

APLICACIÓN DE DIFERENTES TÉCNICAS DE RECuento PARA BACTERIAS DE IMPORTANCIA SANITARIA EN AGUAS

Mónica B. Wachsman y Diana L. Vullo

Área Microbiología, Departamento de Química Biológica, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (UBA), Ciudad Universitaria, Pabellón 2, Piso 4, (1428) Buenos Aires. Argentina.
dvullo@qb.fcen.uba.ar, wachsman@qb.fcen.uba.ar

Resumen

En muchos procesos industriales las contaminaciones microbianas afectan la producción y la estabilidad del producto elaborado. Un estudiante de Química debería conocer la metodología a seguir para determinar la calidad microbiológica de los materiales utilizados en los distintos procesos. La enseñanza de la Microbiología es fundamental para generar la capacidad de enfrentar y resolver problemas de rutina ante contaminaciones microbianas, como también para adaptar sistemas microbianos a procesos biotecnológicos.

El análisis microbiológico por recuento de bacterias indicadoras de contaminación fecal en aguas es de suma importancia al evaluar el estado sanitario del sistema en estudio. Las bacterias que se utilizan normalmente forman parte de un grupo llamado coliforme, dentro de la familia *Enterobacteriaceae*. Dicho grupo se caracteriza por estar formado por microorganismos que habitan el tracto gastrointestinal de los vertebrados. Su presencia indica el potencial patogénico en aguas, es decir la probable existencia de agentes causantes de enfermedades como cólera, hepatitis, polio, fiebre tifoidea, giardiasis, amebiasis, etc. Debido a que la concentración de dichos agentes habitualmente es baja, su detección directa en aguas es complicada, por la cual se utiliza, entre otras, a las bacterias coliformes, que son de fácil detección y cultivo en laboratorio y presentan un tiempo de supervivencia que excede al de los patógenos en ese ambiente.

Las técnicas de recuento varían de acuerdo a los límites establecidos para los diferentes usos del recurso hídrico. En el caso de aguas de consumo, el Código Alimentario Argentino establece un límite lo suficientemente bajo para bacterias coliformes, que exige el método estadístico denominado Número Más Probable (NMP) para su enumeración. Sin embargo, en el caso de uso agropecuario o bien en aguas a ser tratadas para posterior consumo humano, los límites son mayores, por lo que exige un recuento convencional en placa. Se ha diseñado una experiencia de laboratorio para la materia Microbiología General e Industrial, obligatoria para la carrera Licenciatura en Ciencias Químicas, de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad de Buenos Aires. Su objetivo es la comparación de ambos métodos mediante la realización de recuentos paralelos de aguas de diferentes grados de contaminación, utilizando las técnicas de NMP y recuento en placa, en medios selectivos para coliformes.

El trabajo experimental se planificó para ser realizado en dos clases prácticas de laboratorio de tres horas cada una, en grupos reducidos de dos o tres estudiantes cada uno. Cada grupo cuenta con muestras de agua de diferentes orígenes. Una vez finalizado el trabajo práctico, se procede a la comparación, interpretación y discusión de los resultados obtenidos.

Palabras clave: NMP, bacterias indicadoras, método de Wilson, recuento en placa, calidad de aguas.

Abstract

Water samples from different sources are usually tested for safety by carrying out a procedure that detects the presence of coliform bacteria. Two experimental techniques can be used for this detection. Most Probable Number (MPN) test is generally applicable with high diluted samples, which contain a bacterial enumeration ≤ 10 CFU/mL. This method uses probability statistics to determine the mean concentration of bacteria with a true number (95% confidence limit) which shows extreme variation. On the other hand, the plate count method requires a higher bacterial concentration to be performed, but the results are obtained with higher accuracy. The aim of this work is to make a comparative study of these two methods, in order to optimize coliform detection in water samples.

Introducción

Las disponibilidades en agua constituyen un factor fundamental para el desarrollo económico y la salud pública. Los abastecimientos de agua se consideran en todos los países como inversiones básicas de interés general, en el sentido de que posibilitan actividades humanas e industriales directamente productivas que influyen en la tasa de crecimiento económico.

La contaminación es un proceso de alteración o de modificación más o menos importante de los equilibrios físicos, químicos o biológicos del agua que son responsables de su calidad y la hacen inadecuada para sus numerosos usos y aplicaciones. Dicha contaminación puede tener dos orígenes: químico o microbiológico. El agua natural constituye un reservorio de microorganismos autóctonos (*Pseudomonas*, *Bacillus*, *Micrococcus*) o exógenos (*Escherichia coli*, *Enterococcus*). No debe olvidarse que recibe y arrastra partículas cargadas de bacterias, de tal modo que en cercanías de las grandes poblaciones incluso el agua de lluvia es portadora de un elevado número de microorganismos (Guinea, 1979, 1-8).

El análisis microbiológico por recuento de bacterias indicadoras de contaminación fecal en aguas es de suma importancia al evaluar el estado sanitario del sistema en estudio. Las bacterias que se utilizan normalmente forman parte de un grupo llamado coliforme, dentro de la familia *Enterobacteriaceae* (Madigan, 2004, 927-941). Dicho grupo se caracteriza por estar formado por microorganismos que habitan el tracto gastrointestinal de los vertebrados. Su presencia indica el potencial patogénico en aguas, es decir la probable existencia de agentes causantes de enfermedades como cólera, hepatitis, polio, fiebre tifoidea, giardiasis, amebiasis, etc. Debido a que la concentración de dichos agentes habitualmente es baja, su detección directa en aguas es complicada, por la cual se utiliza, entre otras, a las bacterias coliformes, que son de fácil detección y cultivo en laboratorio y presentan un tiempo de supervivencia que excede al de los patógenos en ese ambiente (Vullo, 2000, 137-141).

