# CAPÍTULO IV

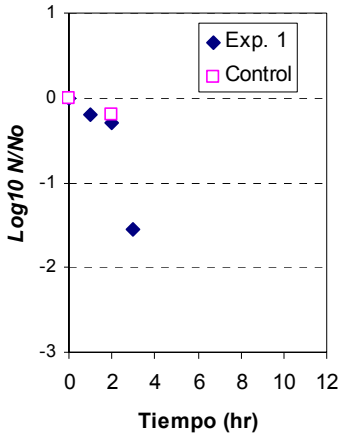
# RESULTADOS Y DISCUSIÓN

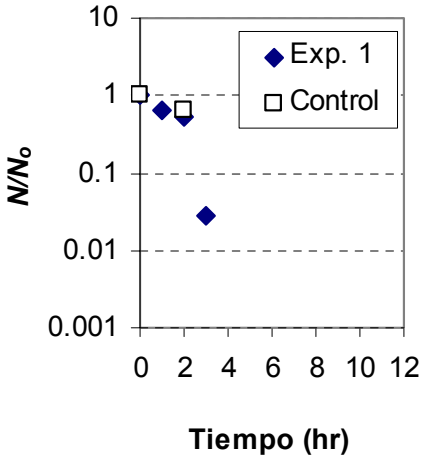
La fase experimental de esta tesis comprendió la ejecución de cuatro experimentos de inactivación de las esporas de *B. subtilis* con radiación solar y dos con cloro libre. Los resultados de la desinfección solar permitieron evaluar la eficacia de este desinfectante como potencial desinfectante del agua potable. Por su parte, los resultados de la desinfección con cloro libre permitieron estimar la resistencia relativa de las esporas utilizadas en este estudio al permitir su comparación en resistencia con otras empleadas en otros estudios de desinfección. Además de los experimentos realizados con las esporas, también se efectuaron experimentos paralelos de desinfección solar con *E. coli*, los cuales permitieron la estimación de la intensidad de la radiación solar empleada. En este capitulo se presentan los resultados de la fase experimental de este proyecto.

## 4.1 Inactivación de esporas de *Bacillus subtilis* con radiación solar

Los resultados correspondientes a la inactivación solar de las esporas de *B. subtilis* a 15ºC se encuentran listados en la Tabla 4.1. En esta tabla se muestran no solo los tiempos de exposición y las horas del día en que se ejecutaron los ensayos de inactivación, sino también los conteos de microorganismos vivos obtenidos del análisis de viabilidad conducido con cada una de las muestras señaladas. Estos conteos pueden apreciarse en la columna denominada "*N*", y la correspondiente fracción viable se encuentra denotada

como "$N/N_o$". Es importante recordar que los valores de $N/N_o$ representan el cociente de microorganismos vivos observados al tiempo $t$ entre aquellos observados a $t = 0$. Además, note que la Tabla 4.1 no solo lista los resultados obtenidos con los reactores de estudio, sino también aquellos observados en los reactores denominados "control" y que carecieron de exposición a la radiación solar. De acuerdo a la información presentada en la Tabla 4.1 se puede apreciar que, con excepción del Experimento # 1, los tiempos de duración de los experimentos de desinfección solar fueron relativamente grandes (entre 6.5 y 8.0 hr de duración). Estos tiempos fueron los máximos permisibles por las condiciones climáticas y la época del año (Febrero-Abril) en que se desarrollaron dichos experimentos en el campus de la UDLA-P. La Figura 4.1 presenta de manera gráfica los resultados de las pruebas de inactivación solar conducidas con las esporas de *B. subtilis*. Note que las cuatro gráficas que componen la Figura 4.1 corresponden a cada uno de los experimentos de desinfección solar elaborados en este estudio y que muestran además el comportamiento de sus respectivos "controles". La manera de representar los datos de esta tesis se mostraron en función de $N/N_0$ vs Tiempo, y no como el $Log_{10}\ N/N_0$.



| Experimento No. 1 | No. muestra | Hora de muestreo | tiempo (hr) | *N* (ufc/ml) | *N/No* (adimensional) |
|---|---|---|---|---|---|
| REACTOR | 1 | 12:30 | 0.00 | 1.40E+04 | 1 |
| | 2 | 13:30 | 1.00 | 9.00E+03 | 0.643 |
| | 3 | 14:30 | 2.00 | 7.20E+03 | 0.514 |
| | 4 | 15:30 | 3.00 | 4.00E+02 | 0.029 |
| CONTROL | 1 | 12:30 | 0.00 | 4.50E+04 | 1 |
| | 2 | 14:30 | 2.00 | 2.90E+04 | 0.644 |

| Experimento No. 2 | No. muestra | Hora de muestreo | tiempo (hr) | *N* (ufc/ml) | *N/No* (adimensional) |
|---|---|---|---|---|---|
| REACTOR | 1 | 11:00 | 0.00 | 4.00E+05 | 1 |
| | 2 | 12:30 | 1.50 | 4.00E+02 | 0.001 |
| | 3 | 14:00 | 3.00 | 6.00E+01 | 0.0002 |
| | 4 | 15:30 | 4.50 | 0 | 0 |
| | 5 | 17:00 | 6.00 | 0 | 0 |
| | 6 | 17:30 | 6.50 | 0 | 0 |
| CONTROL | 1 | 11:00 | 0.00 | 1.05E+05 | 1 |
| | 2 | 14:00 | 3.25 | 0 | 0.0001 |
| | 3 | 17:30 | 6.50 | 0 | 0.0001 |

| Experimento No. 3 | No. muestra | Hora de muestreo | tiempo (hr) | *N* (ufc/ml) | *N/No* (adimensional) |
|---|---|---|---|---|---|
| REACTOR | 1 | 9:30 | 0.00 | 5.10E+05 | 1 |
| | 2 | 11:00 | 1.50 | 3.10E+05 | 0.608 |
| | 3 | 12:45 | 3.25 | 2.10E+05 | 0.412 |
| | 4 | 14:00 | 4.50 | 1.20E+05 | 0.235 |
| | 5 | 16:15 | 6.75 | 8.40E+04 | 0.165 |
| | 6 | 17:30 | 8.00 | 6.80E+04 | 0.133 |
| CONTROL | 1 | 9:30 | 0.00 | 3.40E+05 | 1 |
| | 2 | 12:45 | 3.25 | 2.52E+05 | 0.741 |
| | 3 | 17:30 | 8.00 | 4.00E+05 | 1.176 |

| Experimento No. 4 | No. muestra | Hora de muestreo | tiempo (hr) | *N* (ufc/ml) | *N/No* (adimensional) |
|---|---|---|---|---|---|
| REACTOR | 1 | 10:30 | 0.00 | 1.68E+05 | 1 |
| | 2 | 12:00 | 1.50 | 6.72E+04 | 0.400 |
| | 3 | 13:30 | 3.00 | 5.00E+02 | 0.003 |
| | 4 | 15:30 | 5.00 | 3.00E+02 | 0.002 |
| | 5 | 17:00 | 6.50 | 2.00E+02 | 0.001 |
| | 6 | 18:00 | 7.50 | 1.00E+02 | 0.001 |
| CONTROL | 1 | 10:30 | 0.00 | 1.60E+05 | 1 |
| | 2 | 13:30 | 3.00 | 2.02E+05 | 1.260 |
| | 3 | 16:30 | 6.00 | 6.05E+05 | 3.780 |

