

Inactivación de huevos de helminto mediante fotocatalísis homogénea

Juan L. García¹, Lillían Mejía¹, Erick Bandala¹, Benito Corona²

Instituto Mexicano de Tecnología del Agua¹, Paseo Cuauhnáhuac 8532, Progreso, Morelos.
Fundación Universidad de Las Américas², Puebla Santa Catarina, Cholula. jgarcia@tlaloc.imta.mx

Resumen

En este trabajo se presenta una alternativa para la eliminación de huevos de helminto presentes en agua residual mediante un proceso avanzado de oxidación con dos catalizadores Co_2^+ y Fe_2^+ . El aislamiento de huevos de *Ascaris spp* se llevo a cabo a partir de dos fuentes: muestras de agua residual doméstica de una zona poblada del Municipio de Cuernavaca Morelos México y recuperación de huevos de ejemplares adultos de *Ascaris suum*. La determinación del efecto del proceso sobre la viabilidad de *Ascaris spp* fue evaluada mediante la técnica tradicional de incubación y mediante una técnica dual de tinción. Se demostró la inconveniencia del uso de huevos obtenidos de ejemplares adultos y las ventajas de usar huevos de agua residual. Bajo las condiciones evaluadas en este trabajo se determinó que los huevos de *Ascaris* fueron mayormente inactivados con $\text{Fe}/\text{H}_2\text{O}_2$ (79%) 2 horas de exposición, en comparación con Co_2^+/PMS (36%), 1 hora de exposición, con un promedio de radiación en ambos casos de 800 - 900 W/m^2 . Se espera que este proceso de fotocatalísis homogénea se constituya como una importante alternativa de desinfección de agua residual para su potencial empleo en la agricultura.

Introducción

La superficie dedicada a la agricultura en México es de aproximadamente 20 millones de hectáreas, de las cuales 6.4 millones son de riego. Para cubrir esta demanda se emplea el 78% del agua disponible en el país. Esta necesidad hace relevante la utilización del agua residual sobre todo en los estados áridos y semiáridos del país como alternativa importante para riego. El agua residual se define como el agua de composición variada proveniente de las descargas de uso municipal, industrial, comercial, agrícola y pecuario, así como la mezcla de algunas de ellas y que por tal motivo haya sufrido degradación o alteración en su calidad original (NOM-001-SEMARNAT-1996). En la actualidad en nuestro país se descarga un total de 200 m^3/s (6.3 km^3 por año) de agua residual, de los cuales únicamente 108 m^3/s (3.4 km^3 por año) son aprovechados en riego agrícola (Jaime, 2005). En relación a los países que ya usan aguas residuales para riego, México ocupa el segundo lugar, el primer y tercer lugar lo ocupan respectivamente, China con 1 330 000 Has. e India con 73 000 Has., mientras que en Morelos se riegan 42,797 Has. con aguas residuales. (Rodríguez et. al, 1994).

