



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

**REPORTE DE EXPERIENCIA PROFESIONAL
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE INGENIERO QUÍMICO**

PRESENTA:

ROCIO MARMOLEJO NUÑEZ

NÚMERO DE CUENTA: 403005099

GENERACIÓN: 2003-2007

**FORMULACIÓN Y PRUEBA DE EFICIENCIA DE UN DETERGENTE LÍQUIDO
LAVATRASTES CON INGREDIENTES DESINFECTANTES NATURALES
PARA FRUTAS Y VERDURAS**

DIRECTORA: MTRA. DORA ALICIA PÉREZ GONZÁLEZ

MAYO, 2013

AGRADECIMIENTOS

A la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza de la Universidad Nacional Autónoma de México, por todas las facilidades para desarrollarme profesionalmente y llevar a cabo la realización de este trabajo.

A la MTRA. Dora Alicia Pérez González, por la dirección, sabiduría, enseñanzas, tiempo y facilidades para la realización de este trabajo.

A los maestros Eloisa Anleu, Estela de la Torre Gómez Tagle, Consuelo Matías y Eduardo Loyo por todas y cada una de sus enseñanzas, apoyo y consejos para la realización de este trabajo.

DEDICATORIAS

Mi tesis la dedico con todo mi respeto, amor y cariño.

A Dios por darme la oportunidad de vivir esta experiencia inolvidable.

A mi pilar en la vida; Viviana Sofía, para ti hermosa princesa porque has sido y siempre serás mi mayor ilusión, mi valentía, mi fuerza, mi alegría.....la razón de mi vida, esto es por ti y para ti con mi más grande amor.

A mis padres por haberme dado todo y por enseñarme a luchar por lo que se quiere. Gracias por guiar mi camino y estar junto a mí en los momentos difíciles. Los amo.

A mis hermanos Guadalupe, Raquel, Rafael, Paty, Carmen y Lola por el apoyo incondicional, los quiero mucho.

A Vero por siempre ser mi amiga incondicional y siempre contar con tu apoyo te quiero mucho.

A la Maestra Dora por creer en mí y por darme el apoyo y compartir conmigo su experiencia y conocimientos..... muchas gracias.

A Hugo gracias por todo tu apoyo.

ÍNDICE

	Pág.
RESUMEN	1
1. MARCO TEÓRICO	2
1.1 Detergentes	2
1.2 Tipos de detergentes	3
1.2.1 Detergentes alcalinos	3
1.2.2 Detergentes ácidos	4
1.2.3 Detergentes duros	4
1.2.4 Detergentes blandos	4
1.3 Composición de un detergente	5
1.3.1 Agentes tensoactivos o surfactante	5
1.3.1.1 Propiedades de los tensoactivos	6
1.3.1.2 Clasificación de los tensoactivos	7
1.3.2 Agentes coadyuvantes	8
1.3.3 Diluyentes	8
1.3.4 Conservantes	8
1.3.5 Espesantes	8
1.3.6 Desinfectante	9
1.3.7 Colorantes	9
1.3.8 Perfumes	9
1.4 Propiedades fisicoquímicas de los detergentes líquidos lavatrastes	9
1.5 Desinfectantes para frutas y verduras	9
1.5.1 Mesófilos aerobios	12
1.5.2 Microorganismo prueba	12
2. DESINFECTANTES NATURALES PROPUESTOS PARA LA FORMULACIÓN DEL DETERGENTE LÍQUIDO LAVATRASTES	13
2.1 Citrol K	13

2.2 Antibac W	13
2.3 Árbol de té	14
3. NORMATIVIDAD PARA EVALUAR LA EFICIENCIA DE PRODUCTOS DESINFECTANTES	14
3.1 Norma Oficial Mexicana NOM-244-SSA1-2008	14
4. OBJETIVOS	15
5. MATERIAL EQUIPO Y REACTIVOS	15
5.1 Material para la formulación del detergente líquido	15
5.2 Material para las pruebas de eficiencia en reducción bacteriana	16
6. METODOLOGIA	17
6.1 Procedimiento para la formulación del detergente liquido lavatrastes	17
6.2 Prueba de eficiencia antibacteriana	17
6.2.1 Procedimiento para la prueba de eficiencia en reducción bacteriana	19
7. RESULTADOS	21
7.1 Características morfológicas de <i>Escherichia coli</i>	21
7.2 Ensayos de la efectividad de los detergentes desinfectantes sobre <i>E. coli</i>	22
7.2.1 Primer prueba	22
7.2.2 Segunda prueba	25
8. DISCUSION DE RESULTADOS	28
9. CONCLUSIONES	29
REFERENCIAS	29
ANEXO	32



RESUMEN

Las frutas y verduras son alimentos muy susceptibles a contaminarse con sustancias o agentes patógenos ya que provienen de la tierra y están en constante contacto con microorganismos y factores ambientales. Una de las principales bacterias implicadas es la *Escherichia coli*

En el presente estudio se formuló un detergente líquido biodegradable que por razones de confidencialidad con la empresa no se revela la formulación completa, con el cual se pueden lavar las frutas y las verduras y al mismo tiempo desinfectarlas, quedando listas para su consumo sin la necesidad de utilizar gotas desinfectantes después del lavado; se probaron tres diferentes desinfectantes naturales: árbol de té, antibac w y citrol k, corroborando su eficiencia antibacteriana con base a los resultados de los análisis realizados de acuerdo a la **NOM-244-SSA1-2008**, utilizando como microorganismo de prueba a *E. coli*, bacteria mesófila aerobia presente en las heces fecales y la principal contaminante de frutas y verduras.