Dentro de los métodos de recuento de bacterias se encuentran dos que son los más ampliamente utilizados: la técnica de Número Más Probable (NMP) y la técnica de recuento en placa. Con la primera sólo se obtiene una estimación de la población de microorganismos contenidos en una muestra, no proporcionando una enumeración precisa. Cuando la población es muy elevada, el recuento en placa supera en precisión a este método. Por el contrario en poblaciones bajas (menos de 10 células por mL) es más eficaz la técnica de NMP porque permite la utilización de muestras de mayor tamaño.

El objetivo del presente trabajo práctico es la comparación de dos métodos de enumeración de bacterias de importancia sanitaria, mediante la realización de recuentos paralelos de aguas de diferentes grados de contaminación, utilizando las técnicas de NMP y recuento en placa, en medios selectivos para coliformes.

Metodología

Tiempo estimado de realización y distribución de los grupos de trabajo

La experiencia fue diseñada para tres clases de trabajos prácticos de tres horas de duración cada una pertenecientes a la materia de grado Microbiología General e Industrial de la Licenciatura en Ciencias Químicas de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales-UBA. Como dichas clases cuentan con alrededor de 20 estudiantes, se forman 10 grupos de trabajo de 2 personas cada uno.

Muestras de agua

Se analizan 250 mL de muestras de agua de diferentes grados de contaminación: agua del Río de la Plata y agua de pozo, perteneciente al conurbano bonaerense. Las muestras deben tomarse en forma estéril, utilizando frascos adecuados.

Medios de cultivo

Caldo Brila – Fluorocult (Merck, 1994, 275): Peptona 10 g/l; Lactosa 10 g/l; Bilis de buey desecada 20 g/l; Verde brillante 0,0133 g/l; L-triptofano 1 g/l; 4-metilumbeliferil-β-D-glucurónido 0,1 g/l.

Caldo Citrato de Koser: Cloruro de sodio 5 g/l; Sulfato de magnesio 0,2 g/l; Hidrógenofosfato de diamonio 1 g/l; Hidrógenofosfato dipotásico 1 g/l; disolver los componentes hasta obtener una solución límpida; agregar 2 g/l de ácido cítrico y se lleva a pH=6 con hidróxido de sodio 1N.

Agar Chromocult (Merck, 1994, 270): Peptona 3 g/l; Cloruro sódico 5 g/l; Dihidrógenofosfato potásico 1,7 g/l; Hidrógenofosfato dipotásico 3 g/l; Piruvato sódico 1 g/l; Triptófano 1 g/l; Laurilsulfato sódico 0,1 g/l; Agar-agar 12 g/l; Mezcla de cromógenos 0,2 g/l.

Recuento de bacterias del grupo coliforme según la técnica de NMP

- 1- Disponer de series de tres tubos con 10 mL cada uno de Caldo Brila-Fluorocult doble concentración y series de tres tubos con 5 mL cada uno del mismo caldo, pero simple concentración. Todos deben poseer en su interior una campana de Durham para ver producción de gas.
- 2- Sembrar 10 mL de la muestra en cada uno de los tubos de doble concentración, 1 mL o 0,1 mL en los de simple concentración. Ver esquema de la Figura 1.
- 3- Incubar los tubos 48 hs a 37°C.
- 4- Seleccionar los tubos que posean gas en el interior de la campana de Durham. Dichos tubos serán considerados positivos. Buscar en la tabla (Figura 2) el NMP de bacterias coliformes totales / 100 mL de muestra. Calcular en forma paralela el NMP/100 mL (AWWA, WEF, APHA, 1998, 9-53, Hurst, 2002 178-179) según:
$$\text{NMP}/100 \text{ mL} = \frac{\text{n}^\circ \text{ tubos positivos} \times 100}{(\text{mL muestra en tubos negativos} \times \text{mL muestra totales})^{1/2}}$$
- 5- Sembrar con ansa recta, a partir de cada tubo con gas, en Caldo Citrato de Koser. Incubar 48 hs. a 37°C.
- 6- Exponer los tubos positivos de Caldo Brila-Fluorocult a la luz ultravioleta. Los medios con Fluorocult poseen MUG: 4-metilumbeliferil-β-D-glucurónido, sustrato de la enzima β-D-glucuronidasa, que al clivarse libera un producto (4-umbeliferona) de fluorescencia azul. Existen muchos grupos bacterianos que poseen dicha enzima, pero dentro de las Enterobacterias sólo *Escherichia coli* y algunas especies de *Salmonella* y *Shigella* cuentan con ella. Por lo tanto la aparición de fluorescencia y gas lleva a poder inferir la presencia de bacterias coliformes fecales (*E.coli*). Para poder considerar estos tubos positivos para coliformes de origen fecal debe agregarse 1 mL de reactivo de Kovacs (p-dimetilaminobenzaldehído 5%(p/v) en alcohol amílico o isoamílico con 2,5%(v/v) de HCl(c), Merck, 1994, 307) para la prueba de indol en cada tubo, y

ver el desarrollo de color púrpura en la fase orgánica. Con este patrón de tubos positivos, calcular por ambos métodos el NMP de bacterias coliformes fecales / 100 mL de muestra.

7- Según los resultados positivos por la aparición de turbidez en los tubos con Caldo Citrato de Koser, calcular el NMP de bacterias coliformes de origen no fecal.

8- Efectuar las correcciones por normalización, detalladas en la Figura 1 e informar los resultados del recuento.

Recuento en placa de bacterias del grupo coliforme

1- Inocular por duplicado 0,1 mL de muestra en placas de Petri preparadas con Agar Chromocult. Rastrillar el inóculo con espátula de Drigalsky.

2- Incubar a 37°C durante 48 hs.

