

Pruebas Microbiológicas del Filtro de Agua Sawyer All in One

Elaborado para

Sawyer Products

Preparado por

Jeff Erikson, Assistant Professor of Biology and Environmental Science
Janelle Veazey, Laura Ritenour, Holly Ross, Shaun Egolf, Department of
Biological Science

Sarah Robitaille, Elliot Rossomme, Department of Chemistry and
Biochemistry

At



One College Ave Suite 3034
Mechanicsburg PA, 17055
USA



Resumen

El Sawyer All in One Filter fue probado por su capacidad para eliminar tres microorganismos - *Raoultella terrigena*, *Bacillus subtilis* y *Micrococcus luteus* - usando los procedimientos aprobados por la USEPA. Los organismos se añadieron al agua de ensayo para alcanzar una concentración inicial de 10^7 - 10^8 . El agua de ensayo siguió los criterios establecidos por la USEPA 1987, siguiendo las condiciones para "agua de ensayo # 3". Todos los tres filtros probados cumplieron con la reducción objetivo de 6 unidades de registro, o 99,9999% para todas las ejecuciones. El filtro Sawyer All in One cumple con el estándar de USEPA para bacterias.

Tabla 1. Valores medios de remoción de registros (LRV) con error estándar para tres ensayos de filtro replicado Sawyer All in One. Se recogió agua y se analizó microbiológicamente después de pasar 100, 500 y 900 mililitros a través del filtro.

Organism	Passed through filter		
	100	500	900
<i>M. luteus</i>	7.370 (0.300)	7.370 (0.300)	7.170 (0.434)
<i>B. subtilis</i>	7.343 (0.171)	7.113 (0.393)	7.183 (0.324)
<i>R. terrigena</i>	8.178 (0.185)	8.137 (0.232)	8.3374 (0.0488)

Introducción

La filtración es "un proceso de separación accionado por presión o vacío en el que una materia particulada mayor de 1 μm es rechazada por una barrera diseñada principalmente a través de un mecanismo de exclusión de tamaño y que tiene una eficacia de eliminación medible de un organismo objetivo que se puede verificar mediante la aplicación de Una prueba de integridad directa "(40 CFR 141.2). Los filtros Sawyer se sometieron a pruebas de desafío con microorganismos específicos para determinar si el filtro actuó como una barrera. Se siguieron los procedimientos aprobados por la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (USEPA).

Un mínimo de tres filtros Sawyer All in One se probaron por triplicado. **Los filtros se acondicionaron con una solución de cloro al 5% y agua de ensayo estéril a 20 psi.** El microorganismo de desafío (Tabla 2) se mezcló con agua de ensayo para obtener una concentración de 10⁷ células / 100 ml y se forzó a través de los filtros Sawyer a 10 psi. Se recogieron 100 ml de filtrado en un baño de giro estéril después de que 100, 500 y 900 mililitros pasaron a través del filtro Sawyer All in One y se analizaron para el crecimiento microbiano utilizando la técnica de filtración por membrana siguiendo los métodos estándar 9222. (APHA et al., 2012).

Se utilizaron organismos suplentes de tamaño similar, aprobados por la USEPA, en lugar de los organismos patógenos objetivo para evitar riesgos innecesarios para la seguridad.

Tabla 2. Organismos de prueba de desafío y sustitutos aprobados por la USEPA (USEPA, 2005 y NSF 2005)

Target Organism	Surrogate	Size range (μm)
Fecal Coliform (bacteria)	<i>Raoultella terrigena</i> (ATCC 33628)	2-4
<i>Cryptosporidium</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	5-7
<i>Giardia</i>	<i>Micrococcus luteus</i>	10-12

En la Guía de la USEPA, Norma y Protocolo para Ensayos de Purificadores Microbiológicos de Agua (1987), se establece una reducción mínima para los parásitos protozoarios de las unidades log 3 y un mínimo de 6 unidades log para las bacterias. Todas las reducciones de registro dirigidas para sustitutos se fijaron en unidades de 6 log, o reducción de 99,9999%.

Métodos

Los cultivos de reserva se marcaron en cuadrante sobre placas de agar de soja Trypticase (TSA) y se incubaron a 32°C durante 24 horas. Se seleccionó un cultivo puro de la placa. El cultivo puro se inoculó en un matraz de 250 ml que contenía 100 ml de caldo de soja Trypticase (TSB). El matraz se colocó en un agitador multiplataforma y se incubó a 32 ° C durante una noche para hacer crecer las células a fase estacionaria. Las células se contaron usando una cámara de recuento de Petroff-Hauser. El agua de ensayo se inoculó para obtener una densidad final en el intervalo de 10^7 - 10^8 células / 100 ml.