1. MARCO TEÓRICO

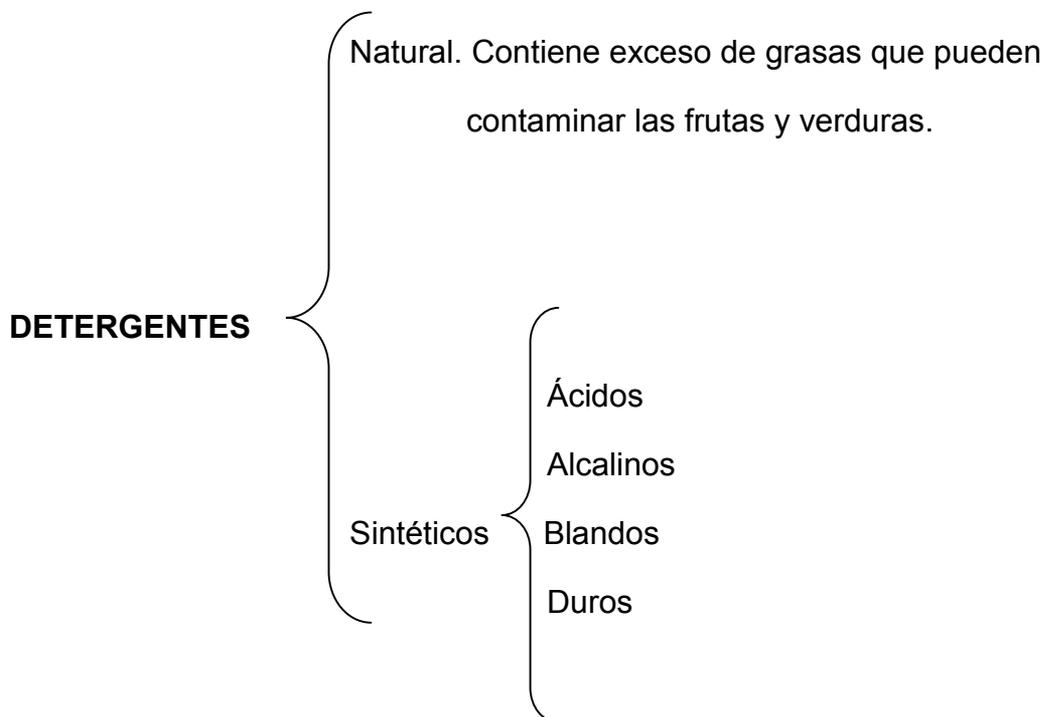
1.1 Detergentes

Los detergentes son una mezcla de sustancias que permiten modificar la tensión superficial del agua para poder eliminar la suciedad de las superficies, también mantener los residuos en suspensión. Así mismo, deben tener buenas propiedades de enjuague, de tal manera que se eliminen fácilmente los residuos de suciedad y detergente.

El objeto por la cual aplicamos la solución detergente es el de desprender la capa de suciedad y mantenerlos en suspensión. Y el objeto del enjuague es el de eliminar la suciedad desprendida y los residuos de detergentes.

El componente activo de un detergente es similar al de un jabón, su molécula tiene también una larga cadena hidrófoba y una polar hidrófila. Normalmente es un producto sintético derivado del petróleo. Una de las razones por las que los detergentes han desplazado a los jabones es que se comportan mejor que estos en aguas duras. En 1907 una compañía alemana fabricó el primer detergente al añadirle al jabón tradicional perborato sódico, silicato sódico y carbonato sódico. El nombre elegido fue: PERSIL (PERborato + SILicato).

Los detergentes se clasifican de la siguiente forma:





Las propiedades generales de un detergente o agente limpiador son:

- Buena solubilidad.
- Propiedad de ablandamiento del agua.
- Acción humectante.
- Acción emulsionante de la grasa.
- Acción solvente de los sólidos que se desean limpiar.
- Excelente dispersión o suspensión.
- Excelentes propiedades de enjuague.

Los detergentes tienen la ventaja de formar sales de calcio y de magnesio solubles en agua, por lo que no forman coágulos al usarlos con aguas duras. Además como el ácido correspondiente de los sulfatos ácidos de alquilo es fuerte, sus sales (detergentes) son neutras en agua.

La mayoría de los detergentes sintéticos son contaminantes persistentes debido a que no son descompuestos fácilmente por la acción bacteriana. A los detergentes que no son biodegradables se les llama detergentes duros y a los degradables, detergentes blandos.

1.2 Tipos de detergentes

1.2.1 Detergentes alcalinos

La alta alcalinidad de estos detergentes ayuda a abrir la fibra, permitiendo una mejor humectación de la misma y las hace fácilmente solubles en el medio acuoso, permitiendo de esta manera la remoción de manchas difíciles.

Existen en el mercado varios compuestos alcalinos de los cuales se mencionan algunos ejemplos:

- Hidróxido de sodio
- Fosfato trisódico
- Carbonato de sodio



- Bicarbonato de sodio
- Tetraborato sódico (Bórax)

1.2.2 Detergentes ácidos

Se usan principalmente en la limpieza de tanques de almacenamiento, clarificadores, tanques de pesaje y otros equipos y utensilios. El uso de limpiadores ácidos, alternados con soluciones alcalinas logra la eliminación de olores indeseables y disminución de la cuenta microbiana.

Los ácidos que se usan con más frecuencia como limpiadores generales son:

- Ácido glucónico
- Ácido sulfónico
- Tetrafosfato de sodio

1.2.3 Detergentes duros

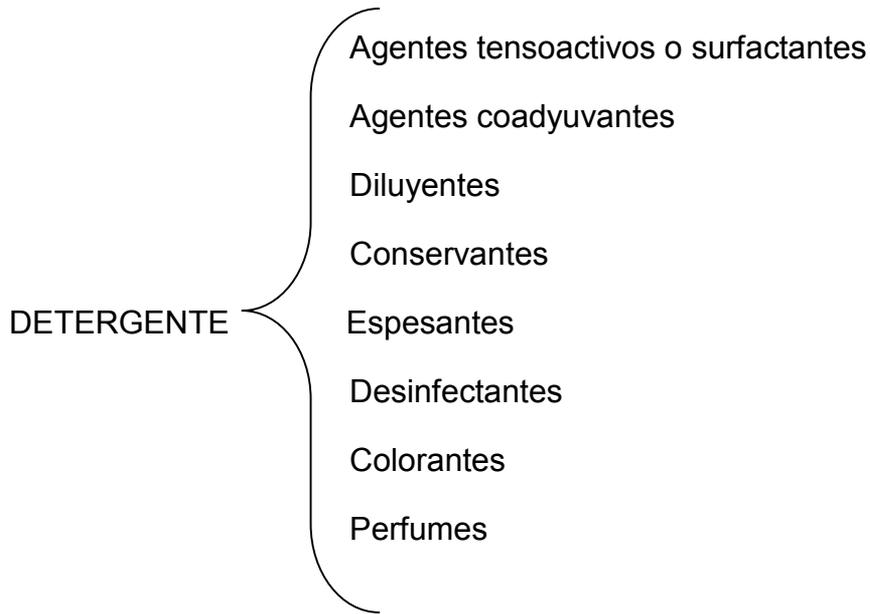
Llamados detergentes no biodegradables ya que no son descompuestos fácilmente por la acción bacteriana, lo que quiere decir que tienen una lenta degradación biológica, debido al grupo alquilo altamente ramificado, basado en el propileno tetrámero materia prima fundamental para los compuestos dodecibencenicos. Un ejemplo de esos detergentes son los aquilbencenosulfonatos de cadena ramificada.

1.2.4 Detergentes blandos

Llamados detergentes biodegradables ya que se degradan mucho más rápidamente, eso quiere decir que son biológicamente suaves. Estos detergentes fueron introducidos en reemplazo a los detergentes duros, ya que tienen menor incidencia ambiental sobre las aguas. Lo componen los alquilbencenos de cadena lineal o recta.

1.3 Composición de un detergente

Entre los componentes de un detergente podemos encontrar:



A continuación se darán algunas características de los componentes antes mencionados:

1.3.1 Agentes tensoactivos o surfactante

Los tensoactivos, llamados también surfactantes, son especies químicas con una naturaleza o estructura polar - no polar, que forman una interfase formando una capa monomolecular. Disminuyen la tensión superficial de los líquidos en los cuales se disuelven y como consecuencia varían la tensión interfacial entre el disolvente del tensoactivo y las materias insolubles en él. La modificación de la tensión superficial del agua y la tensión interfacial, ocurre con frecuencia entre el agua y las grasas, ceras, partículas sólidas suspendidas, superficie sólidas, etc.