3- Observar y contar las colonias obtenidas. El Agar Chromocult identifica coliformes totales (enterobacterias fermentadoras de lactosa) y *Escherichia coli* a través de dos sustancias cromógenas: Salmon-gal que pone en evidencia la β-D-galactosidasa dando colonias de color rojo y X-glucurónido que determina la presencia de la β-D glucuronidasa dando colonias azules. *Escherichia coli* escinde ambos compuestos dando coloración violeta. Las colonias rojas y violetas son características de bacterias coliformes. Las rojas pertenecen al grupo de las no fecales, mientras que las violetas a las fecales. Las especies que no poseen ninguna de las enzimas se evidencian a través de colonias transparentes. El medio tiene también laurilsulfato de sodio para inhibir el desarrollo de Gram positivas y triptófano para realizar la prueba de indol (reconocimiento de *E. coli*) (Figura 3).

4- Calcular el número promedio de unidades formadoras de colonias por mL (UFC/mL) de bacterias coliformes totales, fecales y no fecales presentes en la muestra, según la expresión:

$$\text{UFC/mL} = \frac{\text{Número de colonias promedio de ambas placas}}{\text{Dilución x volumen del inóculo}}$$

Obtención, manejo e interpretación de resultados

Recuento de bacterias del grupo coliforme según la técnica de NMP

A. Muestra: Río de la Plata

Se realizan diluciones seriadas al décimo de la muestra hasta 10⁻⁷. Se siembran series de tres tubos, acorde a los volúmenes detallados en la Tabla 1. De acuerdo a los tubos positivos obtenidos, se calcula el NMP de bacterias coliformes totales, fecales y no fecales presentes en la muestra, armando adecuadamente las combinaciones de tubos: 3 correspondientes a un volumen de 10 mL, 3 a 1 mL y 3 a 0,1 mL para aquella dilución en donde haya por lo menos dos tubos negativos en el menor volumen tomado (Tabla 2).

B. Muestra de agua de pozo del conurbano bonaerense

Se siembran series de tres tubos (10, 1 y 0,1 mL) de la muestra sin diluir. De acuerdo a los tubos positivos obtenidos, se calcula el NMP de bacterias coliformes totales, fecales y no fecales presentes en la muestra. Los resultados se muestran en la Tabla 3.

Recuento en placa de bacterias del grupo coliforme

A. Muestra: Río de la Plata

Se realizan diluciones seriadas al décimo de la muestra hasta 10⁻⁴. Se siembran en placas de Agar Chromocult y se calcula el número de UFC/mL de las colonias rojas (Coliformes no fecales), violetas indol positivas (Coliformes fecales) y la suma de ambas (Coliformes totales). Los resultados se resumen en la Tabla 4.

B. Muestra de agua de pozo del conurbano bonaerense

Se siembra la muestra sin diluir en placas de Agar Chromocult. y se calcula el número de UFC/mL de las colonias rojas (Coliformes no fecales), violetas indol positivas (Coliformes fecales) y la suma de ambas (Coliformes totales). Los resultados se resumen en la Tabla 5.

Discusión de los resultados

Una vez realizada la lectura de los resultados para las distintas muestras, se dispone de una última clase destinada a la discusión e interpretación de los resultados obtenidos por los distintos grupos de trabajo. Así por ejemplo para el caso de agua de río, se determina que el recuento de bacterias coliformes totales por mL, obtenido mediante la técnica de NMP corresponde a la mitad con respecto al valor en placa (Tablas 2 y 4). El intervalo de 95% de confianza para el método de NMP es muy amplio (AWWA, WEF, APHA, 1998, 9-52). Para el recuento de coliformes totales, el NMP calculado es $7,6 \times 10^5 / 100 \text{ mL}$ (Tabla 2: dilución 10^{-4} de la muestra original) y su intervalo de 95% de confianza oscila entre 3 y $25 \times 10^5 / 100 \text{ mL}$. Los valores de recuento en placa (Tabla 4) están dentro de este intervalo. En este caso, según el error de la técnica, el resultado oscila entre $2,4$ y $1,2 \times 10^4 \text{ UFC/mL}$. Los resultados muestran entonces una mayor precisión en el recuento en placa, ya que el método de NMP es un concepto estadístico, derivado de la teoría de probabilidades, aplicable a la enumeración de microorganismos bajo ciertas condiciones, es decir cuando las muestras son lo suficientemente diluidas como para realizar un recuento en placa. Para el caso de un agua de pozo, no se puede realizar el recuento en placa debido a la baja proporción de bacterias coliformes presentes en la muestra. Un recuento tan bajo como $3,6$ bacterias coliformes totales/100 mL sólo se puede estimar por la técnica de NMP. En este caso el intervalo del 95% de confianza se encuentra entre 1 y 13 bacterias coliformes totales/100 mL (AWWA, WEF, APHA, 1998, 9-52).

Como conclusión general del trabajo, es necesario conocer el origen y posible nivel de contaminación microbiológica de una muestra de agua a analizar, para utilizar el método de enumeración de mayor precisión en cada caso.