Agua de Prueba y soluciones:

Agua de Prueba: El agua utilizada para las pruebas se obtuvo de Yellow Breeches Creek, que es la fuente de agua potable municipal en los condados de Cumberland y York en Pennsylvania. El agua se recogió en una garrafa de 20L y se sometió a autoclave a 121 ° C (15 libras de presión) durante 35 minutos para obtener agua de ensayo estéril. 1 L del agua de ensayo se ajustó asépticamente para las siguientes condiciones para "agua de ensayo # 3" (USEPA 1987).

- pH ajustado a 9 usando HCl o NaOH, SM 4500 - H⁺B
- Mínimo de carbono orgánico total de 10 mg/L ajustado con ácido húmico, SM 5310 C
- Turbidez 30 NTU (Unidad de Turbiedad Nefelométrica) o mayor, ajustada con caolín o polvo de Calles de Arizona, SM 2130B / Método 2
- El total de sólidos disueltos fue de 1.500 mg/L \pm 150 mg/L, medidor TDS ensayado
- La temperatura del agua de ensayo se enfrió a 4°C \pm 1°C, SM 2550 B

Se siguieron los métodos estándar (APHA et al., 2012) para asegurar las condiciones del agua de ensayo.

Se dispusieron 1,1L de agua de ensayo de desafío en botellas de vacío de 2L (Nalgene) y se sometieron a autoclave a 121°C (15 lb de presión) durante 30 minutos. El pH final fue 9,0 \pm 0,2, turbidez 100 NTU, TOC 15,5 mg/L y TDS 1400 mg/L. Las botellas de agua de prueba de desafío se colocaron en un refrigerador para alcanzar una temperatura de 4°C antes de la prueba.

Caldo de Soya Trypticase (TSB) (sistemas de diagnóstico BD)

En 1 L de agua destilada de grado reactivo, se disolvieron 30g de TSB deshidratada. El medio se dispensó luego en tubos de cultivo y matraces de 250ml, se cubrió con tapones / aluminio y se sometió a autoclave a 121°C (15 lb de presión) durante 15 minutos.

Trypticase Soya Agar (TSA) (sistemas de diagnóstico BD)

A 1L de agua destilada de grado reactivo, se disolvieron 40g de TSA deshidratada en un matraz y se calentó hasta ebullición con agitación hasta que los ingredientes se disolvieron. El medio se autoclave entonces a 121°C (15 lb de presión) durante 15 minutos y se enfrió en un baño de agua a 50°C. El agar se vertió luego asépticamente en placas de Petri de 50x9 mm a una profundidad de 4-5 mm (7 ml) y se dejó solidificar. Las placas se pueden almacenar hasta dos semanas en el refrigerador.

Preparación del Agua para Prueba Bacteriana

Los cultivos saturados de cada cepa bacteriana se prepararon inoculando 10mL de TSB con los organismos de ensayo y se incubaron en un rolodrum durante la noche a 32°C. Al día siguiente se contaron los cultivos usando una cámara de recuento de Petroff Hausser y se diluyeron apropiadamente de manera que la concentración final de bacterias en la muestra de ensayo de 1,1L fue $1 \times 10^7 - 10^8$ células/L.

Dispositivo de presurización

Todos los tubos, botellas, tapas y cristalería se lavaron y se sometieron a autoclave antes de cada ensayo. **El acondicionamiento inicial del filtro Sawyer All in One se consiguió pasando 1 L de solución de blanqueador al 5% seguida de 2 L de agua de ensayo (sin organismos) a través del filtro a 20 psi (figura 1).** El último litro de agua de ensayo se recogió como controles negativos a 100, 500 y 900 mililitros en picos de giro estériles. El agua de ensayo de desafío (con organismos) se forzó a través del filtro Sawyer All in One a 10 psi. La recolección de filtrado se realizó a 100, 500 y 900 mililitros en picos de giro estériles.



Figura 1. Dispositivo de presurización para forzar el agua de prueba a través del filtro Sawyer.

Análisis Microbiológico

Se siguieron los métodos estándar 9222 (APHA et al., 2012), se abrevió la siguiente descripción. Agitar vigorosamente la muestra de 100ml. Verter 100ml de muestra en el embudo y aplicar el vacío. Filtrar la muestra y enjuagar las paredes del embudo tres veces con 20-30 ml de agua destilada estéril desionizada. Apague la máquina de vacío y levante la parte superior del embudo. Usando fórceps estériles, transfiera el filtro a la placa petri preparada. Con un ligero movimiento de balanceo, coloque el lado de la rejilla del filtro sobre la superficie del agar. Asegúrese de que el filtro toque toda la superficie del agar. Incubar a $35 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ durante 48 horas, contar las colonias a las 24 y 48 horas.

Los recuentos iniciales de semillas se confirmaron mediante dilución en serie, utilizando 99ml de destilados estériles de agua destilada en blanco. La dilución final para el chapado fue 10^{-6} y 10^{-7} .