La composición química de los tensoactivos está formada por una cadena hidrófoba unida a un grupo hidrófilo, y por lo tanto pueden ser de carácter aniónico, catiónico, no iónico o anfótero.



1.3.1.1 Propiedades de los tensoactivos

Los estados físicos de la materia son: sólido, líquido y gaseoso, la combinación entre ellos pueden dar un sinnúmero de productos, como son: polvos, lodos, espumas, suspensiones, emulsiones, dispersiones, etc.

Estas combinaciones (polifaciales, multinterfaciales), es en donde podemos ver mejor, las propiedades de los tensoactivos como son:

Humectación. Es el esparcimiento del agua sobre una superficie sólida. Para una buena humectación se combinan la disminución de la tensión superficial y la viscosidad del sistema.

Emulsificación. Es la penetración de un líquido oleoso o insoluble en el agua, dando como resultado una mezcla estable de dos o más líquidos insolubles. Esta penetración hace al líquido en forma de finas gotas protegidas por una capa de moléculas tensoactivas de propiedades emulsionantes. Las emulsiones pueden ser aceite en agua, o agua en aceite. Las emulsiones generalmente oscilan entre 30% y 70% de fase dispersa siendo estables la de baja concentración o inestables con tendencia a inversión de fase las de alta concentración.

Suspensión. Es el englobamiento de partículas sólidas por una capa de moléculas tensoactivas orientadas uniformemente distribuidas en el medio.

Dispersión. Proceso por el cual se reduce las fuerzas de cohesión entre partículas para hacer posible la separación de agregados de partículas, la dispersión de sólidos en líquidos generalmente se hace con equipos mecánicos y/o con ayuda de agentes dispersantes que son tensoactivos usados para separar y conservar separados agregaciones de partículas.

Espumaciones. El agua pura no forma espuma estable cuando es sometida a agitación, el aire que se introduce en ella escapa rápidamente, sin embargo, si alguna contiene ciertos tensoactivos disueltos o dispersos, el aire introducido en ella no saldrá tan fácilmente y da lugar a la formación de espuma, que está definida como un sistema heterogéneo formado por un gas disperso en el

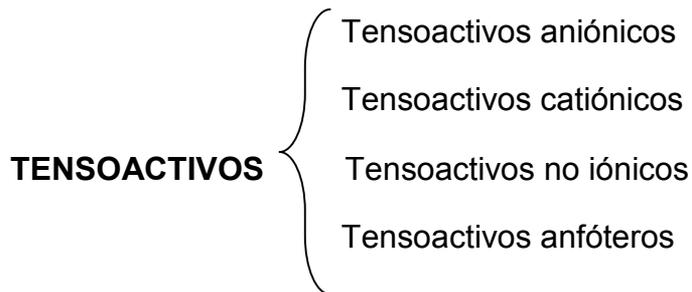


líquido, sistema termodinámicamente inestable. Normalmente en las espumas estables se forma una triple capa de pared de la espuma formada de la siguiente manera: moléculas tensoactivas orientadas en la pared interna de la burbuja y en el medio una capa de líquido aproximadamente de 1 milimicra de espesor. Existen agentes que promueven la formación de espuma pero también otros que la controlan o inhiben totalmente. Los que controlan o inhiben la espuma pueden ser solubles o insolubles en el líquido del sistema. Sus principales características son baja volatilidad, alto punto de ebullición, poder de difusión, facilidad de dispersión y atracción superficial.

Detergencia. Es la capacidad de ciertos tensoactivos o mezcla de tensoactivos de eliminar la mugre de una superficie sólida. Para alcanzar este efecto la preparación tensoactiva debe combinar: humectación, dispersión, suspensión, solubilización y emulsificación.

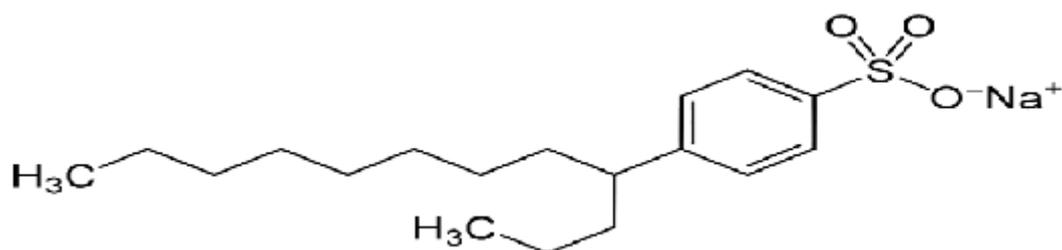
1.3.1.2 Clasificación de los tensoactivos

Los tensoactivos se clasifican en cuatro grupos:



Dentro de la formulación propuesta el tensoactivo utilizado es de origen aniónico, a continuación se describen algunas de sus características:

Los tensoactivos aniónicos. En solución se ionizan, pero considerando el comportamiento de sus grupos en solución, el grupo hidrófobo queda cargado negativamente. Están constituidos por una cadena alquílica lineal o ramificada que va de 10 a 14 átomos de carbono, y en su extremo polar de la molécula se encuentra un anión. Representantes de este grupo son derivados del ión sulfato o de sulfonatos como es el dodecil sulfato de sodio o dodecil bencen sulfonato de sodio.



Dodecil benceno sulfonato de sodio

1.3.2 Agentes coadyuvantes

Son sustancias que se incorporan a la formulación de un detergente para mejorar o proteger la eficiencia detergente del tensoactivo. Ablanda el agua de lavado secuestrando los iones cálcicos y magnésicos formando iones solubles en agua y de esta manera no puedan interferir en la acción del tensoactivo. Actúan como emulsionante de la grasa y como dispersante de las partículas sólidas de la suciedad impidiendo su re deposición. Permiten el mantenimiento de la alcalinidad en el agua de lavado para una eliminación efectiva de la suciedad.

1.3.3 Diluyentes

Es una sustancia que permite la dispersión de otra sustancia en esta a nivel molecular o iónico.

1.3.4 Conservantes

Aditivos usados para mantener la estabilidad del producto y evitar su contaminación bacteriana (detergentes líquidos).

1.3.5 Espesantes

Sustancias que aumentan la viscosidad, es decir, la resistencia del producto a fluir libremente. El cloruro de sodio (la sal común) es uno de los espesantes empleados en la fabricación de detergentes (detergentes líquidos).



1.3.6 Desinfectante

Mata o inactiva agentes patógenos tales como virus, bacterias o protozoos.

1.3.7 Colorantes

Son moléculas que contienen grupos químicos cromóforos, es decir grupos portadores de color. Estas sustancias se utilizan para dar coloraciones a ciertos detergentes, para mejorar su apariencia.

1.3.8 Perfumes

Son compuestos naturales o sintéticos que se agregan a los detergentes para darle un olor agradable.

Existen detergentes sólidos, líquidos y en polvo de los cuales en el presente trabajo nos referimos solamente al detergente líquido. A continuación mencionaremos algunas de sus propiedades fisicoquímicas.

