



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS**  
**ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

**“ESTUDIO MICROBIOLÓGICO DE LAS AGUAS EMBOTELLADAS  
QUE SE EXPENDEN EN LA CIUDAD DE RIOBAMBA”**

Trabajo de titulación presentado para optar al grado académico de:

**BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA**

**AUTORA: SANDY EVELIN ARTEAGA MOROCHO**

**TUTORA: DRA. SANDRA ESCOBAR**

Riobamba-Ecuador

2016

**©2016,Sandy Evelin Arteaga Morocho**

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el derecho de autor.

**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS**  
**ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

El Tribunal de Trabajo de Titulación certifica que: El Proyecto de Investigación: ESTUDIO MICROBIOLÓGICO DE LAS AGUAS EMBOTELLADAS QUE SE EXPENDEN EN LA CIUDAD DE RIOBAMBA, de responsabilidad de la señorita Sandy Evelin Arteaga Morocho, ha sido minuciosamente revisado por los miembros del Tribunal de Trabajo de Titulación, quedando autorizada su presentación.

**FIRMA**

**FECHA**

Dra. Sandra Noemí Escobar Arrieta

**DIRECTORA**

**TRABAJO DE TITULACIÓN**

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Dra. Ana Karina Albuja Landi

**MIEMBRO DEL TRIBUNAL**

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Yo, Sandy Evelin Arteaga Morocho, declaro que el presente trabajo de titulación es de mi autoría y que los resultados del mismo son auténticos y originales. Los textos constantes en el documento que provienen de otra fuente están debidamente citados y referenciados.

Como Autora, asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este trabajo de titulación.

Riobamba, 15 de Octubre del 2016

**SANDY EVELIN ARTEAGA MOROCHO**

**C.I. 060394524-7**

## AGRADECIMIENTO

Primeramente quiero agradecer a Dios por darme la vida, la oportunidad y la fuerza de seguir adelante. A mis dos mamás Yolanda e Inés, quienes han sido el pilar fundamental en mi vida, ya que sin ellas nada hubiese sido posible, gracias a su apoyo incondicional, sus consejos, y su amor que me han brindado, he logrado culminar una meta más en mi vida , siempre han estado junto a mi velando mis sueños, me han confortado con su ternura para considerarme una héroe en este largo caminar, pues he disfrutado de las cosas bonitas y me he fortalecido para luchar en los momentos difíciles que he tenido que atravesar. A mis hermanas Tania, Estefanía y Lorena, como también a mis primos Mary y Raúl, quienes me han inculcado grandes valores, y siempre han estado pendientes de mí, consagrándome su cariño, e impulsándome para continuar en el largo trajinar de la vida. A mi novio Diego, quien ha sido mi motor para continuar y nunca darme por vencida, eres la bendición más hermosa que Dios pudo poner en mi camino, llegaste a darle una luz a mi vida. A mi mejor amiga durante mi transcurso en la universidad la Doctora Janet Jara, mi maestra, mi confidente siempre la tendré en mi corazón que Dios la bendiga. A mi Tutora la Doctora Sandra Escobar, quién me ha dedicado su valioso tiempo transmitiendo sus conocimientos para poder culminar con mi trabajo de Grado. A mi colaboradora la Doctora Anita Albuja que Dios la bendiga por su paciencia y dedicación hacia mi persona.

## **DEDICATORIA**

Mi trabajo final de Grado quiero dedicarle a la persona más importante de mi vida mi Madre Yolanda, que Dios le bendiga por el sacrificio grande que ha hecho por mí, gracias a su perseverancia he logrado salir adelante venciendo todos los obstáculos que se han presentado en el trayecto de mi diario vivir .A mis dos adorables sobrinos Vicky y Eduardito, son la alegría más grande de mi vida, gracias por amarme tanto, así como yo los amo. A mi abuelito querido Pascual, ha sido más que un padre para mí, que Dios le conceda muchos años más de vida

## TABLA DE CONTENIDOS

<b>RESUMEN</b> .....	xvi
<b>SUMMARY</b> .....	xvii
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>OBJETIVOS</b> .....	4
 <b>CAPÍTULO I</b>	
<b>1. MARCO TEÓRICO</b> .....	5
<b>1.1. Antecedentes de la Investigación</b> .....	5
<b>1.2. Bases Teóricas</b> .....	7
<b>1.2.1. Agua potable</b> .....	7
<b>1.2.1.1. Características del agua potable</b> .....	7
<b>1.2.1.2. Estándares para Agua Potable</b> .....	9
<b>1.2.1.3. Sistema de Potabilización del agua</b> .....	11
<b>1.2.2. Agua purificada embotellada</b> .....	16
<b>1.2.2.1. Tipos de agua embotellada</b> .....	17
<b>1.2.2.2. Diferentes tratamientos de purificación de agua embotellada</b> .....	19
<b>1.2.2.3. Requisitos Físicos y Microbiológicos de las aguas embotelladas</b> .....	21
<b>1.2.2.4. Límites para sustancias químicas y radiológicas en aguas embotelladas</b> .....	21
<b>1.2.2.5. Características de las Aguas Embotelladas</b> .....	22

1.2.2.6.	<i>Regulaciones del agua embotellada</i> .....	22
1.2.2.7.	<i>Bacterias presentes en las aguas embotelladas</i> .....	23
1.2.3.	<b><i>Factores de contaminación del agua</i></b> .....	25
1.2.3.1.	<i>Enfermedades transmitidas por el agua</i> .....	27
1.2.4.	<b><i>Procedimientos para la producción de aguas embotelladas</i></b> .....	31
1.2.4.1.	<i>Requisitos sanitarios de las plantas y proceso de las envasadoras de agua</i> .....	34
1.2.5.	<b><i>Distribuidoras y comercializadoras de aguas purificadas en la Ciudad de Riobamba</i></b> .....	35
1.2.5.1.	<i>Agualuz</i> .....	35
1.2.5.2.	<i>Water Live</i> .....	36
1.2.5.3.	<i>Aquazul</i> .....	36
1.2.5.4.	<i>Bbwater Agua</i> .....	37
1.2.5.5.	<i>Agua Chimborazo</i> .....	37

## **CAPÍTULO II**

2.	<b>MARCO METODOLÓGICO</b> .....	38
2.1.	<b>Lugar de Investigación</b> .....	38
2.2.	<b>Unidad de Análisis</b> .....	38
2.3.	<b>Población de Estudio</b> .....	38
2.3.1.	<b><i>Tamaño de la Muestra</i></b> .....	39
2.4.	<b>Flujograma de Trabajo</b> .....	41
2.5.	<b>Codificación e Identificación de las Muestras</b> .....	42

2.5.1.	<i>Registro de las Muestras</i> .....	42
2.6.	<b>Análisis de Muestras</b> .....	45
2.6.1.	<i>Análisis Microbiológico</i> .....	45
2.6.1.1.	<i>Determinación de Coliformes totales y fecales por el método placas Petrifilm TM</i> .....	45
2.6.1.2.	<i>Determinación de Aerobios Mesófilos por el método placas Petrifilm 3M<sup>TM</sup></i> .....	48
2.6.2.	<i>Cuantificación de los microorganismos Aerobios Mesófilos</i> .....	49
2.6.3.	<i>Aislamiento y purificación de las colonias de bacterias Aerobios Mesófilos</i> .....	50
2.6.4.	<i>Caracterización Microscópica</i> .....	50
2.6.5.	<i>Tinción Gram</i> .....	51
2.7.	<b>Determinación de microorganismos Coliformes Totales y Fecales por la Técnica del Número más probable (NMP).</b> .....	53
2.7.1.	<i>Caldo Verde Bilis Brillante</i> .....	54

### CAPITULO III

3.	<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	56
3.1.	<b>Estudio Microbiológico de las Aguas embotelladas que se expenden en la ciudad de Riobamba</b> .....	56
3.2.	<b>Análisis del parámetro Coliformes Totales/Fecales en las muestras de Aguas Embotelladas</b> .....	57
3.3.	<b>Cuantificación de los microorganismos Aerobios Mesófilos presentes en las muestras del agua embotellada.</b> .....	58
3.4.	<b>Aislamiento, purificación e Identificación Microscópica de las colonias de los microorganismos Aerobios Mesófilos presentes en las Aguas Embotelladas que se expenden en la ciudad de Riobamba.</b> .....	66

<b>CONCLUSIONES</b> .....	70
<b>RECOMENDACIONES</b> .....	72

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1-1:</b> Requisitos físicos químicos para agua potable.....	9
<b>Tabla 2-1:</b> Sustancias orgánicas para agua potable.....	9
<b>Tabla 3-1:</b> Plaguicidas para el agua potable.....	10
<b>Tabla 4-1:</b> Requisitos microbiológicos para el agua potable.....	10
<b>Tabla 5-1:</b> Requisitos físicos del agua purificada envasado.....	19
<b>Tabla 6-1:</b> Requisitos microbiológicos para muestra unitaria o de anaquel.....	19
<b>Tabla 7-1:</b> Patógenos y enfermedades de origen hídrico.....	28
<b>Tabla 1-2:</b> Fecha de los muestreos realizados.....	35
<b>Tabla 2-2:</b> Muestreos de las diferentes marcas de agua embotellada.....	36
<b>Tabla 3-2:</b> Codificación, identificación y registro de las marcas.....	39
<b>Tabla 4-2:</b> Índice del NMP de bacterias cuando se utiliza 3 alícuotas de 1cm <sup>3</sup> .....	49
<b>Tabla 5-2:</b> Fórmula de caldo verde bilis brillante.....	50
<b>Tabla1-3:</b> Cuantificación de Coliformes Totales y Fecales en las aguas Embotelladas analizadas.....	52
<b>Tabla 2-3:</b> Valores obtenidos de las pruebas microbiológicas en el primer muestreo para Aerobios Mesófilos (petrifilm UFC/mL).....	53
<b>Tabla 3-3:</b> Valores obtenidos de las pruebas microbiológicas en el segundo muestreo para Aerobios Mesófilos (petrifilm UFC/mL).....	55
<b>Tabla 4-3:</b> Valores obtenidos de las pruebas microbiológicas en el tercer muestreo para Aerobios Mésófilos (petrifilm UFC/mL).....	56
<b>Tabla5-3:</b> Resumen de los promedios totales en los análisis de los tres muestreos de aguas embotelladas con presencia de microorganismos Aerobios Mesófilos.....	58