**Tabla 4.1** Tiempos de muestreo y resultado de la viabilidad de la inactivación de esporas de *Bacillus subtilis* con radiación solar (T = 18°C, pH 7.0)

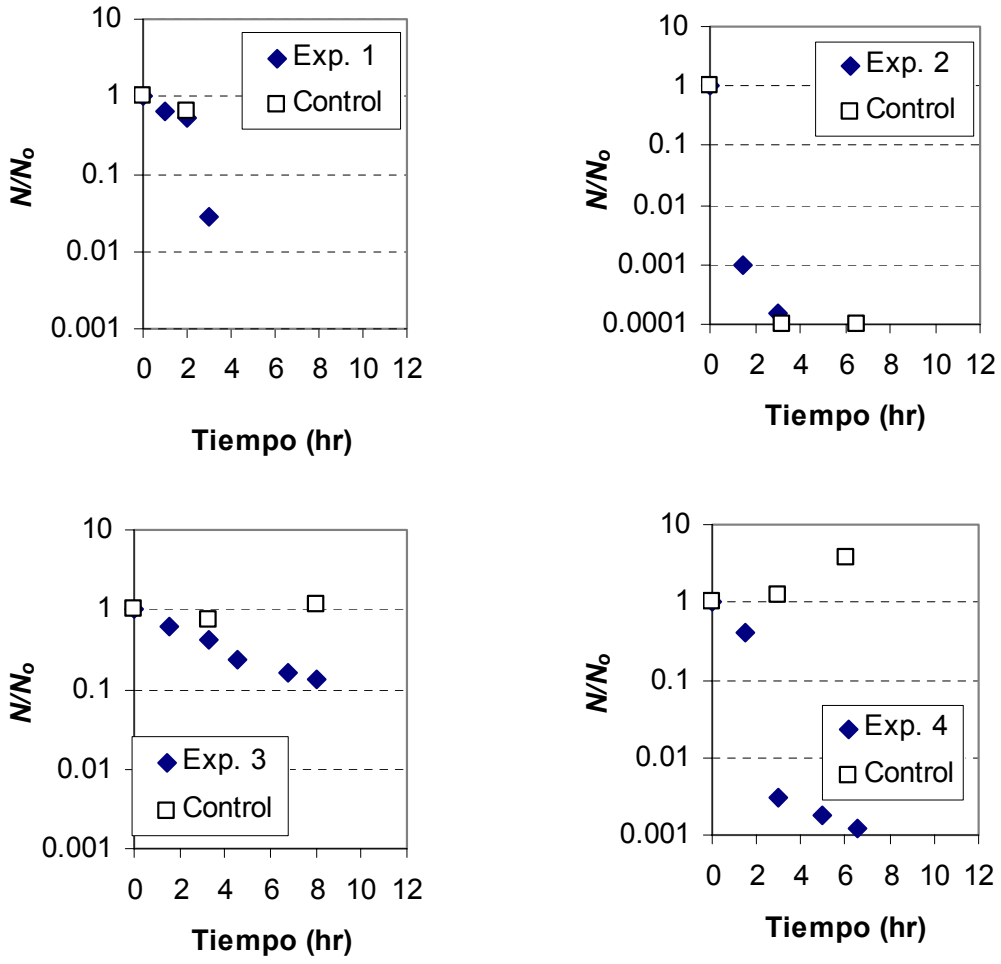



**Figura 4.1** Inactivación de esporas de *Bacillus subtilis* con radiación solar (símbolos llenos) y sus respectivos controles positivos (símbolos vacíos). T = 18°C, pH = 7.0.

En primer lugar nos enfocaremos a la grafica del experimento uno. La inactivación de las esporas sometidas a la radiación solar, esta mostrada con puntos azules, podemos notar que en el tiempo cero se inició con una cantidad de 14,000 ufc/ml de esporas ver Tabla 4.1, éste valor es el inicial en el experimento. Sin embargo, al pasar una hora de exposición a radiación solar a las 13:30 horas para ser exactos, ya se obtenía una inactivación de alrededor de 36.7%, es decir, el resultado de $N/N_0$ es de 0.643. Por consecuencia, el 64.3% de esporas todavía existían en el reactor, así que la radiación fue

capaz de inactivar esa fracción de esporas en una hora de radiación solar. En el tiempo dos, a las 2 horas de exposición la inactivación no aumentaría significativamente ya que, sólo había aumentado un 12.9% de inactivación en una hora, con relación a la primera hora transcurrida, dando como resultado un $N/N_0$ de un 0.514, es decir, que la inactivación en este momento era de un 48.6%. En cambio, el resultado fue mucho mayor cuando en el tiempo 3, a las 3 horas de exposición, se lograría alrededor del 98% de esporas muertas al pasar sólo 3 horas de exposición. Como se nota en los resultados de está gráfica el rango más grande de desinfección se logró entre las 14:30 y 15:30 horas con el 48.6%.

En la gráfica vemos que al tiempo cero según la Tabla 4.1 se tiene una población de $4\times10^5$ ufc/ml de esporas de *Bacillus subtilis*, al transcurrir una hora y media de exposición, se inactivaron un 99.99% de esporas en comparación, con el obtenido en el experimento anterior, en el siguiente tiempo, es decir, a las 3 horas de exposición solo se tenia un 0.02% de esporas vivas, para el tiempo 3 ya no se tenia nada y así hasta el tiempo 6 ya no se desarrolló absolutamente nada. No cabe duda que estos resultados no nos mostraron coherencia en base a lo obtenido en el experimento anterior.