1.4 Propiedades fisicoquímicas de los detergentes líquidos lavatrastes

Los detergentes líquidos tienen un rango de pH de 6.8 a 7.6 debido a que el valor de pH de la piel en personas saludables oscila entre 4.5 y 5.6. Este valor está dado por la composición de los fluidos (como el sudor) de la piel. Con base en lo anterior resulta conveniente elegir productos cuyo intervalo de acidez se asemeje al de la piel, para evitar resequedad, agrietamiento y enrojecimiento. Deben de tener un rango de viscosidad de 900 a 1500 cps, es un factor importante que influye con el mayor o menor gasto que realicemos, ya que a mayor viscosidad tienen un mayor porcentaje de ingrediente activo por lo que se gasta menos en lavar más.

1.5 Desinfectantes para frutas y verduras

Si bien los patógenos presentes en productos como la carne o el pescado se eliminan durante los procesos de cocinado, no sucede lo mismo con frutas y verduras, que se consumen crudas en su mayoría. Cualquier patógeno que no se elimine durante el proceso de lavado o pelado permanecerá en el alimento hasta que se ingiera. Así que antes de manipular algún alimento para su preparación se debe de lavar. Pero lavar no basta, hay que desinfectar las



frutas y verduras para eliminar los microorganismos, residuos tóxicos y cualquier rastro de suciedad que no salen con un simple lavado.

Actualmente existen diversos productos desinfectantes para eliminar bacterias, sin embargo, solo algunos destruyen quistes de parásitos presentes en frutas y verduras.

Entre las formulaciones comerciales para desinfectar se encuentran las que contienen plata coloidal, compuestos clorados y compuestos limpiadores.

Plata coloidal. La plata en su forma coloidal es eficaz para eliminar diversas bacterias. El término coloide se refiere a una sustancia que consta de partículas ultrafinas que no se disuelven sino que permanecen suspendidas; estas partículas son más grandes que la mayoría de las moléculas, pero tan pequeñas que no son visibles a simple vista. Por ejemplo el producto del mercado Bacdyn plus que contiene plata coloidal estable a 0.32% y grenetina de origen animal, este producto se utilizó para comparar con los resultados de los desinfectantes propuestos para este estudio.

Compuestos clorados. Contienen compuestos como hipoclorito de sodio, clorato de sodio y/o dióxido de cloro; atacan la pared celular de los microorganismos, pero tienen un efecto residual que puede actuar evitando la recontaminación; la efectividad del producto dura hasta que el cloro residual se agota.

Tabletas desinfectantes. También se elaboran a base de cloro (dicloroisocianurato de sodio); su acción efervescente descarga una dosis de cloro activo que actúa sobre los microorganismos.

Productos limpiadores, desinfectantes para frutas y verduras. En su fórmula incluyen un agente que actúa sobre la superficie del vegetal, así como otros ingredientes que acidifican el agua. La combinación de la acidez del agua con el agente limpiador (tensoactivo) mata los gérmenes de los vegetales; estos productos deben de enjuagarse con agua libre de gérmenes una vez transcurrido el tiempo de exposición recomendado por el fabricante.

Se tomó en cuenta la **NOM-093-SSA1-1994** y los resultados del análisis microbiológico realizado a diferentes tipos de frutas y verduras provenientes de supermercados así como de la central de abastos de la ciudad de Puebla, descrito en la tabla 1; para establecer el rango de bacterias que se tiene que eliminar con el producto desarrollado en este trabajo.

Tabla 1. Estudio realizado a frutas y verduras frescas de los centros comerciales y central de abastos de la ciudad de Puebla; Santos GE, Mayo 2006.

Puebla FRUTA Y/O VERDURA	LUGAR DE ADQUISICION	UFC/g Cuenta de mesófilos aerobios en placa. NOM-092-SSA1-1994
Lechuga	Comercial Mexicana	7,200,000
Cilantro	Comercial Mexicana	6,600,000
Espinaca	Comercial Mexicana	8,100,000
Espinaca	Sam's Club	4,000,000
Lechuga	Sam's Club	2,400,000
Lechuga	Sam's Club	2,300,000
Lechuga	Sam's Club	2,100,000
Lechuga	Central de abastos	1,000,000
Lechuga	Central de abastos	3,500,000
Lechuga	Central de abastos	5,200,000
Cilantro	Central de abastos	7,400,000
Espinaca	Central de abastos	6,300,000

1.5.1 Mesófilos aerobios

El grupo de mesófilos aerobios comprenden a todas las bacterias Gram positivas y negativas, cromógenas, proteolíticas fermentadoras, proteolíticas patógenas, saprofitas y aerobias capaces de proliferar entre 20 °C y 37 °C.

La presencia de un número elevado de mesófilos aerobios indica la existencia de materia orgánica que origina condiciones favorables para la multiplicación de los organismos.

Su identificación es realizada por medio de conteos de microorganismos viables (conteos en placa, cuenta total aeróbica, etc.), determinando el número máximo de organismos a través de unidades formadoras de colonias (UFC), bajo condiciones de incubación entre los 20 °C y 37 °C de 24 a 48 h. Como el grupo de mesófilos es muy heterogéneo, la prueba se basa en la capacidad que tienen estos organismos para desarrollarse en las condiciones indicadas.

1.5.2 Microorganismo prueba

El microorganismo de prueba es *Escherichia coli* ATCC 11229. Este microorganismo se asocia con una gran variedad de enfermedades como infecciones del tracto urinario o digestivo, causado generalmente por la contaminación de alimentos, y posterior a la mala cocción o desinfección de los mismos. Se trata de una enterobacteria Gram negativa, normalmente vive en el intestino del hombre y de los animales y no suele causar ningún tipo de problema, es más, es necesaria para el funcionamiento correcto del proceso digestivo. Sin embargo, algunas cepas por intercambio de material genético, han adquirido la capacidad de causar infecciones y provocar diarreas sangrantes, el ser humano puede contaminarse a través de la dispersión de heces fecales que la contengan.

Para poder eliminar este tipo de bacterias de las frutas y verduras se propusieron tres diferentes desinfectantes naturales de los cuales a continuación se dan algunas características.



2. DESINFECTANTES NATURALES PROPUESTOS PARA LA FORMULACIÓN DEL DETERGENTE LÍQUIDO LAVATRASTES

2.1 Citrol K

Es un conservador y germicida de origen natural obtenido a partir de los extractos cítricos de toronja, naranja y limón. Es un líquido de color amarillo a canela ligeramente viscoso con ligero olor cítrico, con las siguientes propiedades:

- No tóxico.
- Amplio espectro de actividad antimicrobiana contra bacterias Gram-positivas, Gram-negativas, hongos y levaduras. Mínimo de 99.9% en reducción de *Escherichia coli* antes de 15 min de contacto.
- No cambia el color, olor, ni sabor de los productos.
- Compatible con otros conservadores.
- Soluble en agua.
- Su efectividad no depende del pH.

2.2 Antibac W

Un rábano de origen japonés que no suele cultivarse en otros lugares del mundo. En occidente puede adquirirse en polvo, al que se le añade agua para que adquiera la textura pastosa que le caracteriza, o en pasta ya preparada en tubos.

- El antibac W es rico en vitamina C, estimula la producción de saliva y facilita la digestión.
- Tiene poderosas propiedades antibacterianas y es un antiséptico suave.
- Es ideal para quitar el frío o cuando se está un poco bajo de energía.
- Evita hemorroides o úlceras gástricas.