**Tabla6-3:** Identificación microscópica de diferenciación por tinción GRAM de colonias

bacterianas aisladas en aguas purificadas embotelladas que se expenden en la

cuidad de Riobamba.....62

## INDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1-1:</b> Sistema de tratamiento del agua potable.....	15
<b>Figura 2-1:</b> Procedimientos para la obtención de aguas embotelladas.....	30
<b>Figura 1-2:</b> Metodología para el análisis microbiológico de las aguas embotelladas expendidas en la ciudad de Riobamba.....	37
<b>Figura 2-2:</b> Procedimiento para análisis de Coliformes Totales y Fecales.....	42
<b>Figura 3-2:</b> Procedimientos para análisis de Aerobios Mesófilos.....	44
<b>Figura 4-2:</b> Bacilos GRAM positivos.....	46
<b>Figura 5-2:</b> Bacilos GRAM negativos.....	46
<b>Figura 6-2:</b> Bacilos GRAM positivos.....	46
<b>Figura 7-2:</b> Cocos GRAM negativos.....	46
<b>Figura 8-2:</b> Técnica de coloración tinción GRAM.....	47

## INDICE DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 1-3:</b> Promedios y porcentajes de crecimiento bacteriano Aerobios Mesófilos en el primer muestreo de agua embotellada que se expenden en la ciudad de Riobamba.....	54
<b>Gráfico 2-3:</b> Promedios y porcentajes de crecimiento bacteriano en el segundo muestreo de aguas embotelladas que se expenden en la ciudad de Riobamba.....	55
<b>Gráfico 3-3:</b> Promedios y porcentajes de crecimiento bacteriano en el tercer muestreo de agua....	57
<b>Gráfico 4-3:</b> Resultados promedios de crecimiento en los tres muestreos de aguas embotelladas para Aerobios Mesófilos.....	58
<b>Gráfico 5-3:</b> Porcentajes obtenidos de ausencia o presencia de microorganismos Aerobios Mesófilos en las treinta muestras de aguas embotelladas analizadas.....	60
<b>Gráfico 6-3:</b> porcentajes de bacterias aisladas según la tinción GRAM en aguas embotelladas que se expenden en la ciudad de Riobamba.....	62

## **INDICE DE ANEXOS**

**Anexos A:** Norma NTE INEN 2200:2008 Agua Purificada Envasada Requisitos

**Anexos B:** Muestras de agua embotellada para el análisis microbiológico

**Anexos C:** Siembra de Aerobios Mesófilos 3M petrifilm

**Anexos D:** Siembra de Coliformes Totales y Fecales 3M petrifilm

**Anexos E:** Recuento de Coliformes Totales y Fecales

**Anexos F:** Recuento de Aerobios Mésofilos

**Anexos G:** Aislamiento y siembra de las colonias Aerobios Mesófilo en agua Mueller Hinton

**Anexos H:** Tinción GRAM de las colonias aisladas de microorganismos Aerobios Mesófilos

**Anexos I:** Morfología microscópica de las bacterias cocos y bacilos GRAM positivos

**Anexos J:** Siembra de Coliformes Totales y Fecales por la técnica de NMP

**Anexos K:** NPM Index and 95% confidence limits for various combinations of positive results when five tubes are used per dilution (10mL, 1.0mL,0,1mL)

## RESUMEN

El objetivo de la investigación fue la evaluación de la calidad microbiológica de 10 marcas de aguas embotelladas, expendidas en el cantón Riobamba, provincia de Chimborazo, de acuerdo a la Norma NTE INEN 2 200:2008. Se seleccionaron 10 marcas comerciales de aguas al azar, obtenidas en los distintos supermercados más representativos de la ciudad, en el periodo comprendido del 22 de Abril al 3 de Junio del 2016. El estudio microbiológico se realizó mediante el método Número más Probable (NMP) y 3M Petrifil; los parámetros analizados fueron Coliformes Totales, Coliformes Fecales y Aerobios Mesófilos. Los resultados indicaron que el 30% de las marcas analizadas presentaron Aerobios Mesófilos, manifestando que pese a la presencia de estos microorganismos sus valores no excedieron los parámetros establecidos en la Norma. Respecto a coliformes fecales y totales indicaron que el 100% de las marcas analizadas cumplen con los parámetros establecidos, tanto la Técnica de NMP como la Técnica 3M Petrifilm arrojaron resultados de 0 UFC/mL y 0 NMP/mL para las 10 marcas de aguas embotelladas. Mientras que para aerobios Mesófilos por la Técnica 3M Petrifilm se obtuvo un crecimiento en el agua T1 de (2UFC/mL), T3 (60UFC/mL), y T10 (13UFC/mL), siendo el valor límite máximo  $1,0 \times 10^2$  UFC/mL. El estudio indica que las 10 marcas de agua embotellada analizadas si cumplen con las especificaciones sanitarias en lo referente a coliformes fecales y totales, mientras que los Aerobios Mesófilos a pesar de no exceder el límite pudiesen resultar perjudiciales para la salud. Se recomienda una evaluación, inspección y vigilancia sanitaria continua por parte de los organismos reguladores como el Departamento de Agencia Nacional de Regulación, Control y Vigilancia Sanitaria (ARCSA), cuya responsabilidad es proporcionar los registros sanitarios, evaluando posteriormente si se está cumpliendo con los parámetros de calidad que el producto lo requiere.

**Palabras Clave:** <TECNOLOGÍA Y CIENCIAS DE LA INGENIERÍA>, <BIOQUÍMICA>, <AGUA EMBOTELLADA>, <ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO>, <UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS (UFC)>, <TÉCNICA DEL NÚMERO MÁS PROBABLE (TNMP)>, <3 M PETRIFILM>, <RIOBAMBA (CANTÓN)>.

## SUMMARY

The objective of the present research work was the evaluation of the microbiological quality of 10 brands of bottled water sold in Riobamba city, Chimborazo province; in concordance with the Regulation NTE INEN 2200:2008.10 commercial brands of bottled water were chosen at random, those were gotten in some of the most important markets in the city, during the period from April 22 to June 3, 2016. The microbiological study was done through the Most Probable Number (MPN) and 3M Petrifilm methods; the analyzed parameters were: total coliforms, fecal coliforms and aerobic mesophilic. The results showed that the 30% of the analyzed brands had aerobic mesophilic, but it is necessary to emphasize that the amount of those bacteria do not exceed the set parameters in the INEN Regulation. Regarding the total and fecal coliforms, it was showed that the 100% of the analyzed brands fulfill the set parameters; the MPN Techniques as well as the 3M Techniques showed the results of 0 CFU/mL and 0 MNP/mL for the 10 brands of bottled water. Meanwhile, for the aerobic mesophilic analyzed through the 3 M Petrifilm Technique it was showed the increase in the T1 water of (2CFU/mL), T3 (60CFU/mL), y T10 (13CFU/mL), being the maximum value  $1,0 \times 10^2$  CFU/mL. The study indicated that the 10 analyzed brands of bottled water fulfill with the sanitary specifications regarding fecal and total coliforms, but the aerobic mesophilic may be prejudicial for human health even though they do not exceed the established limits. It is recommended a continuous sanitary evaluation, inspection and monitoring from the regulatory agencies as the “Departamento de Agencia Nacional de Regualción, Control y Vigilancia (ARCSA)” which responsibility is to provide the health registration and to evaluate after to verify if the quality parameters required according to the products are being fulfilled.

**Keywords:** < TECHNOLOGY AND ENGINEERING SCIENCES>, < BIOCHEMISTRY>, <BOTTLED WATER>, <MICROBIOLOGICAL ANALYSIS>, <COLONY FORMING UNITS (CFU) >, <MOST PROBABLE NUMBER TECHNIQUE (MPNT) >, <3M PETRIFILM>, <RIOBAMBA CITY>.

## INTRODUCCIÓN

En la actualidad, existe mucha controversia y desconfianza por parte de la población hacia el agua de grifo, por no cumplir con las condiciones sanitarias deseadas, las enfermedades causadas por la mala calidad e inocuidad del agua de grifo son frecuentes en todo el mundo, las mismas que ocurren por diferentes causas como la falta de un tratamiento correcto del agua o por contaminación en las redes de distribución. (Breceda 2004, <http://www.bvsde.paho.org/bvsacd/cd59/aguayenergia.pdf>.)

Desde el año 1993, se han descrito más de 20 enfermedades, causadas por el consumo de agua contaminada, algunas de ellas con alto impacto en términos de morbilidad y mortalidad. Esto ha creado una enorme duda generalizada sobre la potabilidad del agua de grifo siendo la principal razón para que los consumidores prefieran una alternativa de consumo como es el agua embotellada, que a pesar de ser más costosa, la mayoría de las personas la compran y beben con confianza convencidos de su calidad.

En consecuencia a lo anteriormente descrito se ha incrementado el alto grado de aceptación del agua embotellada, siendo esta industria una de las de mayor aceptación, con tasas de crecimiento anuales por encima del 7% en el orden mundial, lo que incrementa el riesgo de afectar la salud de un mayor número de consumidores, en caso de que el agua embotellada no cumpla con los estándares microbiológicos y fisicoquímicos de calidad (Sanchez 1995 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1519322/>)

En este mismo contexto, el agua usada para ser embotellada puede presentar contaminantes tanto químicos como microbiológicos, llegando a contener grandes cantidades de crecimiento bacteriano, pudiendo alcanzar números de hasta 10<sup>5</sup> unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC/mL) pese a que se tiene la percepción que el agua una vez envasada es estéril.

El origen de la flora bacteriana del agua envasada es doble: por un lado, se encuentran las bacterias propias del punto de origen (microflora autóctona), además de las bacterias “añadidas” al agua durante el proceso de envasado (microflora alóctona). (Domansk 2011 <http://solutions.3m.com.ar/3MContent>) (Nadeo et al. 2008 <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0889157508000598>)

Es trascendental mencionar, que después del proceso de envasado, las botellas de agua permanecen almacenadas por semanas o meses, mencionando que el tiempo excesivo de almacenamiento puede alterar sustancialmente las condiciones de las aguas embotelladas. El tratamiento de desinfección que se aplica a algunos tipos de aguas no es sinónimo de esterilización y cualquier bacteria presente se adhiere a las paredes del envase y se multiplica a expensas de trazas de materias orgánicas presentes.(Díaz et..al. 2007 :<http://www.saber.ula.ve/bitstream/123456789/27715/1/articulo1.pdf>.)