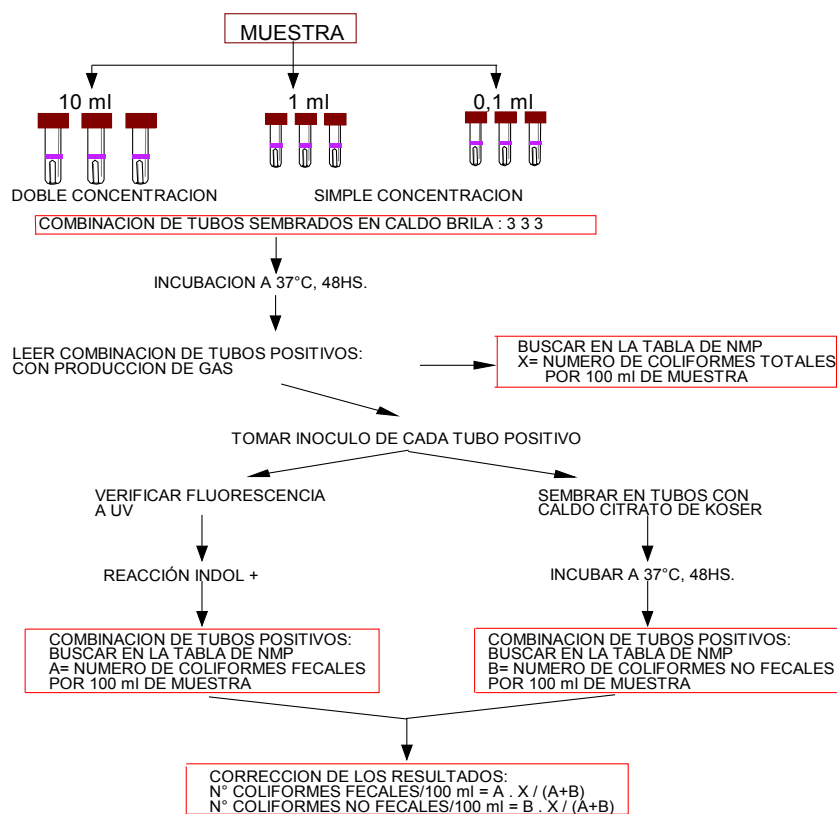


Figura 1: Recuento de bacterias del grupo coliforme por la técnica de NMP, según el método de Wilson.

Figura 2: Tabla de NMP.

Número de tubos positivos			Combinaciones de tubos sembrados									
			3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
			0	1	1	2	2	2	3	3	3	3
10 ml	1 ml	0,1 ml	0	0	1	0	1	2	0	1	2	3
0	1	0	3,3	3,3	3,2	3,2	3,2	3,1	3,1	3,1	3,0
1	0	0	4,1	3,9	3,9	3,8	3,7	3,7	3,6	3,6	3,6	3,6
1	1	0	8,1	8,0	7,7	7,7	7,7	7,4	7,4	7,4	7,3
1	2	0	12	12	12	12	11	11	11
1	2	1	16	16	16	15	15
1	3	0	16	16	16	16
1	3	1	20	20	20
2	0	0	11	10	10	9,8	9,8	9,7	9,3	9,3	9,2	9,1
2	0	1	16	15	15	15	14	14
2	1	0	17	17	16	16	16	15	15	15	14
2	1	1	24	22	22	21	21	20
2	2	0	23	23	23	21	21	21	21
2	2	1	30	30	28	28	28
2	3	0	29	29	29	29
2	3	1	37	36	36
2	4	0
2	4	1
2	5	0
2	5	1
2	5	2
3	0	0	34	33	28	27	27	24	24	23	23
3	0	1	95	53	51	40	39	39
3	0	2	95	65	64
3	0	3	95
3	1	0	71	66	63	46	45	44	43
3	1	1	140	130	81	78	75
3	1	2	210	120	120
3	2	0	300	240	110	100	98	93
3	2	1	700	170	160	150
3	2	2	230	210
3	2	3	290
3	2	4
3	2	5
3	3	0
3	3	1	340	280	240
3	3	2	690	460
3	3	3	1.100
3	3	3
3	3	4
3	3	5
3	4	0
3	4	1
3	4	2
3	4	3
3	4	4
3	4	5
3	5	0
3	5	1
3	5	2
3	5	3
3	5	4

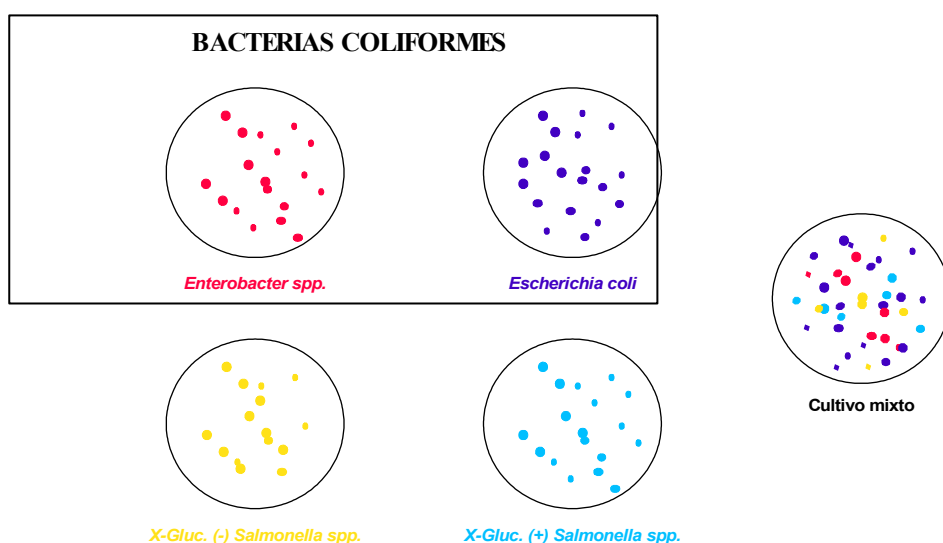


Figura 3: Crecimiento característico en Agar Chromocult.