2.3 Árbol de té

El aceite del árbol de té, se obtiene de la destilación en alambique de las hojas del árbol *Melaleuca alternifolia*. Originario de Australia, el aceite esencial del árbol de té posee un efecto antiséptico triple, actúa contra las bacterias, hongos y virus es, además bactericida, fungicida, antivírico, cicatrizante, antiinflamatorio, desodorante, expectorante y balsámico. Las propiedades antisépticas, fungicidas y anti-acnéicas son aceptadas y reconocidas por el Departamento de Sanidad Australiano.

No se le conoce ningún tipo de toxicidad, ni efectos secundarios, no irrita la piel por lo que no conlleva a ningún riesgo para la salud. Como cualquier otro aceite esencial se tiene que manejar con cuidado y evitar su contacto con los ojos, pero si esto sucediera, no hay que alarmarse y simplemente lavar con abundante agua y jabón.

Ya que no existe una norma para el tipo de producto que se formuló en este estudio se encontró que los productos desinfectantes para agua, frutas y verduras que se encuentran en el mercado siguen la **NOM-244-SSA1-2008** descrita a continuación.

3. NORMATIVIDAD PARA EVALUAR LA EFICIENCIA DE PRODUCTOS DESINFECTANTES

3.1 Norma Oficial Mexicana NOM-244-SSA1-2008

La eficiencia de una sustancia germicida, está dada por su capacidad para retener, destruir o eliminar la carga microbiana presente en el agua cuando existe alguna contaminación. Esta eficiencia depende de la composición química de la sustancia germicida.

El objetivo de esta norma es determinar y demostrar si la sustancia cumple con las propiedades que le son atribuidas por el fabricante, bajo las condiciones de operación descritas por el mismo.

Se inocula una fuente de agua con un número conocido de microorganismos seleccionados para probar la eficiencia de la sustancia germicida. Posteriormente, el agua se somete a la acción de dicha sustancia germicida, proporcionada por el fabricante, en este caso se tomó como referencia las indicaciones de uso de los productos ya existentes en el mercado mexicano.



Se toman muestras, del agua de prueba antes y después de haberse sometido al tratamiento. Se efectúan cuentas microbianas en dichas muestras para constatar que se redujo el número de gérmenes en el agua tratada de acuerdo a la norma **NOM-092-SSA1-1994**.

4. OBJETIVOS

- Formular un detergente lavatrastes líquido que contenga ingredientes desinfectantes naturales.
- Evaluar la eficiencia antibacterial de los desinfectantes naturales propuestos.

5. MATERIAL EQUIPO Y REACTIVOS

5.1 Material para la formulación del detergente líquido

- Vaso de precipitados de 500 mL
- Vaso de precipitados de 250 mL
- Pipetas graduadas de 1, 5 y 10 mL
- Espátulas
- Frascos ámbar

Equipo

- Agitador mecánico
- Parrilla de calentamiento
- Balanza Analítica
- Baño María

Reactivos

- Agua
- Tensoactivos aniónicos
- Surfactantes
- Perfume
- Conservadores

- Bicarbonato de Sodio
- Secuestrante
- Colorantes
- Citrol K
- Árbol de té
- Antibac W

5.2 Material para las pruebas de eficiencia en reducción bacteriana

- Cajas de Petri estériles
- Tubos de ensayo
- Matraz Erlenmeyer de 250 mL estéril
- Matraz Erlenmeyer de 500 mL estéril
- Pipetas graduadas de 1 mL estéril
- Pipetas graduadas de 5 mL estéril
- Pipetas graduadas de 10 mL estéril
- Espátulas
- Portaobjetos
- Gradilla
- Asa bacteriológica
- Mechero

Equipo

- Contador de colonias manual
- Micropipeta de 1 mL con puntillas estériles
- Balanza granataria
- Rotámetro
- Microscopio
- Incubadora para operar a una temperatura de 35 ± 2 °C
- Refrigerador
- Autoclave

Reactivos y medios de cultivo

- Agar para cuenta estándar
- Agar Mac Conkey
- Agar EMB
- Agar TSI
- Agua destilada estéril
- Peptona
- Caldo RMVP
- Rojo de metilo
- Agar citrato de Simmons
- Caldo urea
- Medio MIO
- Reactivo de Kovacs

Por cuestiones de confidencialidad con la empresa no se revela la formulación del detergente.

6. METODOLOGIA

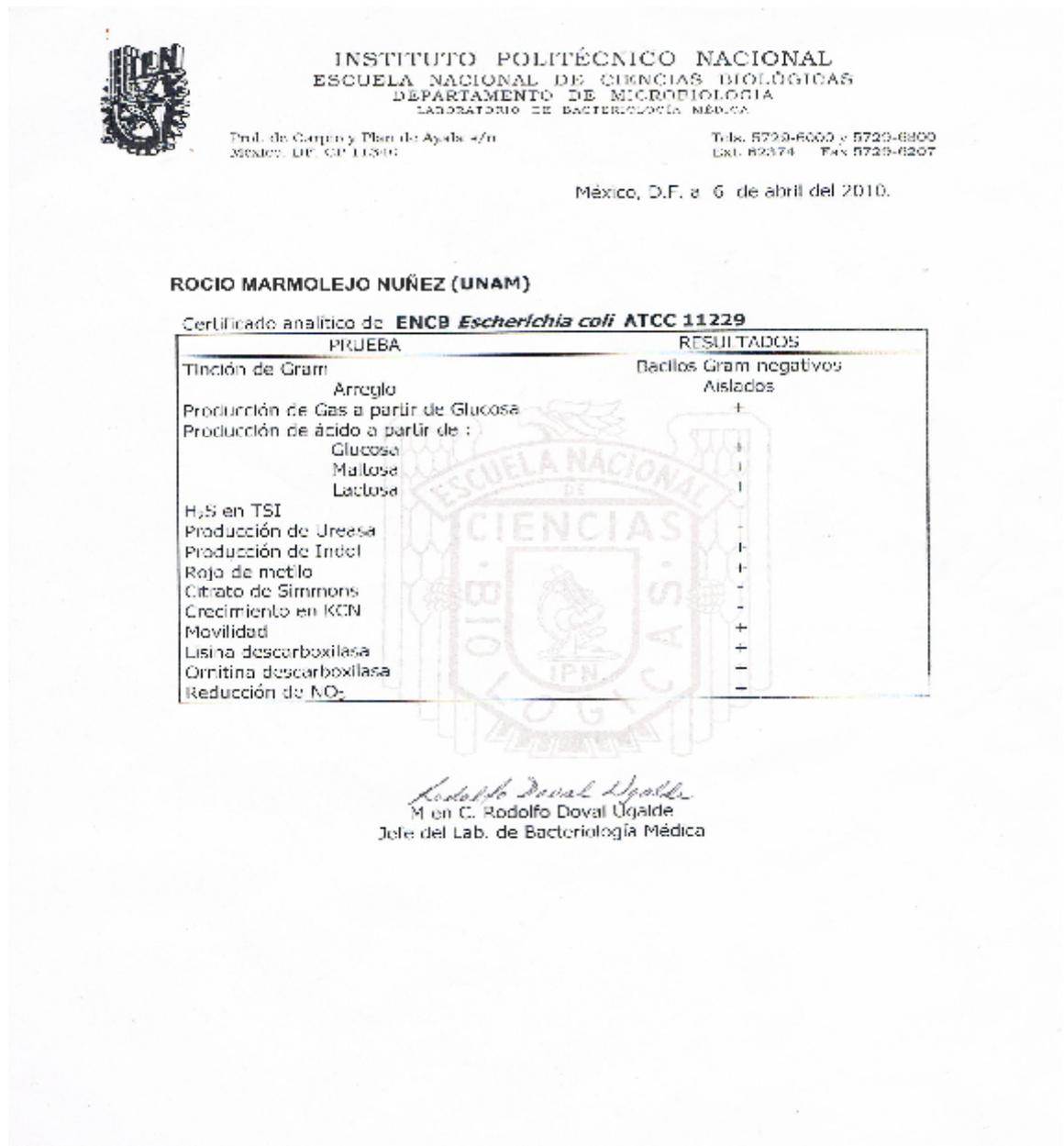
6.1 Procedimiento para la formulación del detergente líquido lavatrastes