Esto varía entre las marcas de agua, dependiendo de la fuente de origen, de la contaminación que tengan los equipos utilizados para bombear el agua hasta el lugar de envasado, de la exposición al aire, del contacto con personas y animales durante el envasado, como también de los métodos de almacenamiento después del envasado. Por lo tanto, el agua envasada, al igual que cualquier otro producto alimenticio, se debe procesar, empacar, etiquetar, transportar y almacenar de una forma segura y sanitaria; es por esto que la vigilancia y control por parte de las entidades gubernamentales sobre las plantas procesadoras de agua debería ser continua y muy minuciosa siendo controladas durante todas las etapas del procesamiento desde la recepción de la materia prima hasta el almacenamiento y distribución del producto empacado; no obstante, se evidencia que en el mercado se expenden productos de diferentes calidades y sin registro sanitarios.(Hunter et.al 1987 <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender>)

Desde el punto de vista microbiológico, el examen de la calidad sanitaria del agua tiene por objeto determinar la presencia de ciertos grupos de bacterias, que revelen una contaminación reciente por materia fecal o materia orgánica, siendo el criterio más utilizado la determinación de la clase y número de microorganismos que ésta contiene. El control de la potabilidad y calidad del agua es muy importante, ya que esta es vehículo de transmisión de enfermedades producidas por patógenos intestinales, como bacterias (disentería, cólera, leptospirosis), virus (hepatitis, poliomielitis), protozoos (amebiasis, giardiasis) y helmintos (hidatidosis, bilarsiasis); o por contaminación fisicoquímica debido a la aparición de sustancias no deseables o que siendo elementos de la composición habitual del agua superan la concentración máxima admisible. (Simanca, et.al 2010 <http://revistas.unicordoba.edu.co/ojs/index.php/temasagrarios/article/view/394>)

Tradicionalmente se han usado ensayos de microorganismos indicadores más que para la determinación de microorganismos patógenos. El grupo de bacterias coliformes ha sido siempre el principal indicador de calidad de los distintos tipos de agua; el número de coliformes en una muestra, se usa como criterio de contaminación y, por lo tanto, de calidad sanitaria de la misma. Esto provee información importante sobre la fuente y el tipo de contaminación

presente . En ocasiones es conflictivo lograr las condiciones de inocuidad y operación a costo razonable, en las plantas de agua para consumo humano; es claro que la primera condición es imprescindible, por ello las características del agua deben garantizar que no produzca daños.(OMS 2004 <http://orton.catie.ac.cr/cgi-bin/wxis.exe/?IsisScript=LIBRO.>)

En los últimos años Ecuador ha incrementado su consumo de agua embotellada generando con ello una preocupación y gran desconfianza sobre la calidad de las mismas. Especialmente porque algunas de las marcas carecen de información en el empaque como falta de número de lote, fecha de fabricación y fecha de vencimiento, lo que nos da a suponer que pueden estar incumpliendo los lineamientos y parámetros de calidad e inocuidad establecidos.(Tapia et.al 2014 <http://dspace.ups.edu.ec/handle/>) (Pérez 2000 <http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/rehabilitacion-bal/aspectos.pdf>)

El presente trabajo de investigación tiene la finalidad de dar a conocer la calidad microbiológica de 10 marcas de agua embotellada expendidas en la ciudad de Riobamba la búsqueda de organismos coliformes totales y fecales bajo la norma NTE INEN 2200:2008 para Agua purificada envasada con la técnica del número más probable (NMP), NOM-112-SSA1-1994. (NTE INEN 1990) ,acompañada de la técnica 3M Petrifil (3M Microbiology 2003 [http://jornades.uab.cat/workshopmrama/sites/jornades.uab.cat.workshopmrama/files/Petrifilm\\_guias.pdf.](http://jornades.uab.cat/workshopmrama/sites/jornades.uab.cat.workshopmrama/files/Petrifilm_guias.pdf.)),

Para los consumidores en quienes nace la inquietud por saber el estado real de las aguas embotelladas que son vendidas como libres de microorganismos , lo que da la pauta a indagar e identificar las condiciones reales en las que se encuentran . La importancia de conocer sobre la calidad del agua embotellada, radica en saber si el producto cumple con las expectativas tanto de los consumidores como de los requisitos que debe obedecer el producto de acuerdo a la normatividad vigente en el país.

Si no se toman las precauciones sanitarias adecuadas, el agua embotellada puede contaminarse con bacterias, las cuales se originan antes del envasado, y después de haberse envasado, éstas se reproducen a concentraciones que podrían representar un riesgo a la salud .Algunas empresas utilizan agua potable como fuente principal, y las bacterias que residen en el agua pueden aparecer en el producto final una vez que el agua es procesada. Además, las prácticas higiénicas deficientes del personal que participa en el procesamiento del agua, incorporado al manejo inadecuado de los envases, dan como resultado un aumento de la población bacteriana en el producto final. (Chaidez 2002 <http://www.agualatinoamerica.com/docs/pdf/9-10-02aguaemb.pdf.>)

La investigación se llevó a cabo en los meses comprendidos entre Abril y Junio del año 2016; se analizó la calidad microbiológica del agua embotellada ,seleccionando 10 marcas de agua embotellada al azar en los supermercados más representativos de la ciudad ,realizando posteriormente los muestreos correspondientes. Los análisis se realizaron en el Laboratorio Microbiológico de la Facultad de Ciencia, Escuela de Bioquímica y farmacia de la ESPOCH.

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo General**

Evaluar la calidad microbiológica de 10 marcas de aguas embotelladas sin gas, expendidas en el cantón Riobamba provincia de Chimborazo, de acuerdo a las Norma NTE INEN 2 200:2008.

### **Objetivos Específicos**

- 1.-Recolectar 10 marcas de aguas embotelladas en la ciudad de Riobamba para los correspondientes análisis microbiológicos.
- 2.-Aplicar los análisis y pruebas microbiológicas establecidas por la normativa para las aguas purificadas embotelladas.
- 3.-Determinar la presencia de los microorganismos en las 10 diferentes marcas de aguas embotelladas.
- 4.-Comparar los resultados obtenidos, con la Norma NTE INEN 2200:2008 (AGUA PURIFICADA ENVASADA. REQUISITOS)

## CAPÍTULO I

### 1. MARCO TEÓRICO

#### 1.1. Antecedentes de la Investigación

La industria del agua embotellada específicamente en Ecuador es nueva, el mercado estadounidense y europeo ha influenciado enormemente en este ámbito comercial , en el país empieza la venta y distribución de este producto desde 1998, a partir del cual se ha ido incrementando considerablemente la elaboración y consumo de las aguas embotelladas.(Simbaña 2012 <http://bibdigital.epn.edu.ec/bitstream/15000/5661/1/CD-4661.pdf>.)

Según la Organización de Alimentos y Agricultura de las Naciones Unidas (FAO), el agua embotellada no es mejor que aquella del grifo. Aunque la mayoría de la población pueda creer que el agua en botella es más saludable que aquella que proviene del acueducto público, un estudio realizado por el Fondo Mundial Para la Naturaleza asegura que el agua embotellada no es más saludable o segura para beber que el agua común y corriente, afirmación que es compartida por la Organización de Alimentos y Agricultura de las Naciones Unidas (FAO). (FDA 2009 <http://www.fda.gov/NewsEvents/Testimony/ucm170932.htm>)

En la década de los 70, las transnacionales productoras de bebidas, usando diferentes estrategias crearon un mercado de consumo para agua embotellada (Macias 2015), la misma que se sigue expandiendo debido a la percepción de los consumidores sobre la calidad del agua potable, a diferencia del agua embotellada que ha sido tratada con mayor rigurosidad. Más de la mitad (59%) del agua embotellada que se consume en el mundo es agua purificada, el 41% restante es agua mineral o de manantial. En la actualidad Nestlé, Coca Cola, Pepsi Cola y Danone son las compañías más grandes a nivel mundial en el mercado de agua embotellada (Intituto de promoción de Inversiones y Exportación Uruguay 2011 <http://www.uruguayxxi.gub.uy/informacion/wp-content/uploads/sites/9/2015/05/Informe-China-Agua-embotellada-Uruguay-XXI-May-2011.pdf>).

Por diferentes factores en la última década se ha mostrado por parte de la población la inquietud sobre la calidad del agua que se consume, el sabor y algunos problemas asociados con el agua

potable han sido la causa del aumento en la utilización y expendio de agua embotellada. (Chaidez 2002 <http://www.agualatinoamerica.com/docs/pdf/9-10-02aguaemb.pdf>.)

La (Facultad de Medicina de Nimega. Holanda) realizó un análisis a 68 muestras de aguas envasadas de 16 países en diferentes marcas, encontrando rastros de bacterias en el 37% de ellas y de hongos en un 4%. Este nivel de contaminación relativamente bajo no representa, según los investigadores, un riesgo para un consumidor sano pero si podría suponer un peligro en pacientes con un sistema inmune debilitado. (Ramírez 2008 [http://www.elaguapotable.com/aguas\\_envasadas.htm](http://www.elaguapotable.com/aguas_envasadas.htm))

Un estudio realizado en 1999 por la Natural Resources Defense Council (NRDC), reveló que 18 de los 103 productos de agua embotellada resultaron por encima de las bacterias permitidas por las normas "de pureza microbiológica", conteniendo niveles de contaminación; incluyendo residuos de *E.coli* y arsénico. (Gallo, et.al 2010 [http://repositorio.utn.edu.ec/bitstream/123456789/193/1/03\\_REC\\_82\\_TESIS.pdf](http://repositorio.utn.edu.ec/bitstream/123456789/193/1/03_REC_82_TESIS.pdf).)