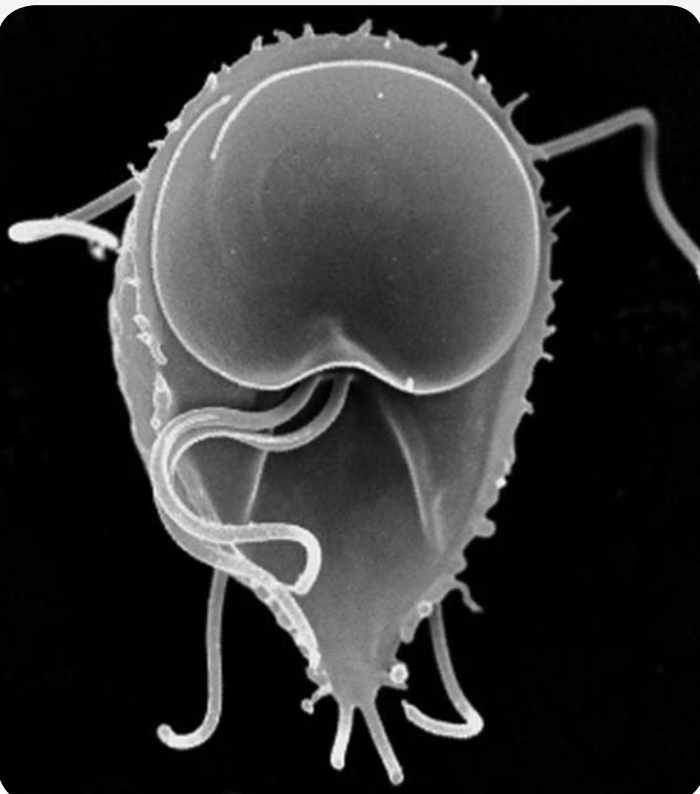


Las aguas residuales empleadas para riego agrícola tienen las siguientes ventajas (Rodríguez et. al, 1994):

- Mejoran las cosechas en comparación con los riegos con agua potable, incluso el empleo de aguas residuales sin tratar diluidas con agua potable.
- El rendimiento de las cosechas de hortalizas es mayor cuando se riegan con aguas residuales.
- Hay una mayor eficiencia en la utilización de nutrientes y en los rendimientos a largo plazo.

Como es evidente el agua residual municipal aporta nutrientes al suelo como nitrógeno y fósforo, con lo cual se reducen los costos al evitar el uso de fertilizantes en la agricultura (Sánchez, 2006), a pesar de esto son portadoras de una amplia variedad de microorganismos patógenos contaminantes, entre los que se encuentran: Protozoarios: generalmente están en el agua residual en forma de ooquistes o quistes dependiendo de la especie, por ejemplo: *Giardia lamblia*: Se presenta en forma de trofozoito (flagelada) cuando está dentro del hombre y la forma infectiva es el quiste, ocasionando la giardiasis, enfermedad que se caracteriza por la presencia de diarrea y calambres intestinales (Mora y Horan, 2003).

Cryptosporidium parvum: parásito que crece en el interior de las células del epitelio mucoso del intestino y del estómago, se encuentra en forma de quiste causando la criptosporidiasis,



enfermedad que causa dolores estomacales, náuseas y diarrea. Es considerado el protozoario más resistente a los métodos de desinfección (Blesa y Blanco, 2005).

Bacterias. Las bacterias que se presentan con mayor frecuencia en las aguas residuales municipales son las entéricas, que colonizan el tracto gastrointestinal del hombre y son eliminadas a través de la materia fecal. Debido a que su detección y recuento es lento y laborioso, se ha buscado a un grupo indicador de contaminación que sea de más fácil detección. Los microorganismos usados como indicadores deben cumplir con ciertas características, tales como ser fáciles de aislar y crecer en el laboratorio, ser relativamente inocuos para el hombre y animales y por último estar relacionados con otros microorganismos que sean difíciles de aislar, de esta forma se han agrupado a estas bacterias en 3 tipos:

- **Coliformes fecales:** habitan en el tracto intestinal de mamíferos y aves e indican contaminación fecal, fermentan la lactosa a 35°C, algunos de los géneros se encuentran *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Citrobacter* y *Edwardsiella*.
- **Aerobias mesófilas:** determinan la efectividad del tratamiento de aguas residuales.
- **Pseudomonas:** indican deterioro en la calidad del agua (Blesa y Blanco, 2005).

Virus. El virus de la hepatitis (adenovirus y rotavirus), son los que más comúnmente suelen estar presentes en aguas residuales causando el 87% de las enfermedades transmitidas por el agua. Finalmente los que son de interés de este trabajo, los helmintos, que se dividen en trematodos, cestodos y nematodos, estos últimos son parásitos del intestino humano y de animales (perros, gatos, cerdos, bovinos, caballos, gallinas etc.) y se encuentran presentes en las aguas residuales, generalmente en su estado de huevo. El estado infectivo es cuando el huevo está embrionado, es decir cuando está presente el estado de larva en su interior, siendo transmitida a otro humano por la ingestión de estos en alimentos y/o en agua contaminada, o en el ambiente en forma de larva filariforme infectiva la cual penetra por la piel de un hospedero.