Dilución	Sin diluir	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷
Volumen (mL)	10 1 0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1

Tabla 1. Volúmenes de agua de río a sembrar de acuerdo a la dilución realizada

Dilución	Coliformes totales			Coliformes fecales			Coliformes no fecales		
	Tubos positivos	NMP/100mL x 10 ⁵		tubos positivos	NMP/100mL x 10 ⁵		tubos positivos	NMP/100mL x 10 ⁵	
		Valor tabla	Valor calculado		Valor tabla	Valor calculado		Valor tabla	Valor calculado
10 ⁻⁴	3 2 0	9,5	7,6	3 2 0	4,7	3,8	3 2 0	4,7	3,8
10 ⁻⁵	2 0 0	9,1	9,5	2 0 0	4,6	4,7	2 0 0	4,6	4,7

Tabla 2. NMP de bacterias coliformes totales, fecales y no fecales por cada 100 mL de agua de río analizada.

Dilución	Coliformes totales			Coliformes fecales			Coliformes no fecales		
	tubos positivos	NMP/100mL		tubos positivos	NMP/100mL		tubos positivos	NMP/100mL	
		Valor tabla	Valor calculado		Valor tabla	Valor calculado		Valor tabla	Valor calculado
Sin diluir	1 0 0	3,6	3,6	0 0 0	<3	0	1 0 0	3,6	3,6

Tabla 3. NMP de bacterias coliformes totales, fecales y no fecales por cada 100 mL de agua de pozo analizada.

Dilución contable	Coliformes totales (UFC/ml)	Coliformes fecales (UFC/ml)	Coliformes no fecales (UFC/ml)
10 ⁻²	1,8 ± 0,6 x 10 ⁴	2,0 ± 0,6 x 10 ³	1,6 ± 0,6 x 10 ⁴

Tabla 4. Número de coliformes totales, fecales y no fecales por mL de muestra de agua de río.

Dilución contable	Coliformes totales (UFC/ml)	Coliformes fecales (UFC/ml)	Coliformes no fecales (UFC/ml)
Sin diluir	< 10	< 10	< 10

Tabla 5. Número de coliformes totales, fecales y no fecales por mL de muestra de agua de pozo.

Bibliografía

- AWWA, WEF, APHA, Standard Methods for the Examination of Water and Wasterwater, 20th. Edition, Washington DC, American Public Health Association, 1998.
- Guinea, J., Sancho, J., Parés, R. Análisis Microbiológico de aguas, Barcelona, Ediciones Omega S.A., 1979.
- Hurst, C.J., Crawford, R.L., Knudsen, G.R., McInerney, M.J., Stetzenbach, L.D., Manual of Environmental Microbiology, Segunda Edición, Washington D.C., ASM Press, 2002.
- Madigan, M.T., Martinko, J.M. and Parker, J. Brock, Biología de los microorganismos, Décima Edición en español, Madrid, Pearson Education S.A., 2004.
- Merck, E., Manual de Medios de Cultivo, Darmstadt, 1994.
- Vullo, D.L., Wachsman, M.B., Alché, L. E. Microbiología en Práctica, Manual de Técnicas de Laboratorio para la Enseñanza de Microbiología Básica y Aplicada, Buenos Aires, Editorial Atlante S.R.L., 2000.

UN DÍA EN LA PLAYA Y EL MÉTODO SOLVAY. UN PRÁCTICO DE LABORATORIO DIFERENTE

Víctor Pablo Carrasco, Marta Susana Díaz y María Isela Gutiérrez

Departamento Química, Facultad de Ciencias Naturales, Comodoro Rivadavia (9000), Argentina.
farmaciarivadavia@uol.sinectis.com.ar

Resumen

Se presenta el desarrollo de un trabajo práctico de laboratorio para alumnos del primer año de las carreras de Bioquímica, Farmacia, Geología y Licenciatura en Química que cursan Química Inorgánica en la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco en Comodoro Rivadavia. Para el estudio de la química de los elementos del grupo 14, un contenido mínimo de Química Inorgánica, se propone la obtención de carbonato de sodio (*soda solvay*), basándose en un proceso industrial.

El objetivo de este trabajo es realizar una experiencia de laboratorio empleando un recurso natural como materia prima, que permita a los alumnos relacionar conceptos de química con el entorno cotidiano y utilizar conocimientos adquiridos en otras materias de sus respectivas carreras promoviendo el establecimiento de vínculos interdisciplinarios que benefician el proceso de enseñanza aprendizaje.

La ciudad de Comodoro Rivadavia está ubicada a orillas del mar y por la diversidad marina, durante una salida a la playa se pueden recolectar, fácilmente y en abundancia, caparazones de moluscos bivalvos formados mayoritariamente por carbonato de calcio.

En el laboratorio se pueden obtener bicarbonato y carbonato de sodio por adaptación del proceso Solvay. Se utiliza un aparato de Kipp para la generación de una corriente continua de dióxido de carbono por descomposición del carbonato de calcio en presencia de ácido muriático. Los caparazones de moluscos son empleados para obtener carbonato de sodio, en reemplazo de la piedra caliza que se emplea habitualmente como materia prima. El dióxido de carbono se hace pasar por una solución de sal común saturada con amoníaco (salmuera amoniaca), aprovechando la escasa solubilidad del bicarbonato de sodio en este medio. El bicarbonato se separa por filtración y por descomposición térmica del mismo se obtiene el carbonato de sodio.

Palabras clave: química inorgánica, proceso Solvay, carbonato de sodio.

Abstract

An experimental activity within an Inorganic course for first-year students of Biochemistry, Pharmacy, Geology and Chemistry at the Faculty of Natural Sciences of the Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco (UNPSJB) in Comodoro Rivadavia is proposed. The city is located by the sea and shells with high concentrations of calcium carbonate, can be easily recollected in a walk on the beach.

Sodium carbonate is obtained from the shells by an adaptation of the Solvay process. A Kipp generator is used to obtain carbon dioxide.

The aim of this work is to present a laboratory activity of low cost, employing a natural resource, allowing the students to relate chemical contents with the environment.