Diferentes autores alrededor del mundo han reportado la contaminación microbiológica en el agua envasada así tenemos : Jeena (Jeena et.al. 2006 <http://revistas.unicordoba.edu.co/revistamvz/mvz-142/v14n2a9.pdf>) , reporto que más del 40% de muestras procedentes de seis estados de la India presentaron bacterias heterotróficas (BHT) con más de 100 UFC /mL y de estas el 44% presentaron coliformes totales; asimismo, Kassenga (Kassenga 2007 <http://revistas.unicordoba.edu.co/revistamvz/mvz-142/v14n2a9.pdf>) estableció que el 92% del agua envasada analizada de diferentes sitios de expendio en Tanzania presentaron BHT y coliformes fecales en una proporción de 3.6%. Por otro lado, en Londrina-Brasil, Da Silva (DaSilva et.al. 2008 <http://revistas.unicordoba.edu.co/revistamvz/mvz-142/v14n2a9.pdf>), determinaron que la presencia de coliformes totales, *Escherichia coli*, esterococos fecales, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus spp* y heterotróficos en agua, aumentaba 42.2% por el proceso inadecuado de envasado. En Colombia, Gomescaseres (Gomescaseres et.al. 2009 <http://revistas.unicordoba.edu.co/revistamvz/mvz-142/v14n2a9.pdf>) , reportaron coliformes fecales en el 27% del agua envasada y en el 81% de las bolsas de empaque del producto expendido de manera ambulante en la ciudad de Cartagena

En el Ecuador se comercializan alrededor de 140 marcas de agua envasada, según estableció la Comisión de Defensa del Consumidor del Congreso. Algunas no son aptas para el consumo humano y otras incumplen las normas de calidad y rotulación exigidas por el Instituto Nacional de Normalización (INEN), en conjunto con el Instituto de Higiene Leopoldo Izquieta Pérez, la Comisión analizó una muestra de 27 marcas de agua, dando a conocer que 12 de ellas no deberían

comercializarse, porque no cumplen los parámetros sanitarios, tomando en cuenta que el consumo de agua contaminada produce enfermedades gástricas, mientras que en lo concerniente a parámetros físicos reveló que el 46% incumple los parámetros de dureza total y magnesio; el 38% con el volumen de venta declarado, siendo de vital importancia para las empresas envasadoras, establecer un mejor control de calidad en la producción de este tipo de productos, ya que estos datos señalan que existe una demanda que no está siendo cubierta adecuadamente por los actuales proveedores, como son Manantial Sin Gas, Agua Tradicional Sin Igual, Vivant, Pure Water Agua Sin Gas, All Natural Sin Gas, Fontana Sin Gas, Dasani Sin Gas, entre otras.(Bolaños 2009 <http://bibdigital.epn.edu.ec/bitstream/15000/1405/1/CD-2147.pdf>)

## **1.2. Bases Teóricas**

### ***1.2.1. Agua potable***

Se denomina agua potable o agua para consumo humano, al agua que puede ser consumida sin restricción debido a que, gracias a un proceso de purificación, no representa un riesgo para la salud. El término se aplica al agua que cumple con las normas de calidad promulgadas por las autoridades locales e internacionales garantizando la trazabilidad de los procesos y la consecución de la exactitud requerida en cada caso; empleando para ello instrumentos, métodos y medios apropiados.(Bermello, et.al 2013 [http://www.cpicmha.sld.cu/BoletinEspl/bes02\\_13.pdf](http://www.cpicmha.sld.cu/BoletinEspl/bes02_13.pdf) )

La norma INEN 1108:2014, quinta revisión, define al agua potable de la siguiente manera: “El agua potable es el agua cuyas características físicas, químicas microbiológicas han sido tratadas a fin de garantizar su aptitud para consumo humano.(NTE INEN 2011 <https://law.resource.org/pub/ec/ibr/ec.nte.1108.2011.pdf>.)

#### ***1.2.1.1. Características del agua potable***

El agua para consumo humano no debe contener microorganismos patógenos, ni sustancias tóxicas o nocivas para la salud, puede ser consumida por la humanidad sin riesgo a contraer alguna infección o enfermedad, aunque no se descarta que dentro del agua potable exista cierta cantidad de diferentes minerales, iones como cloruros, nitratos, amonio, calcio, magnesio, fosfato, arsénico, entre otros, además de los gérmenes patógenos que la pueden hacer riesgosa si se consume.

Se establece valores máximos y mínimos para el contenido en minerales, diferentes iones como cloruros, nitratos, nitritos, amonio, calcio, magnesio, fosfato, arsénico, etc., además de los gérmenes patógenos. (ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD 1988 pp 1-3)

El pH del agua potable debe estar entre 6,5 y 8,5. Los controles sobre el agua potable suelen ser más severos que los controles aplicados sobre las aguas purificadas embotelladas. Dentro de las características químicas podemos encontrar diversos estándares, tales como la dureza, alcalinidad, presencia de cloruros, sulfatos o hierro.

Algunas de estas características cuando se encuentran a niveles elevados son causantes de daños o pérdidas económicas en distintas industrias u hogares; como por ejemplo un exceso de iones  $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{Mg}^{2+}$  pueden presentar daños en tuberías y electrodomésticos; en el caso de el hierro y el manganeso pueden darle al agua un sabor, olor y color indeseable. (Orellana 2005 [https://www.firro.utn.edu.ar/repositorio/catedras/civil/ing\\_sanitaria/Ingenieria\\_Sanitaria\\_A4\\_Capitulo\\_03\\_Caracteristicas\\_del\\_Agua\\_Potable.pdf](https://www.firro.utn.edu.ar/repositorio/catedras/civil/ing_sanitaria/Ingenieria_Sanitaria_A4_Capitulo_03_Caracteristicas_del_Agua_Potable.pdf))

El agua debe tener escasas bacterias. El agua de buena calidad presenta el límite admisible de 100 bacterias por centímetro cúbico de agua.

Desde el punto de vista bacteriológico, el agua potable debe de tener menos de 200 colonias bacterianas de aerobios Mesófilos por mililitro de muestra. Un máximo de dos organismos coliformes totales en 100 ml de muestra y no contener organismos coliformes fecales en 100 ml de muestra. (OMS 2006 [http://www.who.int/water\\_sanitation\\_health/dwq/gdwq3\\_es\\_full\\_lowres.pdf](http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/gdwq3_es_full_lowres.pdf))

El agua contiene organismos vivos que reaccionan con sus elementos físicos y químicos, por estas razones suele ser necesario tratarla para hacerla adecuada para su uso como provisión a la población. El agua que contiene ciertas sustancias químicas u organismos microscópicos puede ser perjudicial para ciertos procesos industriales, y al mismo tiempo perfectamente idóneo para otros.

Los microorganismos causantes de enfermedades que se transmiten por el agua la hacen peligrosa para el consumo humano. (Orellana 2005)

[https://www.firro.utn.edu.ar/repositorio/catedras/civil/ing\\_sanitaria/Ingenieria\\_Sanitaria\\_A4\\_Capitulo\\_03\\_Caracteristicas\\_del\\_Agua\\_Potable.pdf](https://www.firro.utn.edu.ar/repositorio/catedras/civil/ing_sanitaria/Ingenieria_Sanitaria_A4_Capitulo_03_Caracteristicas_del_Agua_Potable.pdf)

Debe ser inodora, tanto en frío como en caliente desprende leve alcalización debe poseer un sabor agradable que le confieren las sales y gases disueltas en ella". La temperatura óptima del agua es de 5°C a 15°C, el agua demasiado fría puede ser perjudicial a la salud y demasiado caliente no resulta

refrescante. "Los límites aceptables varían entre 5 y 15°C, pero la temperatura óptima debe considerarse la comprendida en el intervalo de 10 a 12°C. La mayoría de aguas naturales tienen un pH entre 6 y 8. (Quesada 2014 <https://tecnicasinstrumentales.files.wordpress.com/2011/09/pnt-7-tutorial-pdf.pdf>.)

### 1.2.1.2. Estándares para Agua Potable

**Tabla 1-1** Requisitos Físicos Químicos para Agua Potable

PARAMETRO	UNIDAD	Límite máximo permitido
<b>Características físicas</b>		
Color	Unidades de color aparente (Pt-Co)	15
Turbiedad	NTU	5
Olor	---	no objetable
Sabor	---	no objetable
<b>Inorgánicos</b>		
Antimonio, Sb	mg/l	0,02
Arsénico, As	mg/l	0,01
Bario, Ba	mg/l	0,7
Boro, B	mg/l	0,5
Cadmio, Cd	mg/l	0,003
Cianuros, CN <sup>-</sup>	mg/l	0,07
Cloro libre residual*	mg/l	0,3 a 1,5 <sup>1)</sup>
Cobre, Cu	mg/l	2,0
Cromo, Cr (cromo total)	mg/l	0,05
Fluoruros	mg/l	1,5
Manganeso, Mn	mg/l	0,4
Mercurio, Hg	mg/l	0,006
Níquel, Ni	mg/l	0,07
Nitratos, NO <sub>3</sub>	mg/l	50
Nitritos, NO <sub>2</sub>	mg/l	0,2
Plomo, Pb	mg/l	0,01
Radiación total α *	Bq/l	0,1
Radiación total β **	Bq/l	1,0
Selenio, Se	mg/l	0,01
<sup>1)</sup> Es el rango en el que debe estar el cloro libre residual luego de un tiempo mínimo de contacto de 30 minutos * Corresponde a la radiación emitida por los siguientes radionucleidos: <sup>210</sup> Po, <sup>224</sup> Ra, <sup>226</sup> Ra, <sup>232</sup> Th, <sup>234</sup> U, <sup>238</sup> U, <sup>239</sup> Pu ** Corresponde a la radiación emitida por los siguientes radionucleidos: <sup>60</sup> Co, <sup>89</sup> Sr, <sup>90</sup> Sr, <sup>129</sup> I, <sup>131</sup> I, <sup>134</sup> Cs, <sup>137</sup> Cs, <sup>210</sup> Pb, <sup>226</sup> Ra		

Fuente: (NTE INEN 2011 <https://law.resource.org/pub/ec/ibr/ec.nte.1108.2011.pdf>.)

**Tabla 2-1** Sustancias Orgánicas para agua potable

	UNIDAD	Límite máximo permitido
<b>Hidrocarburos policíclicos aromáticos HAP</b>		
Benzo [a]pireno	mg/l	0,0007
<b>Hidrocarburos:</b>		
Benceno	mg/l	0,01
Tolueno	mg/l	0,7
Xileno	mg/l	0,5
Estireno	mg/l	0,02
1,2dicloroetano	mg/l	0,03
Cloruro de vinilo	mg/l	0,0003
Tricloroetano	mg/l	0,02
Tetracloroetano	mg/l	0,04
Di(2-etilhexil) ftalato	mg/l	0,008
Acrylamida	mg/l	0,0005
Epiclorohidrina	mg/l	0,0004
Hexaclorobutadieno	mg/l	0,0006
1,2Dibromoetano	mg/l	0,0004
1,4- Dioxano	mg/l	0,05
Acido Nitrilotriacético	mg/l	0,2

Fuente:(NTE INEN 2011 <https://law.resource.org/pub/ec/ibr/ec.nte.1108.2011.pdf>.)

**Tabla 3-1** Plaguicidas para agua potable

	UNIDAD	Límite máximo permitido
Isoproturón	mg/l	0,009
Lindano	mg/l	0,002
Pendimetalina	mg/l	0,02
Pentaclorofenol	mg/l	0,009
Dicloroprop	mg/l	0,1
Alacloro	mg/l	0,02
Aldicarb	mg/l	0,01
Aldrín y Dieldrín	mg/l	0,00003
Carbofuran	mg/l	0,007
Clorpirifós	mg/l	0,03
DDT y metabolitos	mg/l	0,001
1,2-Dibromo-3-cloropropano	mg/l	0,001
1,3-Dicloropropeno	mg/l	0,02
Dimetoato	mg/l	0,006
Endrín	mg/l	0,0006
Terbutilazina	mg/l	0,007
Clordano	mg/l	0,0002

Fuente: (NTE INEN 2011 <https://law.resource.org/pub/ec/ibr/ec.nte.1108.2011.pdf>.)