Cálculos:

Unidades formadoras de colonias (ufc)

$\text{Cfu}/100\text{ml} = 100 \times (\text{número de colonias}) / \text{volumen de la muestra filtrada}$
en el valor de eliminación de la muestra de mL (LRV), el objetivo es la reducción de la unidad de 6 log.

$$\text{LRV} = \log(C_f) - \log(C_p)$$

C_f = concentración de alimentación
(cfu / 100ml)

C_p = concentración de filtrado (cfu /
100ml)

Resultados

Todos los ensayos tuvieron resultados comparables de cero o de ufc mínimo/100 mL (Tabla 3). Todos los ensayos alcanzaron reducción de 6 unidades logarítmicas o superior. (Tabla 4)

Tabla 3. Ensayos de prueba de filtración de desafío en el Sawyer All in One HFM. El filtrado recogido a 100, 500 y 900 mililitros se sometió a filtración microbiológica por membrana, los valores se expresan como unidades formadoras de colonias por 100 mililitros (cfu/ 00 ml).

Trial	Organism	Initial seed	100	500	900
1	<i>M. luteus</i>	9.3×10^7	0	0	0
	<i>B. subtilis</i>	4.17×10^7	0	0	0
	<i>K. terrigena</i>	2.72×10^8	0	0	0
2	<i>M. luteus</i>	1.2×10^7	0	0	4
	<i>B. subtilis</i>	2.4×10^7	0	0	1
	<i>K. terrigena</i>	1.98×10^8	3	0	0
3	<i>M. luteus</i>	1.15×10^7	1	0	0
	<i>B. subtilis</i>	1.09×10^7	1	5	3
	<i>K. terrigena</i>	1.91×10^8	0	4	0

Tabla 4. Valores de eliminación de registros (LRV) en los ensayos de prueba Sawyer All in One HFM. 6 log unidad de reducción o mayor era el rango objetivo.

Trial	Organism	100	500	900
1	<i>M. luteus</i>	7.97	7.97	7.97
	<i>B. subtilis</i>	7.62	7.62	7.62
	<i>K. terrigena</i>	8.43	8.43	8.43
2	<i>M. luteus</i>	7.08	7.08	6.48
	<i>B. subtilis</i>	7.38	7.38	7.38
	<i>K. terrigena</i>	7.82	8.30	8.30
3	<i>M. luteus</i>	7.06	7.06	7.06
	<i>B. subtilis</i>	7.03	6.34	6.55
	<i>K. terrigena</i>	8.28	7.68	8.28

Se realizó un lavado posterior para demostrar la eficacia del filtro que actúa como barrera. El lavado posterior mostró una recuperación de las bacterias que coinciden con los niveles iniciales. La reducción de dos logs observada después de los primeros 100 mL de agua que pasó a través del filtro indica que la gran mayoría de las bacterias se recuperó dentro de los primeros 100 mL (Tabla 5). Esta prueba de retrolavado demostró que el Sawyer All in One HFM realmente es una barrera.

Tabla 5. Pruebas de recuperación de la prueba de recuperación en el Sawyer All in One HFM. El filtrado recogido a 100, 500 y 900 mililitros se sometió a filtración microbiológica por membrana; Los valores se expresan como unidades formadoras de colonias por 100 mililitros (cfu/ 00 ml).

Trial	Initial	Retro Lavado		
		100	500	900
1	4.1×10^8	1.6×10^8	8.6×10^6	3.1×10^6
2	2.3×10^8	2.0×10^7	7.7×10^6	1.2×10^6
3	2.1×10^8	3.0×10^7	6.8×10^6	1.4×10^6

Discusión

Los tres filtros All in One analizados mostraron una reducción de 6 veces o más de los organismos de prueba, indicando que los filtros eliminan con éxito los organismos del agua de desafío. Si los organismos sustitutos, *M. luteus* y *B. subtilis*, se mantuvieron con el estándar de EPA para *Giardia* y *Cryptosporidium*, respectivamente, entonces sólo se necesitaría una reducción de 3 log. Por lo tanto, el filtro habría cumplido con el estándar EPA para bacterias y protozoos. Estas pruebas muestran que el filtro Sawyer All in One cumple con el estándar de USEPA para la eliminación de bacterias

Referencias

American Public Health Association (APHA), American Water Works Association (AWWA), and Water Environment Federation (WEF) 2012. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 22nd ed. American Water Works Association.

Federal Register 2012. National Primary Drinking Water Standards. 40 CFR 141.2

NSF International. 2005. EPA/NSF ETV Equipment Verification Testing Plan for the Removal of Microbiological and Particulate Contaminants by Membrane filtration. Ann Arbor, MI.

USEPA 1987. Guidance Manual for Compliance with the Filtration and Disinfection Requirements for Public Water Systems Using Surface Water Sources Appendix O: Guide Standards and Protocol for Testing Microbiological Water Purifiers. Contract No. 68-01-6989 U. S. Environmental Protection Agency, Office of Water and Office of Research and Development, Washington, DC.

USEPA 2005. Membrane Filtration Guidance Manual. EPA 815-R-06-009 U. S. Environmental Protection Agency, Office of Water and Office of Research and Development, Washington, DC.