Keywords: inorganic chemistry, Solvay process, sodium carbonate.

Introducción

Para el estudio de la química de los elementos del grupo 14, un contenido mínimo del curso de Química Inorgánica que se dicta para alumnos de las carreras de Bioquímica, Farmacia, Geología y Licenciatura en Química de la Facultad de Ciencias Naturales de la UNPSJB, se presenta en este trabajo práctico la obtención de carbonato de sodio.

El carbonato de sodio (Na_2CO_3) llamado también soda solvay, sal de sosa o ceniza de sosa es considerado el más importante carbonato de los metales alcalinos, principalmente por sus aplicaciones industriales, siendo uno de los diez compuestos inorgánicos más consumidos a nivel mundial. Se emplea fundamentalmente en la industria de vidrio, de jabones y detergentes, de pasta de papel y papel, siderúrgica y como intermediario químico (Beyer y Fernández Herrero, 2000).

Si bien algunos países obtienen carbonato de sodio a partir del mineral *trona*, un 70% del Na_2CO_3 es aún producido por el proceso Solvay (Rayner-Canham, 2000). Éste es un método ideado en el año 1863 y es un ejemplo de un eficaz aprovechamiento de materia prima de bajo costo: piedra caliza (fuente de carbonato de calcio, CaCO_3), sal (fuente de cloruro de sodio, NaCl) y amoníaco (NH_3).

En el curso de Química Inorgánica, al estudiar los elementos representativos, el ciclo del calcio es estudiado enfatizando su relación con el ciclo del carbono. La mayoría del CaCO_3 presente en los océanos es producido por la vida marina, principalmente en la forma de esqueletos externos y caparazones (Cox, 1995). En Comodoro Rivadavia, ciudad situada en el centro del Golfo San Jorge en la provincia del Chubut, se accede fácilmente a la playa desde distintos puntos, inclusive desde cercanías de la universidad. Durante una salida a la playa, los alumnos pueden recolectar fácilmente y en abundancia caparazones de moluscos bivalvos, que por su alto contenido en CaCO_3 pueden ser usados como materia prima alternativa para obtener soda solvay.

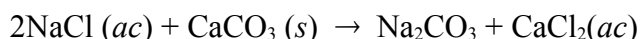
Se presenta un trabajo práctico basado en el proceso Solvay, empleando materiales existentes en un laboratorio de cursos básicos de Química (un aparato de Kipp y material de vidrio común) y materia prima accesible y de bajo costo (caparazones, ácido muriático, sal común y amoníaco). Además, los alumnos deberán poseer, conocimientos previos conceptuales sobre ácido-base, equilibrio químico, efecto del ion común y escritura de ecuaciones químicas.

Objetivos

Se pretende que los alumnos: a) relacionen conceptos de Química con el entorno cotidiano a través de la utilización de un recurso natural como materia prima para un proceso industrial adaptado al laboratorio, b) utilicen conocimientos adquiridos en otras materias de sus respectivas carreras y c) adquieran destreza en el manejo del aparato de Kipp, teniendo en cuenta medidas de seguridad.

Desarrollo

La reacción global del proceso Solvay es sencilla:



Sin embargo, el proceso involucra una serie de reacciones en equilibrio que permiten aplicar conocimientos adquiridos en el curso previo de Química General.

En primer lugar, es necesario obtener dióxido de carbono (CO_2) como producto secundario que en la industria se obtiene por calcinación de la piedra caliza. En el trabajo práctico propuesto, se puede generar una corriente continua de gas en un aparato de Kipp (Vasilyeva *et al.* 1974), similar al mostrado en la figura, a partir de caparazones de moluscos y ácido muriático.

Dado que el CO_2 es relativamente poco soluble en agua y se comporta como un ácido débil, la concentración que se alcanza de iones bicarbonato (HCO_3^-) y carbonato (CO_3^{2-}) es insuficiente para precipitar las sales de sodio. Para desplazar el equilibrio hacia la formación del bicarbonato, se hace pasar el CO_2 por una solución de cloruro de sodio saturada con amoníaco (salmuera amoniacal) y se aprovecha la escasa solubilidad del bicarbonato de sodio (NaHCO_3) en el medio de trabajo, de tal forma que el proceso total sea lo más rentable posible. El NaHCO_3 se separa por filtración y el Na_2CO_3 se obtiene por descomposición térmica del bicarbonato.

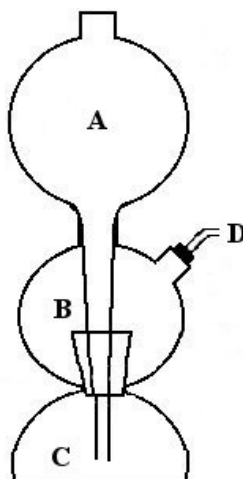


Figura: aparato de Kipp formado por un bulbo superior (A), bulbo central (B) con separador de materia sólida, reservorio de ácido (C) y salida lateral (D).

Actividades

Se propone a los alumnos una salida a la playa con el objetivo de recolectar una cantidad importante de caparazones de bivalvos. Previamente, es conveniente conocer el horario de bajar para lograr una buena recolección y contar con el tiempo suficiente para poder hacerlo tranquilamente.

Los caparazones deben ser lavados cuidadosamente y con abundante agua para eliminar los restos de arena, algas y costras. Se dejan secar y se guardan en un recipiente cerrado hasta su uso. El día del práctico se quiebran las caparazones sin llegar a pulverizarlos.

Se disuelven en frío y con buena agitación 30 g de sal común en 15 ml de agua y 8 ml de NH_3 concentrado. Una vez obtenida la solución, se filtra y se pasa a un erlenmeyer de 125 ml provisto de un tapón con un tubo apenas sumergido en la solución.