**Tabla 4-1** Requisitos Microbiológicos para Agua Potable

	Máximo
Coliformes fecales <sup>(1)</sup> : - Tubos múltiples NMP/100 ml ó - Filtración por membrana UFC/ 100 ml	< 1,1 * < 1 **
<i>Cryptosporidium</i> , número de ooquistes/100 litros	Ausencia
<i>Giardia</i> , número de quistes/100 litros	Ausencia
* < 1,1 significa que en el ensayo del NMP utilizando 5 tubos de 20 cm <sup>3</sup> ó 10 tubos de 10 cm <sup>3</sup> ninguno es positivo	
** < 1 significa que no se observan colonias	
<sup>(1)</sup> ver el anexo 1, para el número de unidades (muestras) a tomar de acuerdo con la población servida	

Fuente:(NTE INEN 2008 <https://law.resource.org/pub/ec/ibr/ec.nte.2200.2008.pdf>.)

### 1.2.1.3. Sistema de Potabilización del agua

- **Captación**

La captación de aguas tanto superficiales como subterráneas, se realiza por medio de tomas de agua que se hacen en los ríos, diques o vertientes.

El agua que proviene de ríos es la que tiene mayor exposición a contaminantes físico-químicos y microbiológicos, razón por la que requieren un proceso más complejo en su tratamiento La turbiedad, el contenido mineral y el grado de contaminación varían según la época del año.(Romero 2008 [http://www.tec.url.edu.gt/boletin/URL\\_08\\_ING02.pdf](http://www.tec.url.edu.gt/boletin/URL_08_ING02.pdf).)

- **Aireación**

La aireación es un proceso que se emplea para eliminar la cantidad excesiva de hierro y manganeso, principalmente de las aguas subterráneas. Estas sustancias causan problemas en el color y sabor del líquido vital, también interfieren con el lavado de la ropa, manchan los accesorios de plomería y favorecen el crecimiento de bacterias en las tuberías.

Al entrar el aire en contacto con el agua por aspersión o al hacer burbujear aire en el agua, el hierro y el manganeso que están disueltos (Fe+2, Mn+3) se oxida a una forma menos soluble (Fe+3 , Mn+4) que posteriormente se podrán separar en un tanque de sedimentación o en un filtro. Con la aireación se elimina también posibles olores causados por la presencia de sulfato de hidrogeno gaseoso.(OMS 2006 [http://www.who.int/water\\_sanitation\\_health/dwq/gdwq3\\_es\\_full\\_lowres.pdf](http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/gdwq3_es_full_lowres.pdf))

- **Adsorción**

La adsorción es un proceso que se usa principalmente para extraer sustancias orgánicas que son las que causan el mal sabor y mal olor del líquido vital. Uno de los materiales más empleados en este proceso es el carbón activado, este permite retener átomos, iones y moléculas, permitiendo así depurar el agua subterránea, la decoloración, además que con este producto también se logra el refinamiento de las aguas residuales tratadas. Para llevar a cabo este proceso el agua debe pasar a través de un filtro que contenga el carbón activado. La actividad que ejerza el carbón activado va estar en dependencia de la temperatura y de la naturaleza de las sustancias, aunque también el carbón va ir perdiendo su capacidad de retención debido al uso, por esta razón se recomienda regenerar el filtro periódicamente. Al carbón activado se lo puede reutilizar después de oxidar la materia orgánica, cabe destacar que el carbón activado cada vez que es reutilizado disminuye su eficacia en un 5-10%. (OMS 2006 [http://www.who.int/water\\_sanitation\\_health/dwq/gdwq3\\_es\\_full\\_lowres.pdf](http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/gdwq3_es_full_lowres.pdf)) (Romero 2008 [http://www.tec.url.edu.gt/boletin/URL\\_08\\_ING02.pdf](http://www.tec.url.edu.gt/boletin/URL_08_ING02.pdf))

- **Coagulación**

La coagulación es el proceso que permite incrementar el tamaño y peso de las moléculas y así lograr que precipiten más rápidamente, esto se logra gracias a la desestabilización de las partículas (generalmente de carga negativa (-), que se producen por la adición de un reactivo químico denominado coagulante, cuya función es neutralizar las cargas y lograr que las partículas se unan entre sí. El objetivo de la coagulación es neutralizar la carga eléctrica del coloide, esto se logra aplicando determinada cantidad de sales de aluminio o hierro (coagulantes), por lo general se emplea el sulfato de aluminio, de tal manera que las cargas trivalentes del aluminio o del hierro logran neutralizar las cargas negativas que por lo general están rodeando a las partículas coloidales dispersas en el agua. Esta reacción de coagulación dura segundos desde el momento en que el coagulante entra en contacto con las partículas suspendidas en el agua. Entre las propiedades claves que debe reunir el coagulante están: ser un catión trivalente, ser insoluble en un pH neutro y no ser tóxico. (OMS 2006 [http://www.who.int/water\\_sanitation\\_health/dwq/gdwq3\\_es\\_full\\_lowres.pdf](http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/gdwq3_es_full_lowres.pdf))

**Coagulantes más comunes:**

- Sulfato de aluminio
- Sulfato ferroso
- Sulfato férrico

- Cloruro férrico
- Polihidróxido de aluminio

- **Floculación**

La floculación consiste en la agitación de la masa coagulada, lo que permite el crecimiento y aglomeración de los flóculos recién formados en el proceso de coagulación, con la finalidad de aumentar el tamaño y peso necesario para lograr una fácil sedimentación.

La floculación requiere de una agitación lenta que permita la unión de estos flóculos en agregados de mayor tamaño lo que permite que sean visibles a simple vista, lo que también favorecerá la sedimentación de las mismas. El mezclado no debe ser demasiado intenso pues que pueden romper estos flóculos que es casi imposible hacerlos retornar a su tamaño inicial. (OMS 2006 [http://www.who.int/water\\_sanitation\\_health/dwq/gdwq3\\_es\\_full\\_lowres.pdf](http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/gdwq3_es_full_lowres.pdf))

- **Sedimentación**

Es el proceso en el cual las partículas suspendidas en el agua se asientan por gravedad. Este es el tratamiento de aguas más antiguo y el que más se emplea, puesto que es un método relativamente sencillo y económico y que además es aplicable para cualquier tipo de tanque ya sea este redondo, cuadrado o rectangular. Por lo general la sedimentación se la realiza después del proceso de coagulación-floculación, en el caso que sean aguas muy turbias. El proceso consiste en hacer pasar el agua a través del tanque de sedimentación de forma lenta de tal manera que las partículas más grandes se asienten en el fondo antes de que el agua clarificada salga del tanque por el vertedero de salida. (Romero 2008 [http://www.tec.url.edu.gt/boletin/URL\\_08\\_ING02.pdf](http://www.tec.url.edu.gt/boletin/URL_08_ING02.pdf))

Las partículas que quedan retenidas en el tanque de sedimentación por lo general son extraídas de forma manual o también usando raspadores mecánicos. Se debe limpiar constantemente los tanques de sedimentación de manera que se asegure que el agua no se vuelva a contaminar con las partículas que anteriormente quedaron retenidas.

Cabe recalcar que mientras más tiempo pase el agua en el tanque de sedimentación se logrará retener más cantidad de partículas e incluso aun cuando estas sean de menor tamaño. (OMS 2006 [http://www.who.int/water\\_sanitation\\_health/dwq/gdwq3\\_es\\_full\\_lowres.pdf](http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/gdwq3_es_full_lowres.pdf))

- **Filtración**

Es el paso del agua a través de cierta materia porosa, de tal manera que las sustancias suspendidas en la misma son retenidas. El material poroso por lo general es la arena. El proceso consiste en hacer pasar el agua sedimentada o decantada por encima del filtro; de tal manera que el agua por gravedad atraviesa las sucesivas capas de arena que son de distinto grosor, las mismas que van a retener las impurezas o turbiedad residual que quedo después que el agua paso por la etapa de decantación\_(OMS 2006 [http://www.who.int/water\\_sanitation\\_health/dwq/gdwq3\\_es\\_fulll\\_lowres.pdf](http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/gdwq3_es_fulll_lowres.pdf))

Los filtros de arena hay de dos tipos: los filtros de acción rápida y los filtros de acción lenta, y estos a su vez pueden ser filtros de superficie libre y filtros de presión. En los filtros de acción lenta el agua pasa por gravedad a través de la arena, donde la materia sólida suspendida en el agua es retenida en las porosidades que presenta la capa filtrante que en este caso es la arena. En los filtros de acción rápida con superficie libre el agua desciende por gravedad a una mayor velocidad a través de la arena. A pesar de que exista este proceso de filtración no es suficiente para tener un agua libre de impurezas por los que se requiere emplear otros métodos como la coagulación.(Romero 2008 [http://www.tec.url.edu.gt/boletin/URL\\_08\\_ING02.pdf](http://www.tec.url.edu.gt/boletin/URL_08_ING02.pdf))

La filtración es un método que se emplea para tener una mayor clarificación y se la aplica después del proceso de sedimentación. El filtro arenoso debe tener las siguientes dimensiones 100 centímetros de largo por 50 centímetros de ancho y 30 centímetros de profundidad, aproximadamente. En conclusión la función principal de un filtro es eliminar materias en suspensión, retener ciertas bacterias, quistes, etc., pero este método por sí solo no garantiza la potabilización del agua. (OMS 2006 [http://www.who.int/water\\_sanitation\\_health/dwq/gdwq3\\_es\\_fulll\\_lowres.pdf](http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/gdwq3_es_fulll_lowres.pdf))

- **Desinfección**

Proceso mediante el cual se eliminan ciertos agentes microbianos, a través del empleo de productos químicos como: dióxido de cloro, ozono, hipoclorito de sodio, hipoclorito de calcio, etc. (Romero [http://2008www.tec.url.edu.gt/boletin/URL\\_08\\_ING02.pdf](http://2008www.tec.url.edu.gt/boletin/URL_08_ING02.pdf)) .

Rayos ultravioleta por medio de una lámpara de cuarzo llena de vapor de mercurio, que emite una radiación en la zona del espectro se logra producir daños en los ácidos nucleicos de los microorganismos y protozoos, inhibiendo así su reproducción e incluso en ocasiones se logra

desintegrar al microorganismo. Hay que destacar que el empleo de este método es muy limitado, ya que se necesita de un aparato especial que requiere energía eléctrica para su funcionamiento. (OMS 2006 [http:// www.who.int/water\\_sanitation\\_health/dwq/gdwq3\\_es\\_full1\\_lowres.pdf](http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/gdwq3_es_full1_lowres.pdf))

La cloración es el proceso de desinfección del agua más comúnmente empleado. Aunque tiene ciertas problemáticas, pues el cloro tiende a reaccionar con la materia orgánica suspendida en el agua, principalmente aguas residuales y aguas superficiales forma ciertos compuestos de hidrocarburos que resultan cancerígenos.