Ahora veamos lo que aconteció en el tercer experimento. En estos resultamos observamos que el *B. subtilis* expuesto, en el tiempo inicial se tenia una cantidad de esporas de $5.1\times10^5$ ufc/ml, al transcurrir la primera hora y media de exposición ya se había inactivado el 39.2% de esporas, en la segunda muestra, a las 3 horas de exposición, se cuenta con un $N/N_0$ de 0.412, lo cual quiere decir que ya sólo restaba por inactivar un 41.2% y la inactivación por lo tanto ya era de 58.8%, al pasar 4 horas y media ya se había

desinfectado el 76.5% de esporas, teniendo un 23.5% por inactivar. Sin embargo, ya transcurrido 6 horas y 45 minutos, se había desinfectado el 83.5%, esto es a las 16:15 de la tarde, para el último tiempo ya sólo quedaba por inactivar el 13.3%. En este experimento muy parecido en las primeras 2 fases al primer experimento, en el cual al primer tiempo después del inicial se obtiene un poco más del 40% de inactivación. Para el tiempo uno al dos el porcentaje aumenta de manera muy pobre, y así se mantiene hasta el final del experimento. Cabe señalar que en este experimento, las dos últimas muestras son muy parecidas y en la gráfica se ve claramente, esto debido a que la radiación al las 16:15 y a las 17:30 va disminuyendo o incluso se mantiene, por eso esa similitud entre esas dos muestras.

Por último en el experimento cuatro sucedió lo siguiente En la Tabla 4.1 podemos observar que en el tiempo inicial tenemos una cantidad de $1.68\times10^5$ ufc/ml en el tiempo cero. En la gráfica podemos observar que para la primera hora y media transcurrida a la desinfección solar ya se tenía sólo por inactivar un 40%, en otras palabras, ya se había logrado un 60% de inactivación de esporas. Con este resultado hay demasiada similitud en los otros 3 anteriores, en que se notaba que la inactivación mas importante o significativa ocurría en los primeros instantes de radiación solar, por consiguiente, vemos que al transcurrir 3 horas la inactivación es casi de un 99.97% es decir, llegamos a una inactivación casi completa.. Podemos seguir observando en la gráfica que al llegar a las 5 horas de exposición, solo aumenta 0.1% la inactivación con respecto a la última muestra, aquí es en donde la desinfección llega a su punto terminal ya que a las seis y media y siete y media la inactivación se mantiene, cabe señalar que a las 6 y 7 horas respectivamente ya

son las 17:00 y 18:00 horas por lo tanto la radiación solar no aumenta simplemente se mantiene, es por eso que la inactivación se mantiene estable, en ese punto. Por otro lado la mayor inactivación ocurre entre las 10:30 y 12:30 del día ya que en nuestros experimentos siempre se obtuvo la mejor inactivación en este lapso de tiempo.

En términos generales se observa en la Figura 4.2, el resultado de los cuatro experimentos realizados en esta tesis con radiación solar de las esporas de *Bacillus subtilis.* El experimento dos resultó ser el de mejor inactivación, ya que se removieron tres unidades logarítmicas de esporas en 90 minutos. La inactivación del 99.99% se logro a las tres horas de radiación, dando como resultado una buena muestra de desinfección con la radiación solar. Sin embargo, en el experimento tres, teniendo una exposición de ocho horas, sólo se pudo remover un 87% de esporas. De manera similar una muy pobre desinfección se muestra en el experimento 1, donde sólo se inactivo un poco más de una unidad logarítmica en tres horas. En contraposición, en el experimento cuatro se observa que se inactivó en un 60% a la primera media hora de radiación y se llega al 99.99% a las 3 horas de exposición.

Las diferencias existentes en los cuatro experimentos con radiación solar, seguramente se debió al cambio de la intensidad de la energía en cada experimento. En algunas ocasiones las condiciones climatológicas eran favorables, es decir cielo despejado y bastante radiación solar, como en el experimento dos y cuatro. Sin embargo en otros días como en el experimento tres, se mantuvo la intensidad de la radiación casi sin ninguna variación. Por esta razón las diferencias en la desinfección solar en estos cuatro

experimentos no son de una cinética de primer orden, realmente se desconoce el orden de los resultados por las variaciones de la intensidad.

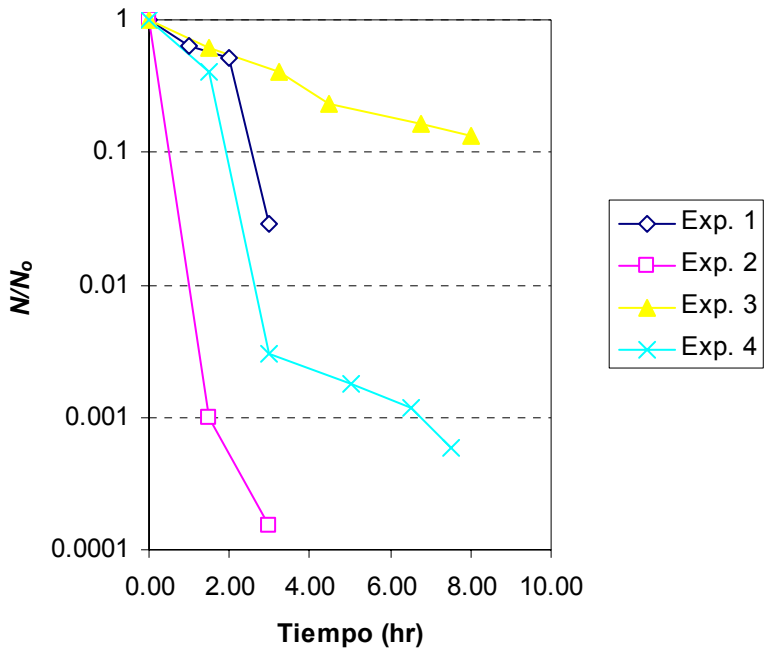



**Figura 4.2** Comparación de los resultados de la inactivación solar obtenida con las esporas de *Bacillus subtilis* en este estudio ( T = 18°C, pH = 7.0).