Se conecta el aparato de Kipp a un frasco lavador con agua, para retener los vapores de HCl que pudiera arrastrar el CO_2 . Debe efectuarse una última conexión entre el frasco lavador y el erlenmeyer con la salmuera amoniacal, con un trozo de manguera de goma de no menos de 15 cm. Se coloca el ácido muriático en el bulbo inferior del aparato de Kipp (C, en la figura), verificando que la llave de la salida lateral (D) esté abierta. Cuando el ácido llegue cerca del nivel del bulbo central (B) se incorporan los caparazones triturados y luego se coloca el bulbo superior (A). De acuerdo al burbujeo en el frasco lavador, se agregarán caparazones ó más ácido.

Se agita constantemente el erlenmeyer que contiene la salmuera amoniacal, hasta que se observa la formación de abundantes cristales de NaHCO_3 . Se asegura una buena disolución del gas por contacto (con agitación constante) y por presión (lo cual se consigue manteniendo tapado el recipiente de reacción el mayor tiempo posible). El exceso de cloruro de sodio es necesario para disminuir la solubilidad del NaHCO_3 por efecto del ión común.

Luego de aproximadamente media hora de abundante pasaje de gas, filtrar, lavar el filtrado con una salmuera de NaCl y secar los cristales de NaHCO_3 sobre papel de filtro bajo tela metálica con cuidado de no descomponerlos.

Se toma una pequeña cantidad de los cristales y se colocan en un tubo de ensayos provisto de un tubo de desprendimiento sumergido en otro tubo de ensayos con agua de cal. Se calientan los cristales para obtener Na_2CO_3 por descomposición térmica. Terminado el burbujeo, se deja enfriar y se agregan 3 ml de agua a los cristales y gotas de fenolftaleína. Se toma una cantidad similar de cristales de NaHCO_3 , se disuelven en 3 ml de agua y se agrega fenolftaleína. Se observan y comparan los colores obtenidos en ambos tubos.

Durante el desarrollo del práctico, se discute el tema equilibrio químico, considerando los factores que favorecen la formación del precipitado de NaHCO_3 (presión del gas, pH, efecto del ion común).

Los alumnos deben escribir las reacciones de los distintos pasos involucrados en el proceso y las reacciones de reconocimiento de los cristales y de gases desprendidos.

Conclusiones

Esta contribución emplea recursos alternativos accesibles y de bajo costo para la realización de un trabajo práctico de laboratorio, permite a los alumnos: familiarizarse con el uso de un aparato de generación continua de gas, utilizar temas aprendidos en Química General, discutir contenidos de Química Inorgánica (grupo 2, grupo 14, el ciclo del carbono y del calcio) y relacionar con información brindada en otras materias de cada carrera estableciendo vínculos interdisciplinarios que benefician el proceso de enseñanza aprendizaje.

Bibliografía

Beyer L. y Fernández Herrero V. Química Inorgánica. Ariel. Barcelona, 2000.

Cox P. A. The elements on Earth. Inorganic chemistry in the environment. Oxford University Press, Oxford 1995.

Rayner-Canham G.. Química inorgánica descriptiva. 2ª Edición. Pearson Educación, México, 2000.

Vasilyeva Z., Granovskaya A., Makarycheva E., Taperova A. y Fridenberg E. Laboratory experiments in general chemistry. Semimicromethod. Mir Publishers, Moscú, 1974.

LABORATORIO DE QUÍMICA PARA INGENIERÍA INDUSTRIAL. RECURSO DIDÁCTICO

Gladys Machado, Jorge Ripoli y Silvia Pastorino

AEPEQ, Departamento Ciencias Básicas, Facultad Regional La Plata, Universidad Tecnológica Nacional, La Plata (1900), Argentina. e-mail gmachado@frlp.utn.edu.ar

Resumen

En este trabajo se resume la experiencia llevada a cabo con alumnos de primer año del curso de Química General de la carrera de Ingeniería Industrial de la UTN, Facultad Regional La Plata. Se implementan Prácticas de Laboratorio, en determinados contenidos, cuidadosamente seleccionados, sin olvidar el perfil propio de la especialidad y que “la palabra ingeniero está íntimamente ligada desde su origen a la palabra ingenio. De un ingeniero se espera alguien con la competencia para proponer soluciones ingeniosas a problemas relacionados con la manipulación de objetos y magnitudes físicas. Para ello evidentemente necesita capacidad de manipulación de objetos físicos, competencia para realizar mediciones, para montar experiencias y soluciones, validar y evaluar sus resultados.”

Se utiliza esta modalidad como un recurso más para consolidar lo aprendido, en un entorno de cooperación y colaboración entre pares, en un ámbito en el que deberá prestar atención a la seguridad e higiene laboral.

Se lo hace como parte de un proceso de innovación y mejora de la calidad en el método de enseñanza-aprendizaje de la química para los no químicos.

Se sustenta, en nuestra búsqueda por impartir conocimientos significativos, integrando a los estudiantes de otras ingenierías a actividades comunes a un estudiante de ingeniería química, con las respectivas adecuaciones.

Palabras clave: prácticas de laboratorio, enseñanza, aprendizaje.

Abstract

This experience was carried out with 1st year students in Industrial Engineering. Laboratory experiences were developed, which were carefully selected to fulfill the professional profile.

The work promotes cooperation among students, better understanding of theoretical aspects, and improves the teaching-learning quality.

Introducción

Las prácticas de laboratorio ayudan al alumno a:

- manejar los conceptos básicos
- considerar la importancia de la observación directa
- tener destreza en la manipulación de equipos
- analizar y tratar los datos obtenidos
- utilizar el modelo matemático-científico
- explicar la observación realizada

Esto que claramente es el método científico, sin rigurosidad epistemológica, constituye un recurso importante para emplear en el proceso de enseñanza-aprendizaje de la química para estudiantes de otras ingenierías.