El cloro es la sustancia más fácil y más económica de emplear para desinfectar el agua. Puesto que se puede emplear dicho compuesto en grandes cantidades de agua y resulta muy económico; aunque en concentraciones elevadas mayores de 0.2 ppm, este suele originar un sabor poco agradable, pero elimina sabores y olores desagradables proporcionados por otros elementos disueltos o suspendidos en el líquido vital.

Además se usa para:

1. Eliminar olores y sabores.
2. Decolorar.
3. Ayudar a evitar la formación de algas.
4. Ayudar a quitar el hierro y manganeso.
5. Ayudar a la coagulación de materias orgánicas.

Aunque el cloro atómico o en su estado elemental se puede emplear para la desinfección del agua, los más empleados son ciertos compuestos del cloro como son ácido hipocloroso, el hipoclorito de sodio, el hipoclorito de calcio y el peróxido de cloro.

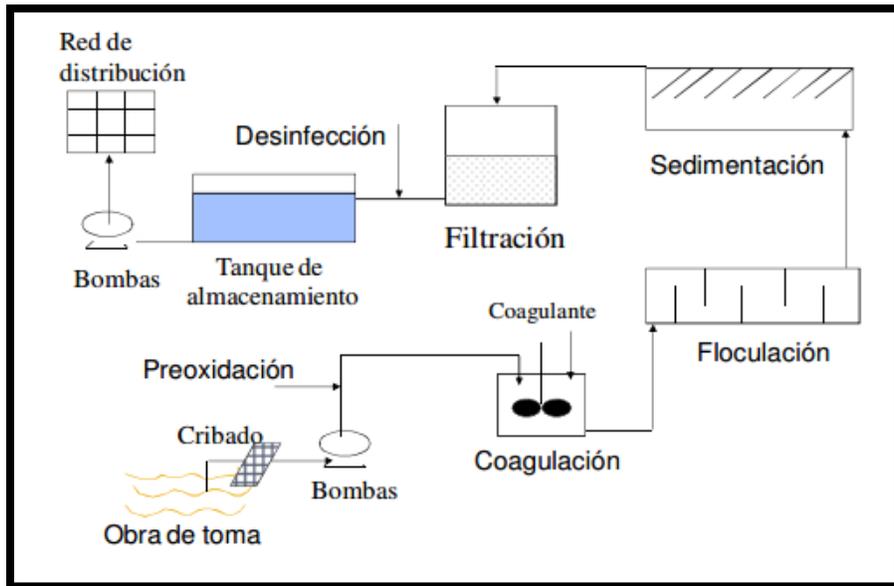
El cloro tiene una acción tóxica sobre los microorganismos y actúa como oxidante sobre la materia orgánica no degradada y sobre algunos minerales. En los abastecimientos de agua potable se emplea el gas cloro mientras que para abastecimientos medianos o pequeños se utilizan hipocloritos. (Idrovo 2009 <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/2426/1/tq1066.pdf>)

- **Almacenamiento**

El agua una vez tratada se almacena en cisternas y tanques elevados desde donde es distribuida por red a los domicilios. Una planta de tratamiento nunca satisface en directo la demanda, trabaja constantemente y almacena en caso de que las demandas futuras sean enormes, esto es que el diseño

de la planta de Tratamiento de Agua nunca debe ser igual a la demanda actual, sino por el contrario se debe preparar para crecimientos futuros programados, ya sea de capacidad instalada mayor o modular. (Romero 2008 <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/2426/1/tq1066.pdf>)

**Figura 1-1** Sistema de Tratamiento del Agua Potable



Fuente: (Martínez 2012 <http://bibdigital.epn.edu.ec/bitstream/15000/4757/1/CD-4369.pdf>)

### 1.2.2. Agua purificada embotellada

Por “aguas envasadas”, distintas de las aguas minerales naturales, se entiende las aguas para consumo humano, que pueden contener minerales que se hallan presentes naturalmente o que se agregan premeditadamente; pueden contener dióxido de carbono por encontrarse naturalmente o se agrega intencionalmente, pero no azúcares, edulcorantes, aromatizantes u otras sustancias alimentarias, se encuentra libre de agentes infecciosos, cuya ingestión no causa efectos nocivos a la salud y para su comercialización se presenta en botellones u otros envases con cierre hermético. (Codex Standar 2001 [http://www.fao.org/input/download/standards/369/CXS\\_227s.pdf](http://www.fao.org/input/download/standards/369/CXS_227s.pdf).)

La definición del agua embotellada es bastante sencilla: cualquier agua (generalmente la que no contiene aditivos), destinada para el consumo humano que está sellada en una botella u otro contenedor.

Sin embargo, lo que es sorprendente es la fuente del agua embotellada. Porque, además de dichas fuentes "naturales" como artesiano, manantiales, agua mineral y agua con gas, aproximadamente el 25% de toda el agua embotellada se origina en los suministros de agua municipal. (Alan 2008 <http://www.cvshealthresources.com/print.aspx?token=f75979d3-9c7c-4b16-af56-3e122a3f19e3&chunkiid=121758>)

"Agua embotellada" o "agua para beber" si reúne todos los estándares federales o estatales correspondientes, se sella en un contenedor sanitario y se vende para el consumo humano. El agua embotellada no contiene edulcorantes o aditivos químicos (aparte de saborizantes, extractos o esencias) y no debe tener calorías y azúcares. Los saborizantes, extractos y esencias provenientes de especias o frutas se pueden agregar al agua embotellada, pero estas adiciones deben constituir menos del 1% del peso del producto final.

Las bebidas que contienen más del 1% del límite del peso del saborizante se clasifican como refrescos. Además, el agua embotellada podría estar libre de sodio o contener cantidades "muy bajas" de sodio. (Alan 2008 <http://www.cvshealthresources.com/print.aspx?token=f75979d3-9c7c-4b16-af56-3e122a3f19e3&chunkiid=121758>)

La Administración de Alimentos y Medicamentos (Food and Drug Administration, FDA) de los Estados Unidos describe el agua envasada como el agua destinada al consumo humano y que es almacenada en botellas selladas u otros recipientes sin aditivos, excepto, en algunos casos, que puede contener un agente antimicrobiano adecuado y seguro. Es posible que se le agregue fluoruro dentro de los límites establecidos por la FDA. (FDA 2012 [http://www.prochile.gob.cl/wp-content/files\\_mf/documento\\_05\\_07\\_12172014.pdf](http://www.prochile.gob.cl/wp-content/files_mf/documento_05_07_12172014.pdf).)

#### *1.2.2.1. Tipos de agua embotellada*

Existen diferentes categorías de aguas envasadas que se diferencian por sus propiedades naturales o por los potenciales tratamientos a los que son sometidas en las plantas de embotellado: (SURVIO 2012 <http://www.survio.com/survey/d/Q5W5E2W0S8IIQ7G4T>)

- ✓ **Aguas minerales naturales:** Son aguas de origen subterráneo, protegidas contra los riesgos de contaminación, bacteriológicamente sanas y con una composición constante en minerales y otros componentes, lo que les confiere propiedades favorables para la salud. (NTE INEN 2012 [http://www.normalizacion.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2013/11/nte\\_inen\\_1882.pdf](http://www.normalizacion.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2013/11/nte_inen_1882.pdf).)

Dentro de estas aguas tenemos las aguas minerales con gas que contienen ácido carbónico disuelto, que se traduce en burbujas. Este tipo de agua se caracteriza por su sabor ligeramente

amargo, y son las propiedades organolépticas tan características que esta bebida posee las que constituyen uno de los motivos principales de su consumo. El agua mineral se distingue de los otros tipos de agua embotellada por el nivel constante y las proporciones relativas de mineral y elementos mínimos en el lugar donde se encuentra la fuente. Todos los minerales deben ser naturales y no agregados. (Alan 2008 <http://www.cvshealthresources.com/print.aspx?token=f75979d3-9c7c-4b16-af56-3e122a3f19e3&chunkiid=121758>)

- ✓ **Agua de manantial:** Agua embotellada proveniente de una formación subterránea de la cual fluye que emergen espontáneamente en la superficie de la tierra o se captan mediante labores practicadas al efecto, manteniendo las características naturales de pureza que permiten su consumo y previa aplicación de los mínimos tratamientos físicos requeridos para la separación de elementos materiales inestables. A diferencia de las minerales naturales, no han demostrado acción específica en el organismo humano. (Norma Técnica Obligatoria Nicaraguense 2003 [www.foodproductenvision.com/~fooda1/.../5-control-de-calidad?...agua-ensvasada.](http://www.foodproductenvision.com/~fooda1/.../5-control-de-calidad?...agua-ensvasada.)). Tanto las aguas minerales naturales como las aguas de manantial pueden someterse a tratamientos autorizados para eliminar elementos naturales inestables (hierro, azufre, manganeso, etc.) a condición de que no modifiquen los constituyentes del agua que le confieren sus propiedades esenciales y que no tengan efectos desinfectantes. (Alan 2008 <http://www.cvshealthresources.com/print.aspx?token=f75979d3-9c7c-4b16-af56-3e122a3f19e3&chunkiid=121758>)
  
- ✓ **Agua purificada:** Aguas que han sido sometidas a tratamientos físico-químicos diversos (ósmosis, ozono, ultravioleta, etc.) (Norma Técnica Obligatoria Nicaraguense 2003 [www.foodproductenvision.com/~fooda1/.../5-control-de-calidad?...agua-ensvasada.](http://www.foodproductenvision.com/~fooda1/.../5-control-de-calidad?...agua-ensvasada.)). Su procedencia puede ser: tanto subterráneo como superficial o de la red pública. (Alan 2008 <http://www.cvshealthresources.com/print.aspx?token=f75979d3-9c7c-4b16-af56-3e122a3f19e3&chunkiid=121758>)
  
- ✓ **Agua de pozo:** Agua embotellada proveniente de un hoyo perforado, taladrado o construido de alguna forma en el suelo cuya fuente de agua es un acuífero. (Alan 2008 <http://www.cvshealthresources.com/print.aspx?token=f75979d3-9c7c-4b16-af56-3e122a3f19e3&chunkiid=121758>)
  
- ✓ **Aguas saborizadas:** No son otra cosa que aguas minerales naturales o de manantial a las que se le adicionan sustancias aromatizantes naturales de uso permitido, y también jugos de frutas, ya sean gasificadas o no, dependiendo del agregado de dióxido de carbono. Las aguas saborizadas son bebidas nuevas que salieron a competir en el mercado, con las gaseosas y otras bebidas;

generalmente son bebidas saborizadas de bajo valor calórico. (Codex Standar 2001 [http://www.fao.org/input/download/standards/369/CXS\\_227s.pdf](http://www.fao.org/input/download/standards/369/CXS_227s.pdf))

### *1.2.2.2. Diferentes tratamientos de purificación de agua embotellada*

En el mercado existen diferentes formas de purificar el agua, entonces existen diferentes calidades de purificación. La siguiente investigación es un resumen de estas diferentes técnicas de tratamiento. (COSMOS 2003 <http://www.cosmos.com.mx/wiki/4c0c/agua-purificada>.)