1. Disolver en el agua uno a uno de los ingredientes de la fórmula (confidencial).
2. Ajustar pH con ácido cítrico o hidróxido de sodio.
3. Ajustar viscosidad con cloruro de sodio y medir en un viscosímetro a las condiciones de A#4, 20 rpm.

6.2 Prueba de eficiencia antibacteriana

La cepa de *Escherichia coli* se obtuvo en la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas con su certificado analítico (Tabla 2), se corroboraron los resultados de las pruebas bioquímicas con las realizadas en laboratorio (Tabla 3).

Tabla 2. Certificado de análisis bioquímico de la cepa de *Escherichia coli*.




INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
ESCUELA NACIONAL DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA
LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA MÉDICA

Blvd. de Cooper y Blvd de Ayala s/n
 México, D.F. CP 04500

 Tels. 5720-6000 y 5720-6000
 Ext. 62374 Fax 5720-6207

México, D.F. a 6 de abril del 2010.

ROCIO MARMOLEJO NUÑEZ (UNAM)

Certificado analítico de **ENCB *Escherichia coli* ATCC 11229**

PRUEBA	RESULTADOS
Tinción de Gram	Bacilos Gram negativos
Arreglo	Aislados
Producción de Gas a partir de Glucosa	+
Producción de ácido a partir de :	
Glucosa	+
Maltosa	+
Lactosa	+
H ₂ S en TSI	-
Producción de Ureasa	-
Producción de Indol	+
Rejo de metilo	+
Citrato de Simmons	-
Crecimiento en KCN	-
Movilidad	+
Lisina descarboxilasa	+
Ornitina descarboxilasa	-
Reducción de NO ₂	-


 M en C. Rodolfo Doval Ugarte
 Jefe del Lab. de Bacteriología Médica

Tabla 3. Pruebas bioquímicas realizadas en el laboratorio para la identificación de la cepa de *Escherichia coli*.

<i>Escherichia coli</i> ATCC 11229	
PRUEBA	RESULTADOS
Tinción de Gram	Bacilos Gram negativos
Producción de gas a partir de Glucosa	+
Producción de ácido a partir de Glucosa	+
Producción de ácido a partir de Maltosa	+
Producción de ácido a partir de Lactosa	+
H ₂ S en TSI	-
Producción de Ureasa	-
Producción de Indol	+
Rojo de metilo	+
Citrato de Simmons	-
Crecimiento en KNC	-
Movilidad	+
Lisina descarboxilasa	+
Ornitina descarboxilasa	+
Reducción de NO ₃	+

Estas pruebas bioquímicas consisten en inocular la cepa de referencia en los diferentes medios de cultivo biológicos, conocida su reacción, debe de ser similar a los resultados señalados en el certificado expedido por la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, así como su viabilidad y pureza.

6.2.1 Procedimiento para la prueba de eficiencia en reducción bacteriana

Tomando como referencia los resultados de la Tabla 1 y la **NOM-093-SSA1-1994**, se usó una carga bacteriana en el rango de 150,000 a 8,100,000 UFC/g, que se preparó de la siguiente manera:

1. Preparación del agua de prueba. Para el caso de sustancias germicidas un litro de agua de prueba, inoculando el volumen de suspensión de *Escherichia coli* requerido, para alcanzar una carga total de bacterias de 150,000 a 10,000,000 UFC/g.



2. Tomar 1 mL del agua de prueba inoculada y depositarla en matraces Erlenmeyer, completar a 100 mL con agua destilada estéril, realizarlo por duplicado; marcar uno de los matraces como “Agua de Prueba Tratada”(APT) y el otro como “Agua de Prueba Sin Tratar”(APST).
3. Al matraz marcado como APST realizar las diluciones de acuerdo a la **NOM-110-SSA1-1994**.
4. Al matraz marcado como APT, agregar el detergente líquido desinfectante y dejar el tiempo de contacto requerido para esta prueba; posteriormente realizar las diluciones correspondientes.
5. Distribuir las cajas estériles en la mesa de trabajo de manera que la inoculación, la adición de medio de cultivo y homogenización, se puedan realizar cómoda y libremente. Marcar las cajas en sus tapas con los datos pertinentes previamente a su inoculación y correr por duplicado.
6. Después de inocular las diluciones de las muestras preparadas en las cajas Petri, agregar de 12 a 15 mL del medio preparado, mezclarlo mediante 6 movimientos de derecha a izquierda, 6 en el sentido de las manecillas del reloj, 6 en sentido contrario y 6 de atrás a adelante, sobre
7. una superficie lisa y horizontal hasta lograr una completa incorporación del inóculo en el medio; cuidar que el medio no moje la cubierta de las cajas. Dejar solidificar.
8. Incluir una caja sin inóculo por cada lote de medio y diluyente preparado como testigo de esterilidad.
9. El tiempo transcurrido desde el momento en que la muestra se incorpora al diluyente hasta que finalmente se adiciona el medio de cultivo a las cajas, no debe exceder de 20 minutos.
10. Incubar las cajas en posición invertida (la tapa hacia abajo) por 48 h a una temperatura de 37 °C.
11. Contar las colonias crecidas en el agua de prueba tratada y sin tratar y realizar los cálculos para la obtención del porcentaje en reducción bacteriana de acuerdo a la **NOM-244-SSA1-2008**.

7. RESULTADOS

7.1 Características morfológicas de *Escherichia coli*

Bacilos Gram negativos que en la tinción de Gram adquieren un color rojo tenue; en el medio de Mac Conkey el crecimiento es de color rosa, colonias medianas y circulares; y en el medio de EMB (Eosina Azul de Metileno) crecen colonias color verde metálico.

Posterior a la formulación del producto se probó la eficiencia antibacterial del producto con los tres diferentes desinfectantes naturales.

Se determinó la dilución que diera la carga de *Escherichia coli* necesaria para realizar esta prueba en base a la **NOM-110-SSA1-1994**.