Los helmintos, así como cualquier otro microorganismo contaminante de aguas residuales, representan un riesgo para la salud. Entre las enfermedades que pueden ocasionar los helmintos, debido al tiempo prolongado de supervivencia de los huevos de estos parásitos en el ambiente, destacan las intestinales, provocadas por *Trichuris trichiura* y *Ascaris lumbricoides* (Jiménez et. al., 2002). Este último, ocasiona la ascariasis en el

humano, estadísticamente “es una enfermedad que infecta a 61 millones 847 mil personas, de las cuales el 73% son niños con una edad que oscila de 5-14 años (Murray y López, 1996), los huevos de estos parásitos son liberados en las heces de las personas que han sido infectadas, llegando así a las aguas residuales, además daña a tejidos, pulmón y rompe las paredes alveolares, causando perforación intestinal (Lorcain y Holland, 2000).

En general se ha establecido que en México las especies de huevos de helminto presentes en las aguas residuales son: *Ascaris lumbricoides* (nematodo 86.7%), *Hymenolepis diminuta* (cestodo 5.9%), *Trichuris trichiura* (nematodo 4.8%), *Toxocara canis* (nematodo 2.2%), *Necator americanus* (nematodo 0.4%), *Taenia solium* (cestodo 0.05%) y *Enterobius vermicularis* (nematodo 0.04%) (Rojas et. al., 2004).

No obstante la presencia de estos microorganismos existen ventajas con el uso del agua residual en la agricultura, antes de ser reutilizada, es importante conocer la composición química y microbiológica principalmente, asegurándonos de cumplir con los límites que las normas mexicanas establecen. De acuerdo a la NOM-001-SEMARNAT-1996, establece que el límite máximo permisible para descargas de aguas residuales vertidas a aguas y bienes nacionales así como descargas vertidas a suelo (riego agrícola) es de 1000 y 2000 coliformes como NMP / 100 ml. En el caso de parásitos (huevos de helminto) el límite máximo permitido depende del tipo de riego:

Riego restringido: Cuando el agua residual se usa en la siembra, cultivo y cosecha de productos agrícolas, excepto legumbres y verduras que se consumen crudas pueden estar presentes como máximo hasta 5 HH/L.

Riego no restringido: Cuando el agua se usa en la siembra, cultivo y cosecha de productos agrícolas en forma ilimitada como forrajes, granos, frutas, legumbres y verduras pueden estar presentes como máximo 1 HH/L. (Sánchez, 2006; NOM-001-SEMARNAT-1996).

Los helmintos en su estado de huevo son los más resistentes a los métodos de desinfección (por las propiedades de su membrana). Es por ello que para el diseño de tecnologías de tratamiento de agua residual de bajo costo para uso agrícola, es importante considerar no sólo su composición química. Una alternativa tecnológica que se constituye por sí misma en una Tecnología Avanzada de Oxidación, es la fotocatalisis homogénea, que consiste en la utilización de un oxidante (H₂O₂, PMS) y un catalizador (Co²⁺ y Fe²⁺). Este proceso combinado con energía solar genera radicales OH•, alterando la estructura celular de los microorganismos logrando con ello su inactivación (Corona et. al., 2002). Existen pocos estudios sobre la inactivación de huevos de helminto por ello el objetivo general de este trabajo

fue determinar el efecto de la Fotocatalisis homogénea con dos catalizadores sobre la inactivación de huevos de *Ascaris lumbricoides*.

Metodología

Obtención de huevos de helminto

La obtención de huevos de *Ascaris* spp: se realizó a partir de agua residual domestica y de ejemplares adultos (hembra de *Ascaris suum*). El agua residual doméstica fue obtenida del escurrimiento de una barranca del poblado de Sta. María Ahuacatlán, perteneciente al municipio de Cuernavaca Morelos, México. Los ejemplares adultos de *Ascaris suum* fueron colectados del rastro municipal de Iguala Guerrero. A partir de estos ejemplares adultos hembra se realizaron disecciones cada cinco centímetros desde el poro genital, donde se producen los huevos hasta el punto de su liberación al exterior del cuerpo de la hembra. En cada punto se colectaron los huevos y se determinó su viabilidad al momento de la colecta inicial y durante periodos de tiempo en días para observar la permanencia de la viabilidad.

Viabilidad de huevos de helminto

La determinación de viabilidad se realizó mediante el método de incubación a 25 ° C durante 30 días (NOM-004-SEMARNAT-2002, NMX-AA-113-SCFI-1999), y la técnica dual de tinción CFDA/bromuro de etidio (Nava-Vargas, 2001).

Fotocatalisis homogénea

Se midió el efecto de dos catalizadores sobre la viabilidad de *Ascaris lumbricoides*, Fe²⁺/H₂O₂.ajustado a pH3 por dos horas de radiación y Co²⁺/PMS una hora de radiación (Chacón et. al., 2006).

Resultados y discusión

Tanto las muestras de agua residual como los ejemplares adultos de *Ascaris suum* fueron procesadas para la recuperación de huevos. Los resultados promedio del

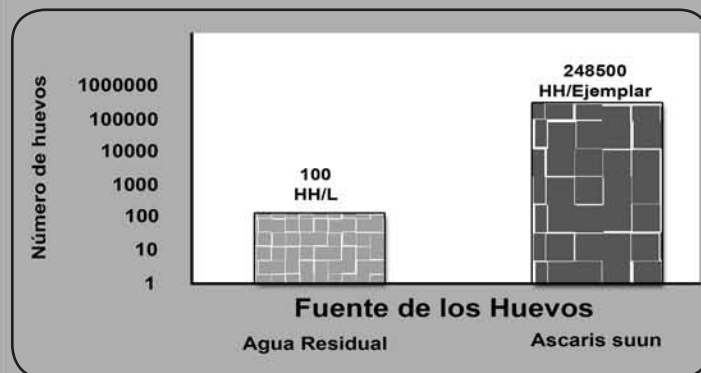


Fig. 1 Número de huevos de helminto de agua residual y de ejemplares adultos.

número de huevos que pueden encontrarse en un litro de agua residual y aquellos que pueden recuperarse de la disección de un ejemplar adulto se pueden observar en la figura 1.

De acuerdo a los resultados del mismo cuadro, es evidente que de la recuperación de huevos de un ejemplar adulto de *Ascaris* es posible obtener gran cantidad de material biológico para efectos del estudio. Mientras que los huevos de agua residual recuperados, son tres órdenes de magnitud por debajo de los obtenidos de *Ascaris*. En las pruebas del método a usar para determinación de viabilidad (figura 2), se observó que ambos métodos presentan resultados que se correlacionan y que no existen diferencias significativas entre usar el de 30 días de incubación y el de tinción que sólo requiere dos días para la observación de resultados.

Con relación a la estabilidad de la viabilidad entre los huevos recuperados de agua residual y los de un ejemplar adulto los resultados se presentan en la figura 3. En esta figura se puede apreciar que los huevos recuperados de un ejemplar adulto pierden su viabilidad de manera natural con el tiempo una vez que han sido extraídos de los conductos ováricos, mientras que los obtenidos de agua residual se mantienen viables por mayor tiempo.

De acuerdo a nuestros resultados la prueba de Fotocatálisis homogénea se realizó con huevos recuperados de agua residual que fueron sometidos a los catalizadores Fe/H₂O₂ y Co/PMS, para su inactivación, el dispositivo empleado para la concentración de la radiación fue del tipo CPC (concentrador cilíndrico parabólico) figura 4.

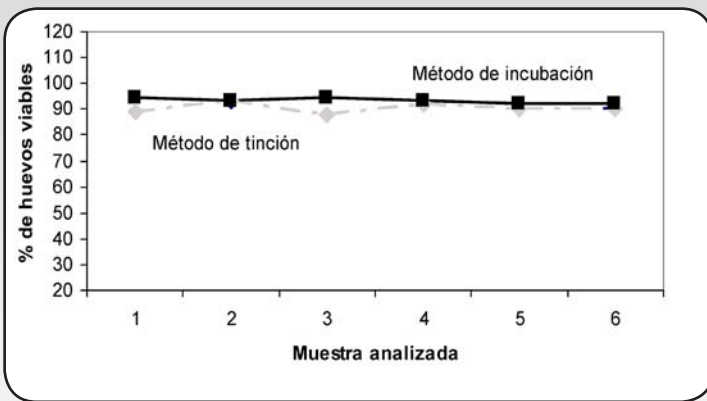


Fig. 2 Viabilidad de huevos de helminto de ejemplares adultos de *Ascaris suum* y de agua residual.

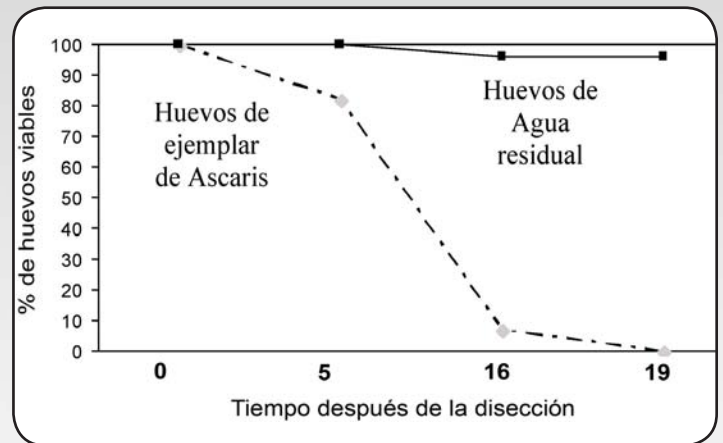


Fig. 3 Viabilidad de huevos de helminto de ejemplar adulto de *Ascaris suum* y de agua residual.