**-Alúmina activada:** Es una forma granulada de óxido de aluminio, en este proceso el agua que contiene el contaminante se pasa por un cartucho o canastilla de alúmina activada. La alúmina absorbe al contaminante, obteniendo así agua purificada. El cartucho de alúmina activada debe ser remplazado. Contaminantes eliminados: Arsénico, Fluoruro. (LENNTECH 2006 <http://www.lenntech.es/agua-embotellada.htm>.)

**-Carbón activado:** Los filtros de carbón activado absorben impurezas del agua que pasa por un cartucho o tanque de carbón, tales filtros se utilizan para eliminar o despejar olores y sabores desagradables, compuestos orgánicos y residuos de cloro. Los filtros de carbón también eliminan algunos contaminantes sumamente peligrosos tales como el gas radón, sulfuro de hidrógeno y varias sustancias químicas disueltas y trihalometanos. Contaminantes eliminados: H<sub>2</sub>S, Radón, Cloruro, Compuestos Volátiles Orgánicos (VOC). (SCRIBD 2012 <https://es.scribd.com/doc/65460172/un-proceso-de-fabricacion-del-agua-embotellada>)

**-Ozono:** El uso del ozono en la purificación del agua ofrece grandes ventajas: Eliminación del color, olor y sabor del agua, reducción de la turbiedad así como del contenido en sólidos en suspensión y de las demandas químicas y biológicas del oxígeno.

Los sistemas de aireación rocían el agua a través de una cámara llena de aire entonces utilizan un abanico para mover el aire contaminado: Contaminantes eliminados: H<sub>2</sub>S, Radón, la mayoría de Microorganismos, Compuestos Volátiles Orgánicos (VOC). (Huerta 2012 [http://www.profeco.gob.mx/revista/publicaciones/adelantos\\_04/purificar\\_agua\\_mzo04.pdf](http://www.profeco.gob.mx/revista/publicaciones/adelantos_04/purificar_agua_mzo04.pdf).)

**-Cloro:** El método más común, más viejo y relativamente barato usado para desinfectar el agua es tratar con cloro. Una bomba química dispensa el cloro continuamente en la fuente de abastecimiento de agua. El Cloro, un agente oxidante, mata la mayoría de gérmenes y algunos virus. En las concentraciones adecuadas y bajo tiempo de exposición adecuado, el cloro es un

desinfectante excelente. Contaminantes eliminados: Gérmenes, Sulfuro de Hidrógeno, Algunos Virus. (SCRIBD 2012 <https://es.scribd.com/doc/65460172/un-proceso-de-fabricacion-del-agua-embotellada>)

**-Intercambio de iones:** Sistemas de intercambio de iones suavizan el agua dura, eliminando los minerales (calcio y magnesio que causan la dureza). Este sistema también elimina eficazmente el hierro y varios metales fuertes. El agua dura pasa a través de un tanque que contiene la resina de intercambio. El sodio en la resina reemplaza la dureza de los minerales. El sodio permanece en una forma soluble en el agua suavizada. Contaminantes eliminados: Hierro, Magnesio, Calcio. (Huerta 2012 [http://www.profeco.gob.mx/revista/publicaciones/adelantos\\_04/purificar\\_agua\\_mzo04.pdf](http://www.profeco.gob.mx/revista/publicaciones/adelantos_04/purificar_agua_mzo04.pdf).)

**-Filtración mecánica:** Los filtros mecánicos o micro-filtración, elimina material suspendido del agua incluyendo arena, masilla u otra materia orgánica. Estos filtros no eliminan partículas disueltas o muy finas y se utilizan regularmente en combinación con otro equipo de tratamiento. Los Filtros son comúnmente de tela, fibra, cerámica u otro material que sea de material protector. (SCRIBD 2012 <https://es.scribd.com/doc/65460172/un-proceso-de-fabricacion-del-agua-embotellada>)

**-Osmosis inversa:** Las unidades de Osmosis Inversa (RO) eliminan una cantidad considerable de la mayoría de sustancias químicas inorgánicas (tales como sales, metales, minerales) la mayoría de microorganismos y muchas sustancias químicas orgánicas. No eliminan eficazmente algunos compuestos orgánicos. (Hernández et al. 1990 pp 142)

Contaminantes eliminados: Magnesio, Aluminio, Fluoruro, algunos Compuestos Volátiles Orgánicos (VOC) y la mayoría de Microorganismos. (Huerta 2012 [http://www.profeco.gob.mx/revista/publicaciones/adelantos\\_04/purificar\\_agua\\_mzo04.pdf](http://www.profeco.gob.mx/revista/publicaciones/adelantos_04/purificar_agua_mzo04.pdf).)

**-Ultravioleta:** Las lámparas de arca de mercurio producen luz ultravioleta que tiene propiedades germicidas. La radiación mata o desactiva los patógenos. Los gérmenes se matan con cantidades relativamente bajas de radiación, los virus son más resistentes y los quistes y gusanos también son afectados. La radiación no deja residuos del producto que continua desinfectando más allá del período del tratamiento. Contaminantes eliminados: Gérmenes, Virus, Quistes, Bacterias. (SCRIBD 2012 <https://es.scribd.com/doc/65460172/un-proceso-de-fabricacion-del-agua-embotellada>)

### 1.2.2.3. Requisitos Físicos y Microbiológicos de las aguas embotelladas

**Tabla 5-1** Requisitos físicos del agua purificada envasada o agua purificada mineralizada envasada

REQUISITOS	Mínimo	Máximo
Color expresado en unidades de color verdadero (UTC)	--	5
Turbiedad expresada en unidades nefelométricas de turbiedad NTU	--	3
Sólidos totales disueltos expresados en mg/l:		
- Agua purificada envasada	--	500
- Agua purificada mineralizada envasada	250	1000
pH a 20°C:		
- no carbonatada,	6,5	8,5
- carbonatada,	4,0	8,5
- proceso de ósmosis y destilación	5,0	7,0
Cloro libre residual, mg/l	0,0	0,0
Dureza, CaCO <sub>3</sub> , mg/l	-	300
Olor y sabor	inobjetable	

Fuente : (NTE INEN 2008 <https://law.resource.org/pub/ec/ibr/ec.nte.2200.2008.pdf>.)

**Tabla 6-1** Requisitos Microbiológicos para muestra unitaria o de anaquel

	Límite máximo
Aerobios mesófilos, UFC/ml	$1,0 \times 10^2$
Coliformes NMP/100 ml	< 1,8
Coliformes UFC/100ml	< $1,0 \times 10^0$
NOTA: Los valores < 1,8 y < $1,0 \times 10^0$ significan ausencia, o no detectables	

Fuente : (NTE INEN 2008 <https://law.resource.org/pub/ec/ibr/ec.nte.2200.2008.pdf>.)

### 1.2.2.4. Límites para sustancias químicas y radiológicas en aguas embotelladas

Ninguna agua envasada deberá contener sustancias o emitir radioactividad en cantidades que puedan resultar perjudiciales para la salud. A tal efecto, todas las aguas envasadas deberán ajustarse a los requisitos relacionados con la salud estipulados en la mayoría de las recientes “Directrices para la calidad del agua potable” publicadas por la Organización Mundial de la Salud. (Codex Standar 2001 [www.fao.org/input/download/standards/369/CXS\\_227s.pdf](http://www.fao.org/input/download/standards/369/CXS_227s.pdf))

#### *1.2.2.5. Características de las Aguas Embotelladas*

El agua purificada Embotellada es incolora, límpida y transparente, inodora e insípida, aunque no absolutamente, cuenta con un proceso en donde el agua es tratada eliminando la más minuciosa cantidad de minerales considerados como dañinos en ciertas cantidades para nuestro organismo. El pH del agua purificada embotellada se encuentra entre 4 y 9. Es un agua a la cual se le ha eliminado todos los contaminantes, cloro y minerales que están disueltos en ella. (SURVIO 2012 <http://www.survio.com/survey/d/Q5W5E2W0S8I1Q7G4T>)

El agua embotellada no es necesariamente más sana ni más segura que el agua del grifo, según un estudio hecho en Florida a partir de la intervención de la nutricionista Cynthia Sass en la undécima convención anual de Salud y Forma Física del American College of Sports Medicine de Dallas. El motivo de esta afirmación es que aproximadamente el 25% del agua embotellada es, en su origen, agua corriente, según Sass. (Díaz et al. 2007 <http://www.saber.ula.ve/bitstream/123456789/27715/1/articulo1.pdf>.)

"El agua embotellada no merece el halo nutricional que la mayoría de gente le da, creyendo que es pura". Del grifo o de la botella, el agua siempre tendrá cierto nivel de contaminantes: bacterias provenientes de las heces fecales de animales y humanos, algunos químicos liberados por las industrias, nitrato de los fertilizantes usados en los cultivos, minerales como mercurio o plomo. Estos contaminantes algunas veces entran de forma inevitable porque se encuentran en la tierra o porque son desechos creados por el hombre. En el agua embotellada, las bacterias pueden tener su origen natural de la fuente de agua o puede ser introducida durante el proceso de procesado y embotellamiento. (Díaz et al. 2007 <http://www.saber.ula.ve/bitstream/123456789/27715/1/articulo1.pdf>.)

Pero estos contaminantes no son necesariamente peligrosos para la salud, cuando se encuentran en cantidades pequeñas. LA EPA, por ejemplo, se encarga de controlar que el agua de los acueductos tenga unos niveles mínimos de contaminantes que no afecten la salud de la mayoría de las personas que la toman o que la usan para cocinar.