Como se había comentado en la metodología, con el fin de determinar la dosis de radiación solar presente en los experimentos arriba mostrados, se incluyó un tercer reactor, el cual contenía *Escherichia coli*. Cabe señalar que sería necesario determinar un control negativo, como el de esporas de *B. subtilis*, para el *E. coli*, el cual no se utilizó en este proyecto, seía necesario mostrar esos resultados para determinar si la desinfección de esta bacteria es por desinfección solar. Enseguida se muestran las tablas resumidas del conteo de bacterias, los tiempos y los diferentes resultados de la viabilidad, para obtener la gráfica logarítmica necesaria para representar los resultados de la intensidad de la radiación.

| Experimento No. 1 | No. muestra | Hora de muestreo | tiempo (hr) | *N* (ufc/ml) | *N/No* (adimensional) |
|---|---|---|---|---|---|
| REACTOR | 1 | 12:30 | 0.00 | 3.20E+04 | 1 |
| | 2 | 14:30 | 2.00 | 0.00E+00 | 0.100 |

| Experimento No. 2 | No. muestra | Hora de muestreo | tiempo (hr) | *N* (ufc/ml) | *N/No* (adimensional) |
|---|---|---|---|---|---|
| REACTOR | 1 | 11:00 | 0.00 | 4.50E+07 | 1 |
| | 2 | 11:20 | 0.33 | 7.60E+04 | 0.002 |
| | 3 | 11:40 | 0.67 | 5.60E+03 | 0.0001 |
| | 4 | 12:00 | 1.00 | 3.00E+02 | 6.66667E-06 |
| | 5 | 12:30 | 1.50 | 0 | 0 |
| | 6 | 13:00 | 2.00 | 0 | 0 |
| | 7 | 14:00 | 3.00 | 0 | 0 |

| Experimento No. 3 | No. muestra | Hora de muestreo | tiempo (hr) | *N* (ufc/ml) | *N/No* (adimensional) |
|---|---|---|---|---|---|
| REACTOR | 1 | 9:30 | 0.00 | 1.50E+06 | 1 |
| | 2 | 9:50 | 0.33 | 4.50E+04 | 0.030 |
| | 3 | 10:20 | 0.83 | 3.40E+04 | 0.023 |
| | 4 | 10:40 | 1.17 | 2.80E+04 | 0.019 |
| | 5 | 11:00 | 1.50 | 2.80E+04 | 0.019 |
| | 6 | 11:30 | 2.00 | 2.30E+04 | 0.015 |

| Experimento No. 4 | No. muestra | Hora de muestreo | tiempo (hr) | *N* (ufc/ml) | *N/No* (adimensional) |
|---|---|---|---|---|---|
| REACTOR | 1 | 10:30 | 0.00 | 6.05E+05 | 1 |
| | 2 | 10:50 | 0.33 | 3.53E+05 | 0.583 |
| | 3 | 11:10 | 0.66 | 2.52E+05 | 0.417 |
| | 4 | 11:30 | 1.00 | 1.51E+05 | 0.250 |
| | 5 | 12:00 | 1.50 | 1.50E+03 | 0.002 |
| | 6 | 12:30 | 2.00 | 1.00E-05 | 0.000 |

**Tabla 4.2** Tiempos de muestreo y resultado de la viabilidad de la inactivación de *Escherichia coli* con radiación solar (T = 18°C, pH 7.0)

En la Tabla 4.2 se muestra el tercer reactor utilizado en los experimentos con radiación solar. El tiempo de muestreo de este reactor fue a cada 20 minutos en la mayoría de los experimentos, y su inactivación total se logró en su mayoría a las dos horas de exposición. Los resultados correspondientes de su inactivación se encuentran en la siguiente Figura.

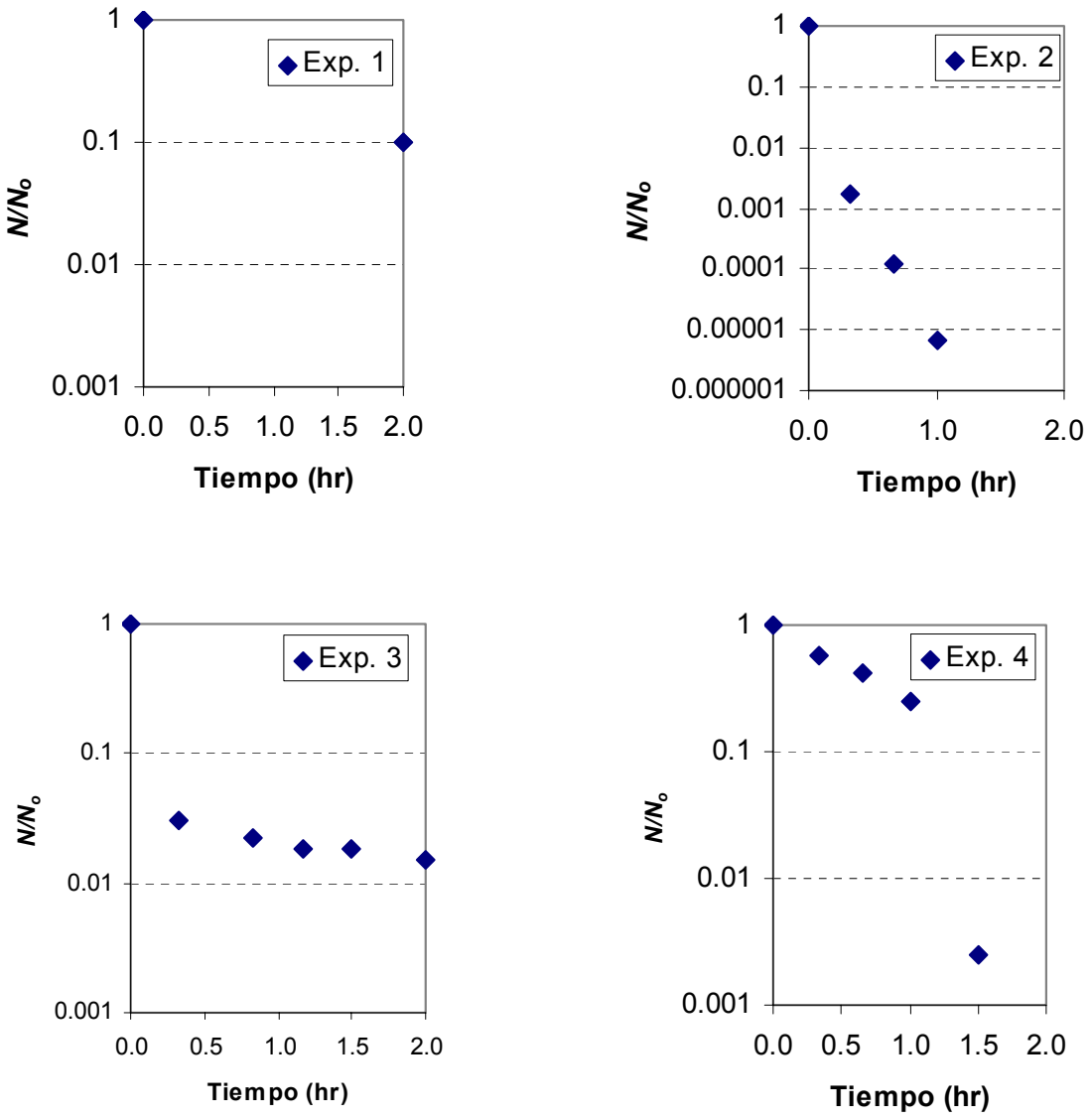



**Figura 4.3** Inactivación de bacterias de *Escherichia coli* con radiación solar (T= 18°C, pH = 7.0).

En la Figura 4.3 podemos observar que al igual que con las esporas de *B. subtilis* el experimento cuatro con *E. coli* resultó ser el mejor en inactivación ya que se removieron casi tres ciclos logarítmicos en 20 minutos, demostrando consistencia en lo que se refiere a