Determinación de la carga de *Escherichia coli* en el agua de prueba

Tabla 4. Cálculo de los valores de la cuenta en placa (Ensayos por duplicado), de organismos mesófilos aerobios en Agar para cuenta estándar, incubadas 48 h a 35 ± 2 °C. Usando el APST.

	DILUCIONES	Colonias contadas				RESULTADO UFC/g
		10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	
		SERIE	1 : 1 000 000	1 : 10 000 000	1 : 100 000 000	
APST	A	>250	106	25	12	100×10^4
	B	>250	100	22	10	1000000

En la dilución 100×10^4 UFC/g de muestra se encontró la carga microbiana necesaria, para inocular las diferentes pruebas.

7.2 Ensayos de la efectividad de los detergentes desinfectantes sobre *Escherichia coli*.

7.2.1 Primer prueba

Muestras analizadas de detergente líquido (DL) con cada uno de los desinfectantes:

- DL+ Árbol de té
- DL+ Citrol K
- DL+ Antibac W

Dosis de aplicación: 3.3 mL de muestra en 100 mL de agua (tomado de las instrucciones de uso de los detergentes líquidos comerciales).

Microorganismo de prueba: Cepa de *Escherichia coli* ATCC 11229. Inoculación en agua destilada estéril.

Tiempo de contacto: 15 min. (Propuesto de acuerdo al tiempo marcado en los productos desinfectantes comerciales).

- Bacdyn Plus. (solución de plata coloidal estable al 0.32% y grenetina de origen animal).

Dosis de aplicación: 1 gota de muestra en 100 mL de agua (dosis para frutas y verduras marcada en el envase del producto comercial)

Microorganismo de prueba: Cepa de *Escherichia coli* ATCC 11229. Inoculación en agua destilada estéril.

Tiempo de contacto: 15 min.

En la tabla 5 se presentan los resultados obtenidos en la cuenta en placa de *Escherichia coli* con las condiciones de crecimiento para la primer prueba.

Tabla 5. Cálculo de los valores de la cuenta en placa (Ensayos por duplicado), de organismos mesófilos aerobios en Agar para cuenta estándar, incubadas 48 h a 35 ± 2 °C. Usando el APST y APT con los diferentes desinfectantes.

	DILUCIONES	Colonias contadas				RESULTADO UFC/mL
		10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	
		SERIE	1 : 1 000 000	1 : 10 000 000	1 : 100 000 000	
APST	A	>250	106	8		100×10^4
	B	>250	100	12		1000000
APST Árbol de té	A	>250	98			100×10^4
	B	>250	103			1000000
APT Árbol de té	A	>250	51	11		56×10^4
	B	>250	60	5		560000
APST Citrol K	A	>250	104			100×10^4
	B	>250	105			1000000
APT Citrol K	A	>250	42	9		45×10^4
	B	>250	47	15		450000
APST Antibac W	A	>250	107			100×10^4
	B	>250	105			1000000
APT Antibac W	A	>250	59	12		62×10^4
	B	>250	64	8		620000
APSTBacdyn	A	>250	99			100×10^4
	B	>250	104			1000000
APT Bacdyn	A	>250	20			17×10^4
	B	>250	14			170000

Cuenta considerada para realizar los cálculos

El Porcentaje en reducción bacteriana de organismos mesófilos aerobios se calcula utilizando la siguiente ecuación:

$$\% \text{ RBMA} = \frac{(\text{organismos mesófilos aerobios})_{\text{APST}} - (\text{organismos mesófilos aerobios})_{\text{APT}}}{(\text{organismos mesófilos aerobios})_{\text{APST}}} \times 100$$

En la siguiente tabla se muestran los resultados obtenidos con los diferentes desinfectantes

Tabla 6. Resultados de porcentaje en reducción bacteriana para mesofilos aerobios con los diferentes desinfectantes

DESINFECTANTE	%RBMA
DL+Árbol de té	40
DL+Citrol K	55
DL+Antibac W	38
Bacdyn	83

7.2.2 Segunda prueba

De acuerdo a los resultados obtenidos en la primera prueba, donde el porcentaje más alto de reducción bacteriana fue de 55% para el citrol K, se decidió aumentar al doble las dosis de desinfectante dentro de la formulación tomando como referencia los límites de uso de cada producto proporcionados por el fabricante.

Muestras analizadas:

- DL+ Árbol de té doble concentración
- DL+ Citrol K doble concentración
- DL+ Antibac W doble concentración

Dosis de aplicación: 3.3 mL de muestra en 100 mL de agua (tomado de las instrucciones de uso de los detergentes líquidos comerciales)

Microorganismo de prueba: Cepa de *Escherichia coli* ATCC 11229. Inoculación en agua destilada estéril.

Tiempo de contacto: 15 min. (Propuesto de acuerdo al tiempo marcado en los productos desinfectantes comerciales)

- Bacdyn Plus (Solución de plata coloidal estable al 0.32% y grenetina de origen animal)

Dosis de aplicación: 1 gota de muestra en 100 mL de agua (dosis para frutas y verduras marcada en el envase del producto comercial)

Microorganismo de prueba: Cepa de *Escherichia coli* ATCC 11229. Inoculación en agua destilada estéril.

Tiempo de contacto: 15 min.

En la tabla 7 se presentan los resultados obtenidos en la cuenta en placa de *Escherichia coli* con las condiciones de crecimiento para la segunda prueba.

Tabla 7. Cálculo de los valores de la cuenta en placa (Ensayos por duplicado), de organismos mesófilos aerobios en Agar para cuenta estándar, incubadas 48 h a 35 ± 2 °C. Usando el APST y APT con el desinfectante a doble concentración.

	DILUCIONES	Colonias contadas				RESULTADO UFC/mL
		10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	
		SERIE	1 : 1 000 000	1 : 10 000 000	1 : 100 000 000	
APST	A	>250	106	8		100×10^4
	B	>250	100	12		1000000
APST + Árbol de té doble concentración	A	>250	98			100×10^4
	B	>250	103			1000000
APT Árbol de té doble concentración	A	>250	38	7		41×10^4
	B	>250	44	12		410000
APST Citrol K doble concentración	A	>250	107	24		100×10^4
	B	>250	95	21		1000000
APT Citrol K doble concentración	A	3	0	-		0×10^4
	B	3	1	-		000000
APST Antibac W doble concentración	A	>250	107			100×10^4
	B	>250	105			1000000
APT Antibac W doble concentración	A	>250	45	9		49×10^4
	B	>250	54	8		490000
APST Bacdyn	A	>250	99			100×10^4
	B	>250	104			1000000
APT Bacdyn	A	>250	18	3		16×10^4
	B	>250	14	5		160000

Cuenta considerada para realizar los cálculos

Porcentaje en reducción bacteriana de organismos mesófilos aerobios

$$\% \text{ RBMA} = \frac{(\text{organismos mesófilos aerobios})_{\text{APST}} - (\text{organismos mesófilos aerobios})_{\text{APT}}}{(\text{organismos mesófilos aerobios})_{\text{APST}}} \times 100$$

Tabla 8. Resultados de porcentaje en reducción bacteriana para mesofilos aerobios con los diferentes desinfectantes a doble concentración.