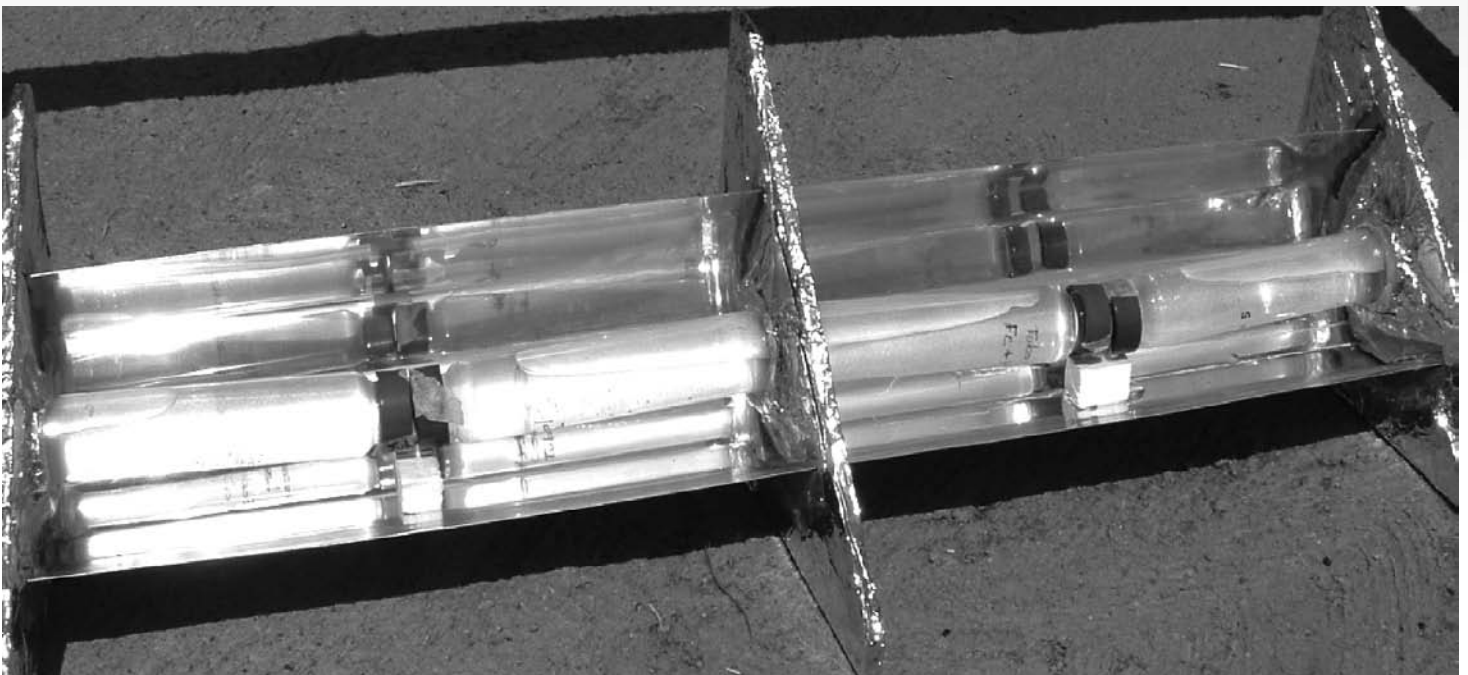


Fig. 4 Concentrador cilíndrico parabólico empleado en la inactivación de huevos de *Ascaris lumbricoides*.

Los resultados de estos catalizadores fueron comparados con dos controles, uno sometiendo a los huevos a sol sin catalizador, otro a la sombra de igual forma sin catalizadores. Los resultados de estas pruebas por triplicado se muestran en la figura 5.

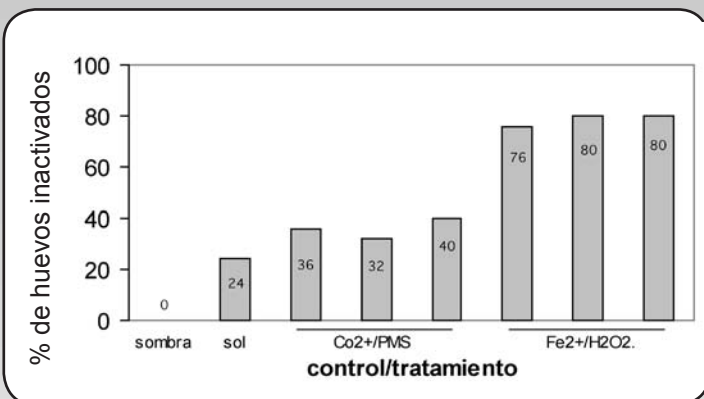


Fig. 5 Porcentaje de inactivación de huevos de helminto de agua residual.

De acuerdo a nuestros resultados se observó que los huevos de *Ascaris* fueron mayormente inactivados con el Fe₂+/H₂O₂ (en promedio 79%), en comparación con el de Co₂+/PMS (en promedio 36%).

Conclusiones

En la literatura Orta et. al., 2004, se sugiere el uso de huevos de *Ascaris* obtenidos de un ejemplar adulto, sin embargo, en nuestro trabajo, llegamos a la conclusión de que, aunque se pueden obtener gran cantidad de huevos a partir de un ejemplar adulto de *Ascaris suum*, estos huevos no son adecuados para estudios de inactivación. La razón principal fue debido a que nuestros resultados indicaron que la viabilidad inicial de estos huevos desciende rápidamente de forma espontánea sin ningún tratamiento una vez que son extraídos y por tanto no pueden ser usados para estudios de inactivación sin esta consideración. Una de las razones, se debe a que los huevos de un ejemplar adulto de *Ascaris suum* no se encuentran totalmente maduros en comparación con los recuperados de aguas residuales. Por su parte los huevos de helminto recuperados de aguas residuales han pasado todo el ciclo completo hasta su liberación, de tal forma que eso les permite sobrevivir a condiciones extremas que encuentran al estar expuestos al medio ambiente. En el presente trabajo también se demostró que la metodología de tinción para determinación de la viabilidad de huevos de *Ascaris* reduce significativamente el tiempo requerido para la determinación de la viabilidad de 30 a solamente 2 días. Finalmente la fotocatalisis homogénea para la eliminación de huevos de *Ascaris* spp de agua residual fue más efectiva con Fe₂+/H₂O₂, que con Co₂+/PMS para su inactivación. Esta metodología puede ser utilizada como una alternativa de tratamiento secundario para las aguas residuales de uso en riego agrícola con una reducción importante en los riesgos a la salud humana. 4f