la intensidad de radiación del experimento dos. Por otro lado el experimento tres muestra una intensidad de radiación solar constante en el transcurso de las dos horas de exposición. Sin embargo, sucede lo contrario con el experimento cuatro en el cual se muestra una intensidad muy lineal en la primera hora y media de radiación, pero al final del experimento, es decir al llegar a las dos horas la inactivación era ya de casi tres ciclos logarítmicos la inactivación de la bacteria. Veamos la compilación de los experimentos de inactivación de esta bacteria.

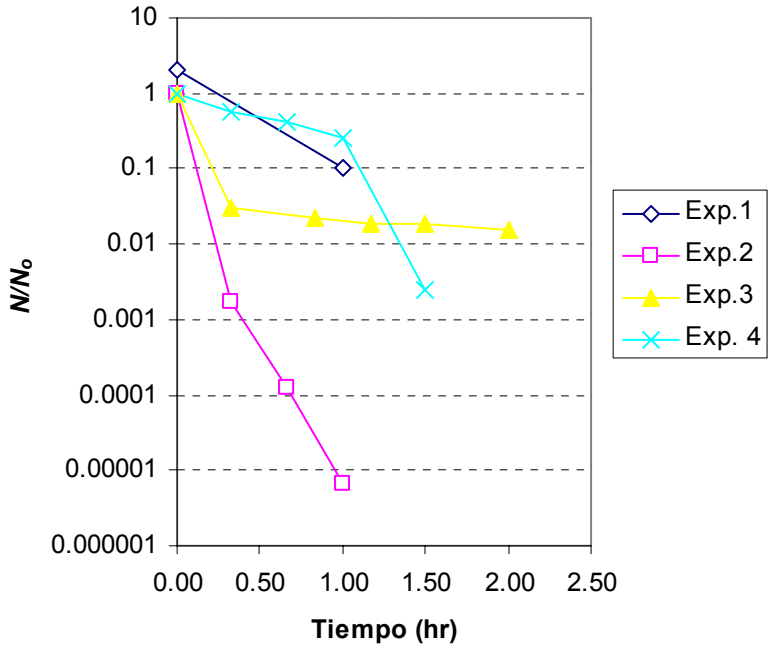



**Figura 4.4** Comparación de los resultados de la inactivación solar obtenida con *Escherichia coli* en este estudio ( T = 18°C, pH = 7.0).

De acuerdo a la Figura 4.4 la mayor intensidad de los experimentos con radiación solar, se presenta en el experimento dos. Se nota también que la intensidad relativamente baja y constante se presentó en el experimento tres. Cabe señalar que en el experimento uno sólo se tienen dos puntos en esa gráfica por lo tanto no se puede obtener una variación adecuada a lo largo del experimento. Por lo tanto, en el experimento uno no se obtiene una

gráfica de variación e intensidad de la radiación solar presente, como en los otros tres experimentos.

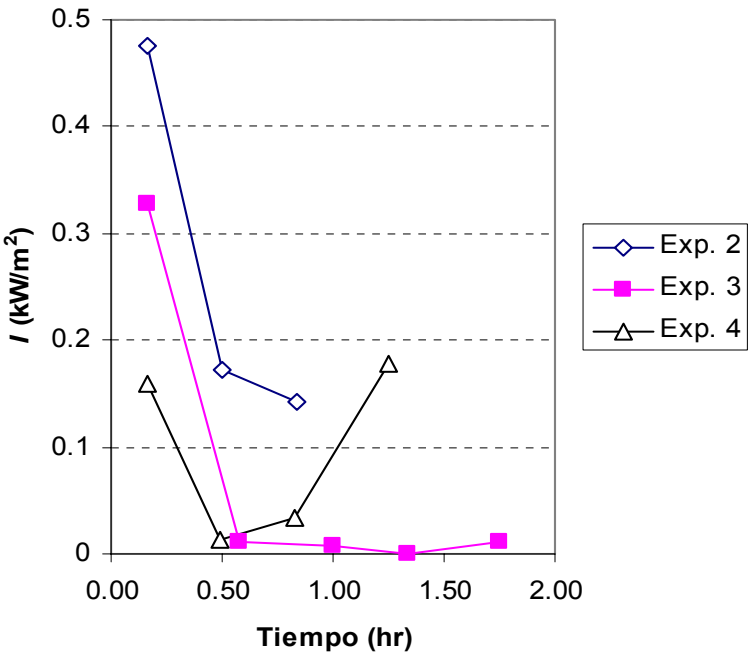



**Figura 4.5** Variaciones en la intensidad de radiación de los diversos experimentos.

En la Figura 4.5 se confirma lo explicado anteriormente, la magnitud de la intensidad del experimento dos, es la mayor registrada en los cuatro experimentos de desinfección solar. Por otro lado se observa que en el experimento tres se registra una intensidad relativamente igual a la del experimento dos pero solamente en la primera media hora de radiación, sin embargo, después de esa media hora la intensidad del experimento tres se mantuvo constante. Para determinar la intensidad de la radiación solar en cada experimento, los datos necesarios son la estimación de la intensidad por medio de la dosimetría, en la cual se determina su magnitud de punto a punto siguiendo una gráfica dosimétrica de *E. coli*, y se obtiene así:

La figura 4.6 es la grafica dosimétrica con *E. coli*, para obtener nuestra curva de intensidad del experimento cuatro se toma resultado de $N/N_0$, del experimento de inactivación con *E. coli,* este valor se encuentra en la tabla 4.2 de esta tesis, a los veinte minutos de inactivación solar este resultado es de 0.583. Con este resultado se busca en el eje de fracción sobreviviente y se busca la intensidad en el eje de las X. la Figura 4.6 explica el desarrollo de la primera intensidad de 1 a 2.