A ello se suma la importancia que reviste el hecho, por parte del docente, de encarar las prácticas como investigación de alguna variable, ya que permite al alumno desarrollar metas de aprendizaje cooperativo, aunando criterios, y organizándolos.

Si bien las prácticas de laboratorio están elaboradas con una determinada estructura, preponderando la transmisión de un contenido específico, el aporte pedagógico lo ofrece la experimentación que se constituye en el recurso. Un recurso en el que *“las sesiones de introducción de conceptos, los problemas de lápiz y papel y las prácticas de laboratorio constituyan, como en la labor científica, distintas etapas a las que se recurre de acuerdo a la situación a la que se enfrenta, y debieran exigir un esfuerzo creativo y crítico por parte de los estudiantes, y no reducirse a directivas que impongan sin justificación caminos preestablecidos, inmodificables o incuestionables”* (2).

Acciones

Esta modalidad de realización de prácticas de laboratorio para los no químicos implica:

- Analizar las expectativas de logro,
- Seleccionar contenidos posibles para el laboratorio, respetando el perfil académico
- Realizar las respectivas guías.
- Orientar los alumnos, habiendo planificado con anterioridad las tareas a realizar por los mismos, anticipándose a posibles contingencias, siempre teniendo en claro los objetivos pedagógicos de la actividad desarrollada.
- Incorporar las prácticas como estrategia de evaluación tendiente a observar la evolución en la adquisición de conceptos, ante la visión de los hechos.

Bruner (3), destacó la importancia de que el alumno descubra el conocimiento para que este resulte real y útil.

Expectativas de logro

A través de este recurso, que no es un fin en sí mismo, se espera:

- Favorecer el aprendizaje significativo
- Plantear “...el aprendizaje del método científico y la estructura de la experimentación en la construcción del conocimiento (4) “Poner al alumno en contacto físico con los materiales, elementos e instrumental necesarios para una experiencia en el laboratorio de Química”.
- Promover el trabajo en equipo, respetando la diversidad y aunando criterios.

Metodología

El desarrollo de cada práctica de laboratorio contempla las siguientes etapas:

1. Entrega de la Práctica de Laboratorio

Constará de los contenidos teóricos que fundamentarán el desarrollo de la actividad, y los objetivos de la misma

2. Trabajo en el Laboratorio

Los alumnos trabajando en grupo realizarán la experiencia, respetando la estructura de la guía, pero participando activamente en la toma de decisiones ante eventuales cambios de variables.

3. Redacción de un informe

Finalizada la práctica los alumnos realizarán un informe, en el que constará todo lo realizado en ella, volcarán los resultados analíticos cuantitativos y responderán un cuestionario que dará cimiento al aprendizaje significativo.

4. Devolución de resultados

Se realizará una puesta en común con el objetivo de discutir los distintos criterios de resolución y la comunión de los contenidos teóricos con la experiencia.

Este diseño de actividades no solo permitirá aprendizajes conceptuales sino también la adquisición de procedimientos y de actitudes.

Resultados académicos

Se realizó una comparación de los resultados académicos de los estudiantes a través de una evaluación parcial, entre dos comisiones que diferían en la aplicación de este recurso. Se observó:

- Aprendizaje en el concepto teórico
- Claridad en la transmisión del conocimiento
- Utilización de la experiencia como recurso aplicable a la transmisión

Conclusión

Realizamos prácticas de laboratorio como parte de un proceso de innovación y mejora de la calidad en el método de enseñanza-aprendizaje de la química para los no químicos.

En nuestra búsqueda por impartir conocimientos significativos se integra a los estudiantes de otras ingenierías a las actividades de laboratorio.

Plantear una actividad que pueda desarrollarse como trabajo de laboratorio, favorece el aprendizaje de contenidos conceptuales, procedimentales y actitudinales que tengan injerencia.

Referencias

1. Ingeniería.UTN FRLP (1904-2005)
2. Salinas-Gil Perez, Cudman, 1995 ¿Cómo adecuar las estrategias educativas a los requerimientos de modelos de aprendizaje basados en psicologías constructivistas?. REF IX Salta pp.350-362.
3. Implementación de Software educativo para la realización de prácticas de laboratorio de Química en el Bachillerato de la UAS. Benjamín Cebreros Carrillo-Dr.Ambrocio Mojardín Heraldez (ABRIL-2002).
4. Arese, A. Concari et al. 1991 –El trabajo práctico de laboratorio: un enfoque no estructurado. Memorias Ref. VII. Mendoza.

Bibliografía

Aprender haciendo. Una experiencia de un laboratorio diferente. Mauricio Duque, Alain Gauthier, Alba Cristina Martínez. Facultad de Ingeniería. Departamento de Electrica Universidad de los Andes mduque@uniandes.edu.co, www.research.uniandes.edu.co/contexto/aprender.htm

Coll C.Pozo, J.I.Sarabia, B.Valls, Enric- 1995 Los contenidos en la reforma. Enseñanza y aprendizaje de conceptos, procedimientos y actitudes. Ed.Santillana. S.A. Bs As.

Desarrollo curricular por competencias profesionales integrales. J. Huerta Amézola., I. Perez García y A. R. Castellanos Castellanos www.jalisco.gob.mx/srias/educacion/consulta/educar/13/13_Huerta.html

El trabajo como método pedagógico. Aula, laboratorio y taller como ámbitos de enseñanza mediante el trabajo. www.monografias.com/trabajos5/mepe/mepe.shtml

La formación química en un contexto de competencias laborales. Prácticas de laboratorio. www.monografias.com/trabajos14/quimica-competen/quimica-competen.shtml