DESINFECTANTE	%RBMA
DL+Árbol de té	59
DL+Citrol K	100
DL+Antibac W	51
Bacdyn	84

8. DISCUSION DE RESULTADOS

Se realizaron pruebas bioquímicas a la cepa de *Escherichia coli* corroborando que se trataba de la bacteria solicitada a la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del Instituto Politécnico Nacional, de acuerdo a la comparación de los resultados obtenidos en el laboratorio con los expedidos en su certificado analítico.

Después de realizar varias pruebas se logró estandarizar la dilución (turbidez), en la cual se obtuvo la concentración propuesta de *Escherichia coli* para este procedimiento de 150,000 a 8, 100,000 UFC/g.

Se analizó de acuerdo a la norma **NOM-244-SSA1-2008**, el producto de mercado Bacdyn Plus y comparándolo con los resultados obtenidos por el laboratorio del fabricante se tiene una eficiencia menor de acuerdo a la normatividad que utilizan para este tipo de desinfectantes, esto debido al aumento en la carga del microorganismo de prueba propuesta para el producto en desarrollo.

Se realizó una primera prueba para evaluar el porcentaje en reducción bacteriana con los tres diferentes detergentes desinfectantes; DL + árbol de té, DL + citrol k y DL + antibac w, pero no se logró obtener el porcentaje marcado en la **NOM-244-SSA1-2008**, por lo que se decidió incrementar al doble la concentración de desinfectante dentro de la formulación.

Se realizó una segunda prueba con los detergentes a doble concentración de desinfectante y se logró obtener un porcentaje superior al marcado en la **NOM-244-SSA1-2008**.

Analizando las tres diferentes muestras propuestas se encontró que el desinfectante que mejor desempeño tuvo dentro de la prueba de eficiencia, fue el citrol k y aunque se aumentó al doble la concentración dentro de la fórmula, este quedó dentro del límite permisible corroborando su amplio espectro de actividad antimicrobiana contra organismos mesófilos aerobios descrita en las especificaciones de la ficha técnica del producto adquirido en Droguería Cosmopolita, la cual menciona que tiene una efectividad del 99.9%,⁹ aun en un tiempo de contacto 15 min, menor al que sugiere la Organización Mundial de la Salud (OMS) en la Guía para la desinfección con cloro libre del agua potable que es de 30 min como mínimo.

No hubo necesidad de cambiar algún material dentro de la formulación ya que al mezclarse, ninguno hizo que el desinfectante natural perdiera sus propiedades antibacteriales, así como el citrol k no modificó el pH de 7.6, olor, color y viscosidad de 1200 cps del detergente líquido.



9. CONCLUSIONES

No se recomiendan los desinfectantes naturales, árbol de té y antibac w para este tipo de formulaciones ya que no cumplen con el porcentaje en reducción bacteriana anunciada por su fabricante.

El detergente líquido lavatrastes formulado con citrol k demostró que tiene una eficiencia en reducción bacteriana la cual cumple con las especificaciones de la norma **NOM-244-SSA1-2008** además que contiene ingredientes activos que lo hacen amigable con el medio ambiente.

REFERENCIAS

1. Floyd EF. Detergency of specialty surfactants. M. Dekker; New York, 2001.
2. Waldhoff H. Handbook of detergents, Part C: Analysis (surfactant science). M. Dekker; New York, 1999.
3. Zoller U. Handbook of detergents, Part E: Applications (surfactant science). M. Dekker; New York, October 19 2008.
4. Safeserver.com. Viscosidad para detergentes líquidos. Consultado en <http://www.safeserver.com.ar/archivos/770.pdf>
5. Ciencianet.com. Principales componentes de un detergente líquido. Consultado en <http://ciencianet.com/detergente.html>
6. Cosmotienda.com. Jabones y tensoactivos. Droguería cosmopolita. Consultado en <http://www.cosmotienda.com/tienda/jabones-tensoactivos-c-17.html>
7. Santos GE, Torres F. Evaluación de los métodos de desinfección aplicados a vegetales de hojas que se consumen crudos. Tesis Licenciatura. Administración de Hoteles y Restaurantes. Departamento de Turismo, Escuela de Negocios y Economía, Universidad de las Américas Puebla. Mayo, 2006.
8. Profeco.gob.mx. Productos para desinfectar agua y alimentos. Procuraduría Federal del Consumidor. Consultado en http://www.profeco.gob.mx/revista/pdf/est_01/desalim.pdf.



9. Corpocitrik.com. Propiedades del Citrol K. Consultado en http://www.corpocitrik.com/index.php?option=com_content&view=article&id=75:citrik-plus&catid=41:conservadores&Itemid=56
10. Alimentosparacurar.com. Propiedades del Antibac w. Consultado en <http://alimentosparacurar.com/n/316/w-propiedades-y-razones-para-su-uso.html>
11. Inkanat.com. Propiedades del Árbol de té. Consultado en <http://www.inkanat.com/es/arti.asp?ref=aceite-arbol-de-te>
12. Economia-noms.gob.mx. Consulta del catálogo de Normas Oficiales Mexicanas. Productos germicidas. Secretaria de Economía. Consultado en <http://www.economia-noms.gob.mx/noms/detalleXNormaAction.do>.
13. Salud.gob.mx. Consulta del catálogo de Normas Oficiales Mexicanas. Microorganismos patógenos en frutas o verduras crudas. Secretaria de Salud. Consultado en <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/093ssa14.html>
14. Salud.gob.mx. Consulta del catálogo de Normas Oficiales Mexicanas. Cuenta de bacterias en placa. Secretaria de Salud. Consultado en <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nomssa.html>
15. Ortega MS. Análisis Microbiológico en la presa Emiliano Zapata. Tesis Licenciatura. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza. Universidad Nacional Autónoma de México. Noviembre, 1997.
16. Bitton G. Wastewater microbiology. Wiley-Liss; USA, 1994.
17. Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA. Medical microbiology. 4th ed. St. Louis: Mosby; 2002.
18. Zoller U. Handbook of detergents, Part F: Production (surfactant science). M. Dekker; New York, November 20 2008.
19. Mac Faddin JF. Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica. Editorial medica panamericana; México, 1993.
20. Bacdyn.com. Análisis Microbiológicos. Consultado en <http://www.bacdyn.com/analisis.html>



21. Bvsde.ops-oms.org. Guía para la selección de sistema de desinfección. Desinfección de agua con cloro libre. Organización Mundial de la Salud. Consultado en <http://www.bvsde.ops-oms.org/tecapro/documentos/agua/guiaseleccsistdesinf.pdf>



ANEXO

Normas aplicadas

- **NOM-093-SSA1-1994.** Bienes y servicios. Prácticas de higiene y sanidad en la preparación de alimentos que se ofrecen en establecimientos fijos.
- **NOM-244-SSA1-2008.** Equipos y sustancias germicidas para tratamiento domestico de agua. Requisitos sanitarios.
- **NOM-092-SSA1-1994.** Bienes y servicios. Método para cuenta de bacterias aerobias en placa.
- **NOM-110-SSA1-1994.** Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico.