



Regional Distrito Capital
Sistema de Gestión de la Calidad

PRÁCTICA DE LABORATORIO
ALISTAMIENTO Y ESTERILIZACIÓN DE MATERIALES PARA EL MUESTREO DE AGUA
PARA ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

CÓDIGO:
Versión 01

Centro de Gestión Industrial
Mayo 2020

 <p>Sistema de Gestión de la Calidad</p>	<p>SUPERVISIÓN DE LA RECOLECCIÓN DE MUESTRAS DE AGUAS.</p> <p>Regional Distrito Capital Centro de Gestión Industrial</p>	<p>Fecha: Mayo 2020</p> <p>Versión: 01</p> <p>Página 2 de 4</p>
---	--	---

1. OBJETIVOS

1.1 *Objetivo general*

- Realizar el aislamiento y esterilización de materiales de muestreo para el análisis microbiológico del agua.

1.2 *Objetivos específicos*

- Preparar una solución de tiosulfato de sodio de acuerdo con la cantidad y tipo de muestras de agua a recolectar.
- Alistar los frascos de acuerdo con la información del plan de muestreo.
- Esterilizar los frascos de acuerdo con el método de esterilización por calor húmedo.
- Verificar la esterilidad de los frascos esterilizados de acuerdo con recomendaciones de la normatividad.

2. FUNDAMENTO TEÓRICO

Los recipientes de muestreo para el análisis microbiológico del agua son uno de los elementos que se deben alistar con antelación debido a que estos deben ser estériles y adicionalmente deben contener el preservante para asegurar la calidad de la muestra.


En el caso del muestreo de aguas con residuos de cloro o componentes halogenados se debe adicionar un agente neutralizador para inhibir el efecto bactericida de estos componentes. El tiosulfato de sodio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) es el agente neutralizador comúnmente usado para preservar los microorganismos presentes en el agua a muestrear.

Otra forma de preservar las muestras para el análisis microbiológico es la utilización de recipientes estériles es decir que han sido sometidos a un tratamiento para eliminar los microorganismos presentes en los recipientes, de esta manera no se alteraran los resultados.

La esterilización consiste en esterilizar cualquier forma de vida, incluyendo las esporas producidas por microorganismos resistentes a altas temperaturas. Existen métodos físicos y químicos para esterilización. Para esterilizar los materiales que van a estar en contacto con las muestras de agua se deben utilizar métodos físicos, dentro de estos los más empleados son la esterilización por calor húmedo en autoclave a 121°C , 1 atm y 15 minutos o esterilización por calor seco en horno. A 160°C por 2 horas.

En este laboratorio se realizarán los procedimientos para la elaboración de la solución de tiosulfato de sodio y para la esterilización de materiales.

3. MATERIALES

 Sistema de Gestión de la Calidad	<p align="center">SUPERVISIÓN DE LA RECOLECCIÓN DE MUESTRAS DE AGUAS.</p> <p align="center">Regional Distrito Capital Centro de Gestión Industrial</p>	<p align="right">Fecha: Mayo 2020</p> <p align="right">Versión: 01</p> <p align="right">Página 3 de 4</p>
---	---	---

- Frascos Taparosca (Schot o pyrex) de 250 mL (el número de frascos corresponderá al numero demuestras a recolectar, ver plan de muestreo)
- 1 Beaker de 10 mL
- Pipeta graduada de 1 mL
- 1 Vidrio reloj
- 1 Agitador de vidrio
- Papel Kraft
- Caldo nutritivo esteril

3.4 Material del aprendiz

- Rotulo para recipiente de muestra: El rotulo debe estar impreso y debe contener un espacio para identificar la fecha de esterilización, responsable de la esterilización, preservante utilizado y concentración.
- 40 cm de pita
- Programa de muestreo
- Bata, cofia, tapabocas, guantes, monogafas, marcador de vidrio, cinta de enmascarar, tijeras, toallas de papel, , encendedor o fósforos, jabón de manos.

4. METODOLOGÍA

4.1 Lavado de los recipientes para muestreo

- Lave los frascos taparosca de 250 mL necesarios para hacer la recolección de muestras (ver plan de muestreo)
- Lave los frascos con jabon neutro y juague al menos cinco veces con agua corriente
- Realice un ultimo enjuague de los frascos con agua destilada
- Ponga a escurrir los frascos sobre papel absorbente hasta que el interior quede total mente seco.
-

4.2 Preparación de Tiosulfato de Sodio

- Determine la concentración de tiosulfato de sodio a preparar teniendo en cuenta el tipo de agua a muestrear:
Si va a tomar muestras de agua para consumo humano prepare una solución de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ al 3%
Para muestras de agua con mayor contenido de cloro residual prepare una solución de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ al 10 % (aguas de piscina)
- Realice los calculos correspondientes para preparar 10 mL teniendo en cuenta la siguiente tabla
-

Forma de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$	Concentración de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (%)	Peso
Anhidro $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$	3	3 g/100 mL
	10	10 g/100 mL

Pentahidratado (Na ₂ S ₂ O ₃) 5. H ₂ O	3	4.6 g/100 mL
	10	15.21 g/100 mL

- Pese en el vidrio de reloj los gramos de Na₂S₂O₃ a utilizar.
- Adicione el Na₂S₂O₃ en el beaker y mezcle con agua destilada hasta completar el volumen final (10 mL)
- Rotule el beaker y deje la solución en un lugar seguro mientras se usa.

4.3 Alistamiento y esterilización de los recipientes para muestreo

- Tome los frascos tapa rosca previamente lavados y secos y adicione en cada frasco 0.2 mL de la solución de Na₂S₂O₃ preparada previamente.
- Tape el frasco, dje el frasco semiflojo es decir no lo aprete completamente.
- Rotule el frasco(use el rotulo que usted imprimio previamente) escriba la fecha y registre la adición del tiosulfato de sodio.
- Cubra la tapa y cuello del frasco con un trozo de papel kraft (15 x15 cm aproximadamente).
- Fije el papel kraft al cuello del frasco con una pita de aproximadamente 15 cm.
- Lleve los frascos al autoclave y esterilice los a 121°C, 1atmosfera de presión y 15 minutos.

4.4 Verificación de la esterilidad de los frascos

- Tome uno de los frascos esterilizados previamente y bajo cabina de flujo laminar, adicioneles 25 mL aproximadamente de caldo nutritivo.
- Cierre totalmente los frascos y llevelos a la incubadora a 37 °C por 48 horas.
- Pasadas 48 horas de incubación verifique la turbidez del medio. Si el medio no esta turbio puede confiar en la esterilidad de los frascos.

5. BIBLIOGRAFÍA

NTC- ISO 6151(2015). Calidad del agua. Muestreo para análisis microbiológico.
<https://e-collection-icontec-org.bdigital.sena.edu.co/pdfview/viewer.aspx?locale=en&Q=37754E131723650229F877662801AA6D&Req=>

9060 SAMPLES(2017). Standard Methods For the Examination of Water and Wastewater, 23rd. <https://doi.org/10.2105/SMWW.2882.184>