2 horas, en donde la desinfección es total (0% de supervivencia); en el caso de *C. albicans* el efecto microbicida de la zeolita cúprica se observa a través del tiempo y es hasta las 24 horas, en donde el porcentaje de supervivencia llega al 1%.

t (min)	Zeolita Cúprica	
	<i>E. coli</i> UFC/ml	<i>C. albicans</i> UFC/ml
0	2.4×10^3	8.5×10^3
0.25	1.7×10^3	8.6×10^3
0.50	1.2×10^3	8×10^3
0.75	9.8×10^2	7.4×10^3
1	3×10^2	7.7×10^3
2	0	5.1×10^3
4	0	2×10^3
6	0	1.6×10^3
24	0	9×10^1

Tabla 1. Efecto microbicida de la zeolita cúprica sobre *E. coli* y *C. albicans*.

Los gráficos de la Fig. 1 muestran que la zeolita sódica no inhibe el crecimiento de la *E. coli* como una función del tiempo, observándose que a las 24 h, el porcentaje de supervivencia se incrementa a más del 300%. Este mismo comportamiento se aprecia para *C. albicans*, llegando hasta más del 600% de supervivencia.

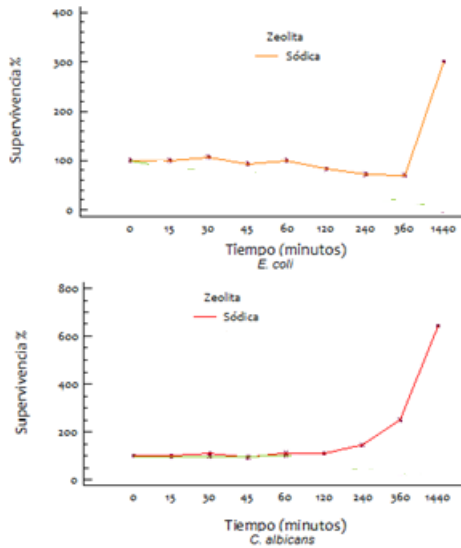


Fig. 1. Porcentaje de supervivencia de *E. coli* y *C. albicans* como una función del tiempo de desinfección, empleando zeolita cúprica como agente microbicida.

Conclusión

La zeolita cúprica es un agente microbicida eficiente al 100%, para la *E. coli* suspendida en agua de la llave, a partir de las 2 horas; sin embargo, para el caso de la *C. albicans*, la eficiencia es de alrededor del 95%, para un tiempo de 24 horas. La cantidad de zeolita que se emplea para el proceso de desinfección del agua, depende de las características del microorganismo considerado como indicador de contaminación.

Agradecimientos

Contreras-Arzate Diana agradece la beca otorgada por el COMECyT.

Referencias

- Agency for toxic substances and disease registry (ATSDR). 2002 a. Toxicological profile for copper/draft for public comment. En línea: [http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/phs132.html]. Consulta: [Febrero 2008].
- Burrola, C. (2003). Cinética del Proceso de desinfección del agua al utilizar clinoptilolita natural intercambiada con iones metálicos, como microbicida. Tesis. Facultad de Ingeniería. Centro Interamericano de Recursos del Agua. Universidad Autónoma del Estado de México. 171 p.
- Chow, C K W., Matear, D W. y Lawrence, H P. Efficacy of antifungal agents in tissue conditioners in treating candidiasis. Gerodontology Association. **16**(2): 111-119.
- De la Rosa I. 2007. Comportamiento de rocas zeolíticas acondicionadas con plata, en el proceso de desinfección de agua residual de origen municipal. Instituto Tecnológico de Toluca.
- Gómez, T. y Perdomo, I. 2001. Formulación de un ungüento antimicrobiano a base de zeolita natural. Rev. Salud Animal. **23**(3): 169-174.
- Lewis, A. G. 1995. The biological importance of copper. En línea: [http://www.environment.copper.org/e-r-94.pdf]. Consulta: [Marzo 2008].
- Madigan, M., J. Martinko y J. Parker. 2004. *Brock, Biología de los microorganismos*. Prentice Hall. 10^a. Ed. España. 1011pp.
- Maeda, T., & Y. Nosé. 1999. A New Antibacterial Agent: Antibacterial Zeolite. Artificial organs. **23**(2):129-130.
- Perdomo, I., Weng, Z., Montero, D., Iraizoz, A. y Rodríguez, G. 1999. Evaluación de una zeolita natural modificada y decolorada como antimicrobiano. Rev. Cubana Farm. **33**(3): 183-187.

- Prescott, L., J. Harley y D. Klein. 1999. *Microbiología*. Mc. Graw Hill. México. 1005 pp.
- Rivera, M. 1999. Propiedad antibacteriana de la clinoptilolita intercambiada con plata frente a *Escherichia coli* y *Streptococcus faecalis*. Tesis de Maestría. Fac. Química. UAEM.
- Toze, S. 1999. PCR and the detection of microbial pathogens in water y wastewater. *Water. Research.* **33**(17): 3545-3556.
- Volk, W. A. 1992. *Microbiología Básica*. Harla. 7ª. Ed. México. 819 pp.