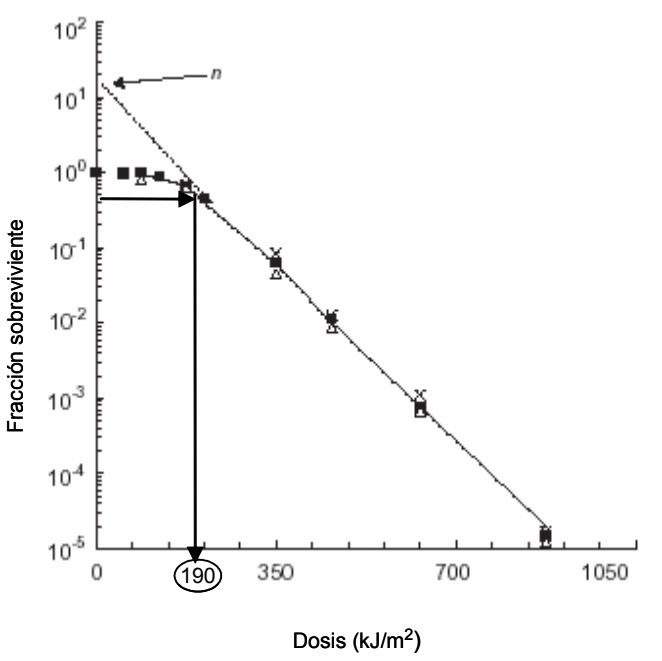



**Figura 4.6** Inactivación de E. coli con radiación solar a 36°C (Salih, 2003).

De acuerdo a la Figura 4.6 se obtuvo la dosis de radiación solar para el punto 1 y 2 de nuestro experimento con E. coli. El 190 kJ/m$^2$ se muestra en el círculo de la Figura. A continuación se muestra las diferentes operaciones para cada intervalo de tiempo obtenido de la misma manera que el del punto 1 y 2.

Experimento 4:

Dosis 1-2

$$I = \frac{190\frac{kW*s}{m^2}*\left(\frac{1hr}{3600s}\right)}{0.33hr} = 0.16kW/m^2$$

Dosis 2-3

$$I = \frac{15\frac{kW*s}{m^2}*\left(\frac{1hr}{3600s}\right)}{0.33hr} = 0.0126kW/m^2$$

Dosis 3-4

$$I = \frac{40\frac{kW*s}{m^2}*\left(\frac{1hr}{3600s}\right)}{0.33hr} = 0.03367kW/m^2$$

Dosis 4-5

$$I = \frac{320\frac{kW*s}{m^2}*\left(\frac{1hr}{3600s}\right)}{0.5hr} = 0.1777$$

Obteniendo un promedio resulta lo siguiente:

$$I_{prom} = \frac{\left(0.16\frac{kW}{m^2} * 0.33hr\right) + \left(0.0126\frac{kW}{m^2} * 0.33hr\right) + \left(0.03367\frac{kW}{m^2} * 0.33hr\right) + \left(0.1777\frac{kW}{m^2} * 0.55hr\right)}{1.5hr}$$

$$I = 0.105088\frac{kW}{m^2}$$

Obtenidas las diferentes intensidades de radiación solar se pueden graficar estos resultados en contra del tiempo promedio del experimento cuatro de esta tesis. La grafica se encuentra en la Figura siguiente. El área sombreada bajo la curva es la dosis efectiva en el experimento cuatro.

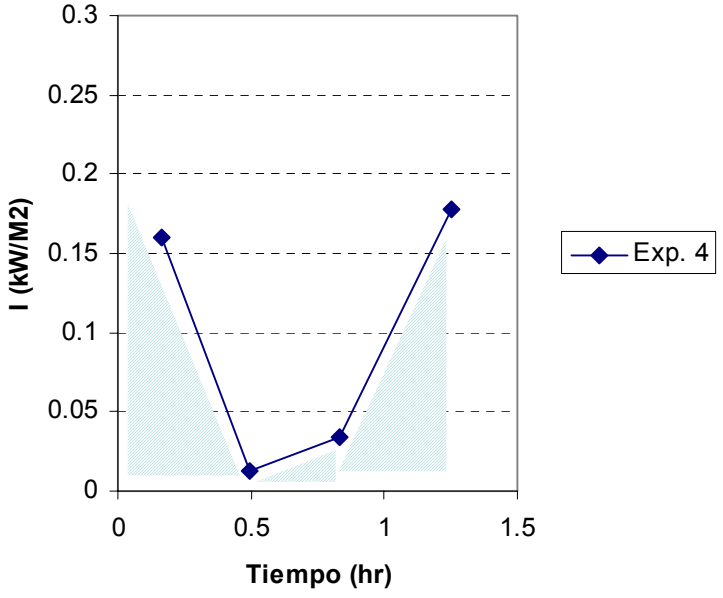



**Figura 4.7** Área necesaria para representar la dosis a la media hora de exposición de *E. coli,* en el experimento cuatro.

Para determinar la dosis de este experimento se cálculo el área bajo la curva de la Figura 4.7 dando como resultado lo siguiente.

$$A_1 = \left(0.23\frac{kW}{m^2} + 0.0126\frac{kW}{m^2}\right) * \left(\frac{0.495hr}{2}\right) * \left(\frac{3600s}{1hr}\right) = 216.16kJ/m^2$$

$$A_2 = \left(0.03367\frac{kW}{m^2} + 0.0126\frac{kW}{m^2}\right) * \left(\frac{0.33hr}{2}\right) * \left(\frac{3600s}{1hr}\right) = 27.48kJ/m^2$$

$$A_3 = \left(0.01777\frac{kW}{m^2} + 0.0336\frac{kW}{m^2}\right) * \left(\frac{0.425hr}{2}\right) * \left(\frac{3600s}{1hr}\right) = 161.69kJ/m^2$$

$$A_f = 405.34kJ/m^2$$

Esta dosis de radiación solar se obtuvo al pasar la 1.25 horas del experimento cuatro, ahora veamos cuanta inactivación ocurrió a la 1.25 horas pero en la inactivación de *B. subtilis,* para así obtener un dosis requerida para inactivar esa cantidad de esporas en ese determinado tiempo. A continuación se muestra la Figura del experimento cuatro para determinar la inactivación de las esporas en 1.25 horas de radiación.

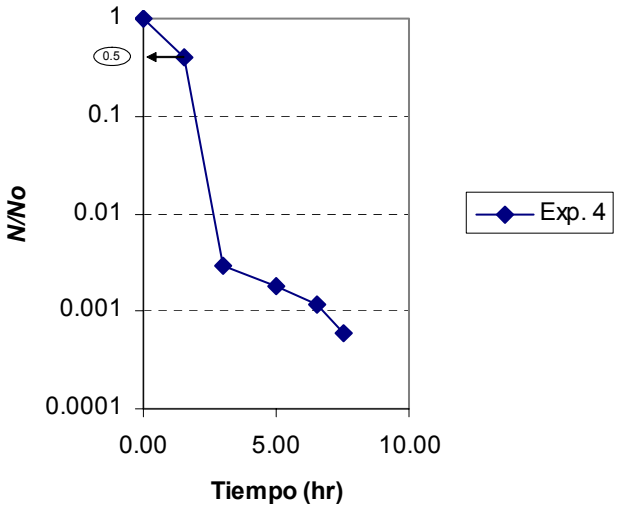



**Figura 4.8** Inactivación de esporas de *Bacillus subtilis* a la hora y media de exposición solar.

Observando la Figura 4.8 se obtiene que a la hora y media de exposición se inactivo alrededor del 50% de esporas. Con este resultado y ya obtenida la dosis podemos deducir que para inactivar el 50% de esporas de *B. subtilis*, se requiere una dosis de 405.34 kJ/m$^2$.

Contando con los resultados de la inactivación de esporas de *B. subtilis* y *E. coli,* ahora lo correspondiente es determinar una gráfica de inactivación-dosis. La dosis se pudo obtener conforme a la gráfica de intensidad en el experimento cuatro. La intensidad del experimento esta mostrada en la Figura 4.6. De la Figura 4.5 se tomó la intensidad correspondiente de radiación del experimento cuatro y se coloco en la siguiente Figura.

## 4.2 Caracterización con cloro de las esporas de *Bacillus subtilis* con una dosis de 8 mg/L y 16 mg/L

El objetivo de estos experimentos es saber que calidad, en cuanto a resistencia, de esporas de *Bacillus subtilis* se tuvieron en los experimentos realizados con la desinfección solar. Este resultado se obtendría de acuerdo a una comparación de los resultados de este experimento con otros experimentos que se han desarrollado para inactivar las esporas con cloro. Para obtener estos resultados se desarrollaron dos experimentos para tener un punto de comprobación, uno con respecto a otro. Una vez obtenidos los resultados de nuestro experimento se determinaría si nuestras esporas en realidad eran resistentes o no.

4.2.1 Primer experimento de desinfección con cloro

La dosis utilizada en este experimento fue aproximadamente de 8 mg/L. Se obtuvo Hipoclorito de Sodio (NaOCl), en el almacén de reactivos de la Universidad de las Américas Puebla, con una concentración aproximada de 13% de cloro libre. Se determinó por medio de los siguientes cálculos la concentración efectiva de cloro, para corroborarla finalmente en el Hach de una manera más precisa.

Primera Dilución:

Se tomaron 500 μl del stock de (NaOCl) y se colocaron en 100 ml. destilada y esterilizada.

$$C_1 \, Vol_1 = C_2 \, Vol_2 \qquad \textbf{(4.1)}$$

$$( 0.13 \times 10^6 \text{ mg/L}) (500 \, \mu l \times 1 \text{ L} / 1 \times 10^6 \, \mu l) = C_2 (0.1 \text{ L})$$

$$C_2 = 650 \text{ mg/l}$$

Segunda Dilución:

$$(650 \text{ mg/L}) \, Vol = (4 \text{ mg/L}) (0.15 \text{ L}) \qquad \textbf{(4.2)}$$

$$Vol = 923 \, \mu l$$

Teóricamente suponiendo un 13% de concentración de Hipoclorito de sodio, para obtener 4 mg/l se necesita poner 923 µl del stock en 150 mililitros de agua. Sin embargo se probó si en realidad se tenía esta dosis por medio del espectrofotómetro Hach que puede medir dosis de diferentes líquidos por medio de la colonización de liquidos. La dosis arrojada por el Hach fue la siguiente de 3.26 mg/l.

Una vez obtenido este resultado se determino la dilución exacta para tener una dosis de 8 mg/l. y fue así:

$$(C_2)\ (0.000923\ L) = (3.26\ mg/L)\ (0.15\ L) \qquad \textbf{(4.3)}$$

$$C_2 = 529.79\ mg/l$$

Proponiendo una concentración de C = 7.0 mg/l. por lo tanto se tiene:

$$(529.79\ mg/L)\ (Vol) = (7.0\ mg/L)\ (0.15\ L) \qquad \textbf{(4.4)}$$

Se tiene un volumen final de:

$$Vol = 1.982\ ml.$$

Con estos datos el Hach arrojó una concentración inicial para el primer experimento de caracterización de esporas con desinfección de $Cl_2$ de 7.925 mg/l. En cambio para el

segundo experimento con cloro libre, partiendo de la ecuación 4.4, se obtuvo una dosis de 16 mg/L.

Para determinar la Tabla correspondiente a la dosis necesaria para inactivar las esporas de *B. subtilis*, se necesitó determinar las concentración en cada fracción de tiempo, como sólo se tiene la concentración inicial y final del experimento, por medio de las siguientes ecuaciones y siguiendo cinética de primer orden se pudo obtener las concentraciones en cada parte del tiempo, para lograr una representación de resultados de inactivación en contra de la dosis.

Así que siguiendo cinética de primer orden se tiene:

$$\frac{dc}{dt} = -kC$$

Integrando esta ecuación se obtiene la concentración en cualquier tiempo, disponiendo de la concentración inicial y se obtienen también la constante de reacción (k).

$$C = C_0 e^{-kt}$$

$$k = \frac{\ln(C_0) - \ln(C_f)}{\Delta t}$$

La fórmula correspondiente para determinar la dosis es la siguiente:

$$CT = \int Cdt$$

Integrando esta ecuación obtenemos la fórmula necesaria para determinar la dosis del experimento para inactivar determinada cantidad de esporas así:

$$CT = \frac{C_0}{k}\left[1 - e^{-kt}\right]$$

Una vez obtenido esto se llegó a la siguiente tabla en la cual se muestra los tiempos de muestreo, la dosis y viabilidad por muestra de los experimentos con cloro libre.

| Concentración inicial = 7.925 mg/L<br>Concentración final = 4.025 mg/L | | | k = 0.01564 $min^{-1}$ | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Experimento No. 1 | No. muestra | tiempo (hr) | CT (mg-m/L) | *N* (ufc/ml) | *N/No* (adimensional) |
| REACTOR | 1 | 0.00 | 0.00 | 6400 | 1 |
| | 2 | 0.33 | 136.11 | 4800 | 0.750 |
| | 3 | 0.67 | 235.65 | 5200 | 0.8125 |
| | 4 | 1.00 | 308.46 | 4200 | 0.65625 |
| | 5 | 1.33 | 361.71 | 4800 | 0.75 |
| | 6 | 1.67 | 400.66 | 4600 | 0.71875 |
| | 7 | 2.00 | 429.15 | 5800 | 0.90625 |

| Concentración inicial = 16.1 mg/L<br>Concentración final = 5 mg/L | | | k = 0.022279 $min^{-1}$ | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Experimento No. 2 | No. muestra | tiempo (hr) | CT (mg-m/L) | *N* (ufc/ml) | *N/No* (adimensional) |
| REACTOR | 1 | 0.00 | 0.00 | 8400 | 1 |
| | 2 | 0.33 | 259.83 | 1700 | 0.202 |
| | 3 | 0.67 | 426.24 | 2300 | 0.2738 |
| | 4 | 1.00 | 532.81 | 2300 | 0.273809524 |
| | 5 | 1.33 | 601.07 | 1200 | 0.142857143 |
| | 6 | 1.67 | 644.78 | 1700 | 0.202380952 |
| | 7 | 2.00 | 672.78 | 400 | 0.047619048 |

**Tabla 4.3** Tiempos de muestreo y resultado de la viabilidad de la inactivación de esporas de *Bacillus subtilis* con cloro libre (T = ambiente, pH 7.925,16.1).

Obtenido el análisis de viabilidad de las muestras se obtuvieron las gráficas correspondientes a los dos experimentos con cloro, que a continuación se presentan.

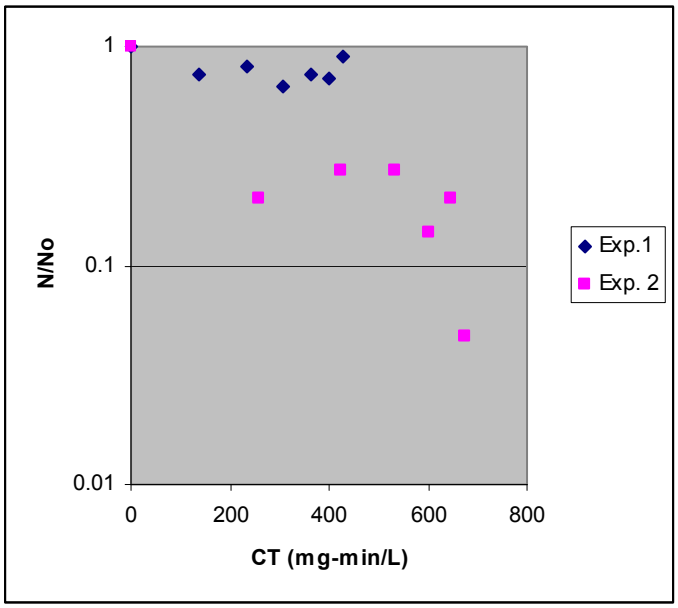



**Figura 4.9** Resultados de inactivación con cloro libre de las esporas de *B. subtilis.* (T=ambiente, ph=7.925)

En la gráfica para el experimento uno, podemos notar que se contaba con una cantidad de 6400 ufc/ml de esporas al inicio del experimento. A los 20 minutos hay una caída en la gráfica de alrededor del 25%, es decir que faltaba por desinfectar el 75%, en el tiempo 2, a los 40 minutos la gráfica aumenta un poco y se coloca de nuevo en un 81.25% de esporas vivas. Sin embargo para el tiempo 3, ya se tenia una desinfección del 34.3%, y que daba por desinfectarse un 65.6%, para el tiempo 4 y 5 los valores vuelven aumentar y se colocan entre 71 y 75% de esporas vivas, en cambio, en el ultimo conteo se obtuvo una cantidad similar al primer tiempo con una desinfección final de sólo el 10%, dando un total de aproximadamente un 90% de esporas aún por desinfectar, este resultado es a las 2 horas de estar en contacto con cloro. El pH final de este experimento fue de 4.025 mg/l de cloro residual. Es necesario comentar que debido a tener un pH de 7.85 la desinfección es casi nula, debido al pH alto.

En la gráfica correspondiente al experimento dos observamos que en el tiempo inicial se tenia una cantidad de 8400 ufc/ml, la cual al pasar los primeros 20 minutos ya se había desinfectado un 80% de esporas, a los 40 minutos se mantenían las esporas, hasta los 60 minutos aproximadamente, en cambio a los 100 minutos ya se había inactivado un 87%, con un 13% de espora vivas, por lo tanto, a las 2 horas ya se había desinfectado en un 96% de esporas.

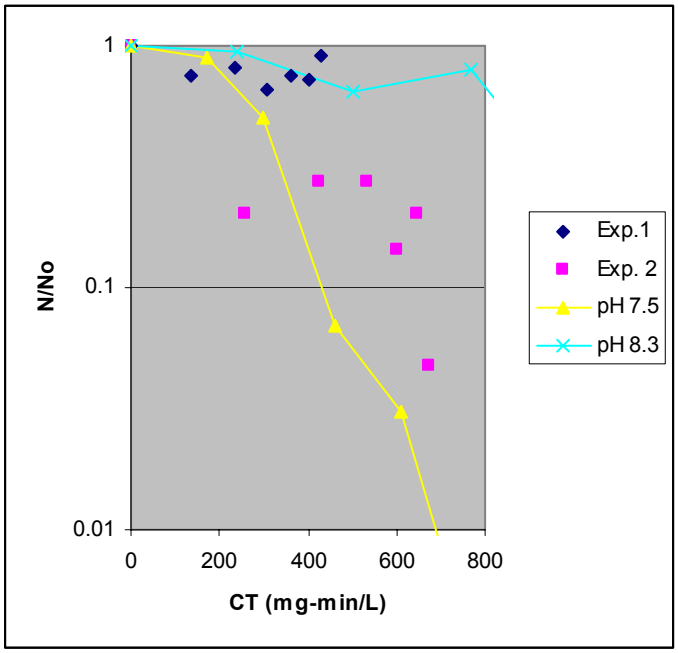



**Figura 4.10** Análisis de comparación de esporas utilizadas en nuestros experimentos con las de Corona-Vasquez et al. (en preparación).

En la Figura 4.9 podemos observar que de acuerdo a los estudios obtenidos de Corona-Vasquez et al. (en preparación), se pudo comparar los resultados de nuestras esporas y el resultado fue satisfactorio. Se nota que las esporas de nuestro experimento numero uno con un pH de 7.85, el resultado es muy similar al obtenido por estos autores con un pH de 8.3. Por otro lado en el experimento dos se comporta de igual manera que el experimento son pH de 7.5. Por esta razón las esporas de *B. subtilis* son lo suficientemente resistentes, para confiar en los resultados obtenidos en los experimentos con radiación solar.