Agradecimientos

Agradecemos el apoyo otorgado para la realización de este trabajo a través del convenio MOR-2004-C02-01, al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología del Estado de Morelos y del Estado de Guanajuato a través del FONINV GTO-C01-31755.

BIBLIOGRAFÍA

- Blesa, M., Blanco, J., 2005., Solar Safe Water. Tecnologías Solares para la desinfección y descontaminación del agua. UNSAM (Universidad Nacional de San Martín). Argentina. 39-42 113-127 271-292 pp.
- Chacón, J., Leal, M. T., Sanchez, M., y Bandala, E. 2006., Solar photocatalytic degradation of azo-dyes by photo-Fenton process., *Dyes and Pigments* 69 (2006) 144e150.
- Corona, B., Samuelso, A., Rennecker, J y Mariñas, B., 2002., Inactivation of cryptosporidium parvum oocysts with ozone and free chlorine. *Water Research*, 36.4053-4063 pp.
- Jaime, C. 2005. El agua en la producción agrícola. *Vertientes*. 12 (115): 1,7 pp.
- Jiménez, B., Chávez, A y Castro, V. 2002., Riego Agrícola con Agua Residual y sus implicaciones en la Salud Caso Práctico. *Memorias del XXVIII Congreso Interamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental*. México.
- Lorcaín, P., Holland, V. 2000. The public health importance of *Ascaris lumbricoides*. *Parasitology*, 121: S51-S71.
- Mora, D., Horan, N., 2003., *Water and wastewater microbiology*, Academic Press. U.S.A. 185-192pp y 492-516 pp.
- Murray, C., Lopez, A. 1996. *Global health statistics. Global Burden of Disease and Injury Series, Vol. 2*, Harvard University Press, Cambridge, MA.
- Nava, L., Viveros, R., Martínez, G., 2001. Viability of parasites in environmental samples using selective fluorescent reagents. (laboratorio central de control de calidad del agua del D.F. EX.DGCOH). Curso de capacitación.
- NOM-001-SEMARNAT-1996. Establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales.
- NOM-004-SEMARNAT-2002. Protección ambiental lodos y biosólidos. Especificaciones y límites máximos permisibles de contaminantes.
- NMX-AA-113-SCFI-1999. Análisis de agua. Determinación de huevos de helminto. Método de prueba
- Orta M. T., Martínez J. L., Monje Ramírez I. and Rojas Valencia M. N. (2004). Destruction of helminth (*Ascaris suum*) eggs by Ozone. *Ozone: Science and Engineering*, 26: 359-366.
- Rodríguez, C., Gotes, S., Santos, A. y Díaz, J. 1994. Evaluación del impacto de contenido de coliformes fecales en época de poscosecha del cultivo de cebolla regadas con 3 tipos de agua: blanca, residual y tratada en el estado de Morelos. Proyecto de la Coordinación de Tecnología de riego y drenaje. Instituto Mexicano de Tecnología del Agua. México.
- Rojas, M., Orta, M., Vaca, M y Franco, V. 2004. Ozonation by-products issued from the destruction of microorganisms present in wastewaters treated for reuse. *Water Science and Technology* 50.(2):187-193 pp.
- Sánchez, E., 2006., Secretaría de Ecología y Gestión Ambiental del Gobierno del Estado de San Luis Potosí. Propuesta de Límites Máximos permisibles para contaminantes básicos en aguas residuales que se usen en riego agrícola. XV Congreso Nacional de Ingeniería Sanitaria y Ciencias Ambientales. México 1-12 pp.