#### *1.2.2.6. Regulaciones del agua embotellada*

En los Estados Unidos, el uso del agua es regulada por la Administración de Drogas y Alimentos (FDA). En el caso de aguas municipales, son reguladas por la Agencia de Protección de Medio Ambiente (Environmental Protection Agency, EPA), las normas regulan básicamente la presencia

de bacterias coliformes (coliformes fecales y totales). En el caso de agua embotellada, que se considera un producto de alimentación, la FDA permite la presencia de alguno de los tipos de coliformes en 1 de 10 botellas cuando es probado por la técnica de filtro de membrana. Las regulaciones europeas son considerablemente más estrictas y requiere la ausencia (en muestras de 250 mL) de *Escherichia coli*, coliformes, *P. Aeruginosa* y *Streptococos* fecales. Además, no es usado ningún tipo de agente desinfectante para remover los microorganismos. De manera que el agua debe ser inalterada, protegiendo la fuente, y así adherirse a las estrictas regulaciones cuantitativas y cualitativas. (Díaz et al. 2007 <http://www.saber.ula.ve/bitstream/123456789/27715/1/articulo1.pdf>.)

#### *1.2.2.7. Bacterias presentes en las aguas embotelladas*

Se debe recordar que el agua embotellada está en un sistema cerrado, a diferencia del agua potable tomada de la llave que fluye por tubos. Una vez que el contenedor está lleno y sellado, el agua embotellada puede permanecer sobre el anaquel de la tienda de comestibles o almacenada en la casa durante semanas o a veces meses. La desinfección no es sinónimo de esterilización. Cualquier bacteria presente se adherirá a los lados o inferior del contenedor y se multiplicará gracias a pequeñas porciones de materia orgánica presente en el agua.

Este material orgánico puede variar sustancialmente en cantidad y tipo, dependiendo de la fuente de agua, aunque en la mayoría de los casos, el nivel de materiales orgánicos sea bajo, muchos de los microorganismos presentes se adecuan a estas condiciones, por lo que esto se convierte en una ventaja (Pub Med 1976 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/829204>).

Así, el agua que contiene pocos organismos, una vez embotellada, puede presentar un aumento exponencial del número de bacterias. Usando la técnica de agar en placa sumada a la de microscopía electrónica, Hamilton y Rosenberg (1991) mostraron que la bacteria *E. coli* adherida en los bidones de agua embotellada comprados en supermercados, siguió el aumento de números en el biofilm. De la misma manera, cuando estos contenían el agua, presentaron un aumento rápido de cuentas bacterianas. Este aumento sigue un crecimiento típico, que declina hasta que el material orgánico se ha agotado.

Si el agua es almacenada a temperatura ambiente, como es común en supermercados y a menudo en la casa, esto no tomará más que unos días para que las concentraciones sean tan altas como  $10^4$  a  $10^5$  CFU/mL (CFU = Colony Forming Unit/mililitro, unidad formadora de colonia / mililitro). La

refrigeración retarda este proceso. Hubo una considerable discusión en cuanto a la incidencia en la salud de estos organismos aeróbicos y heterotróficos, por lo que fue necesario establecer un límite de aceptabilidad (500 CFU/mL). Mantener estos límites fue un problema, ya que el agua de diferentes fuentes, tendrá cantidades diferentes de material orgánico.(Díaz et al. 2007 <http://www.saber.ula.ve/bitstream/123456789/27715/1/articulo1.pdf>)

Por otro lado, ha surgido la preocupación de los expertos en que altos números de CFU, pueden enmascarar la presencia de patógenos o simplemente indicar que hay contaminación en el proceso de embotellado. Por ejemplo, en aguas envasadas europeas, que son tomadas directamente de la fuente sin ningún tratamiento, el probar la presencia de algún microorganismo puede ser enmascarado y dar cuentas razonables, y no serlo.

En lugares donde las aguas municipales son usadas (por ejemplo, en los Estados Unidos), el producto varía sustancialmente la cantidad de materia orgánica, por lo que, el número de organismos en el contenedor, también varía. La eficacia de desinfección también puede ser determinada del número bacterias presentes en la botella, considerando unidades proporcionales y así estimar la concentración microbiológica de una determinada bacteria.

Algunos estudios han demostrado que el contenido bacteriano usualmente tiene mayor incidencia en contenedores plásticos que en botellas de vidrio. Los envases plásticos tienden a ser más permeables al oxígeno y vapores externos (aire). Por otro lado, los materiales plásticos liberan nutrientes que promueven el crecimiento bacteriano en el agua. (Díaz et al. 2007 <http://www.saber.ula.ve/bitstream/123456789/27715/1/articulo1.pdf>)

La presencia de *Pseudomonas* oportunistas en el agua es un problema potencial para una población inmunodeficiente. La *P. aeruginosano* se encuentra con frecuencia en el agua embotellada; cuando esto ocurre generalmente es un indicador de la contaminación durante el proceso de embotellado. Dos especies la *B. cepacia* y *S. maltophiliaa* menudo, se encuentran en las fuentes de agua, las cuales se le señala como responsables en la producción de infección nosocomial. Estos microorganismos tienen la habilidad de crecer en concentraciones muy pequeñas de materia orgánica. De la misma manera, las especies *Acinetobacterse* les ha señalado como responsables de enfermedades hospitalarias y son comúnmente encontradas en diversos tipos de agua embotellada. (Wu et al. 2002 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12009817>)

El agua embotellada, es a menudo recomendada para pacientes con sistema inmunodeprimidos. Cuando esta se mantiene a temperaturas más bajas es menos susceptible a crecimiento de bacterias, por lo que tiene menos efectos adversos. A menudo, el agua embotellada, es compartida entre individuos, en consecuencia, es posible transferir microorganismos patógenos. Estos son las fuentes más comunes de contaminación del agua embotellada.(WebMD 2004 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12009817>)

### ***1.2.3. Factores de contaminación del agua***

La contaminación de las aguas puede proceder de fuentes naturales o de actividades humanas. En la actualidad la más importante, sin duda es la provocada por el hombre, debido a que es un fenómeno ambiental, se inicia desde los primeros intentos de industrialización, para transformarse en un problema generalizado, a partir de la revolución industrial, iniciada a comienzos del siglo XIX.(Chamorro 2010 [http://repositorio.utn.edu.ec/bitstream/.../221/1/03\\_rec\\_123\\_contenido.pdf](http://repositorio.utn.edu.ec/bitstream/.../221/1/03_rec_123_contenido.pdf).)

El agua tiene una gran capacidad de purificarse debido a su ciclo natural. Por esta misma razón de regeneración y por la abundancia evidente de este líquido vital, se convierte en el vertedero habitual de residuos producidos a través de nuestras actividades diarias. Desechos químicos, pesticidas, residuos reactivos, metales pesados, etc., se encuentran en grandes o pequeñas proporciones al momento en que se analizan muestras de aguas de los lugares más remotos del mundo. Gran cantidad de aguas en el mundo están contaminadas hasta el punto de ser altamente peligrosas para la salud humana y dañina para la vida.(Flores 2015 [http://www.ugr.es/~fgarcia/c/pdf\\_color/tema4](http://www.ugr.es/~fgarcia/c/pdf_color/tema4) [Modo de compatibilidad].pdf.)

Los contaminantes del agua se pueden agrupar de diferentes maneras:

#### **➤ Microorganismos patógenos**

Se los considera organismos patógenos contaminantes del agua a los virus, protozoos y otros organismos que transfieren enfermedades como el cólera, tifus, gastroenteritis diversa, hepatitis, etc. En países en vías de desarrollo estas enfermedades producidas por estos agentes patógenos son la causa principal de muerte precoz, principalmente en los niños. Por lo general estos agentes patógenos llegan al agua en las heces y demás restos orgánicos que provienen de las personas infectadas.

Un buen indicador para medir la salubridad del agua en cuanto se refiere a microorganismos, es el número de bacterias coliformes presentes en el agua. La OMS (Organización Mundial de la Salud) recomienda que en el agua que se usa para el consumo deben existir 0 colonias de coliformes por 100 mL de agua.(Echarri 2007 [http://datateca.unad.edu.co/contenidos/358001/contaminacion\\_del\\_agua.pdf](http://datateca.unad.edu.co/contenidos/358001/contaminacion_del_agua.pdf)) (López 2003 <http://www2.pr.gov/agencias/jca/areasprogramaticas/biblioteca/documents/contaminacionagua.pdf>.)

#### ➤ **Desechos orgánicos**

Son todos aquellos residuos orgánicos producidos por el hombre, ganado, aves, etc., .Que incluyen a las heces y demás materiales que son transformados por las bacterias aeróbicas, es decir en procesos en los que existe un consumo de oxígeno. El exceso de esta materia, logra una proliferación de bacterias las mismas que agotan el oxígeno, y en ese lugar ya no pueden habitar otras especies como los peces y otros seres vivos que si necesitan de oxígeno para vivir. Los indicadores más comunes para medir la contaminación por desechos orgánicos son la cantidad de oxígeno disuelto en agua (OD), demanda biológica de oxígeno (DBO).(López 2003 <http://www2.pr.gov/agencias/jca/areasprogramaticas/biblioteca/documents/contaminacionagua.pdf>.)

#### ➤ **Sustancias químicas inorgánicas**

Los ácidos, sales y metales tóxicos como el mercurio y el plomo, son las sustancias que están incluidas en este grupo. Cuando estas sustancias están en cantidades elevadas en el agua, pueden causar graves daños en la salud de los seres vivos. Para contrarrestar esta problemática se recomienda reducir el uso de pesticidas agrícolas y además se debería dar mantenimiento a los equipos y aparatos que se usan para trabajar con el agua.(Flores 2015 [http://www.ugr.es/~fgarciac/pdf\\_color/tema4](http://www.ugr.es/~fgarciac/pdf_color/tema4) [Modo de compatibilidad].pdf.)

#### ➤ **Nutrientes vegetales inorgánicos**

Las plantas para su desarrollo normal necesitan de los nitratos y fosfatos que son sustancias altamente solubles en el agua, cuando estas sustancias se encuentran en altas concentraciones inducen un crecimiento elevado de algas y otros microorganismos provocando la acumulación de materia orgánica en las aguas. Cuando las algas mueren las bacterias las descomponen mediante un proceso que involucra el consumo de oxígeno, agotándolo y evitando la vida de otras especies que para sobrevivir en el agua necesitan de oxígeno. El agua con elevado contenido de nitratos y fosfatos con el pasar del tiempo se convierte en un agua mal oliente e inutilizable. (Sanchón 2002

[http://ocw.unican.es/ciencias-de-la-salud/salud-publica-y-atencion-primaria-de-salud/otros-recursos-1/lecturas/bloque-iii/Contaminacion del agua.pdf](http://ocw.unican.es/ciencias-de-la-salud/salud-publica-y-atencion-primaria-de-salud/otros-recursos-1/lecturas/bloque-iii/Contaminacion%20del%20agua.pdf))

### ➤ **Compuestos orgánicos**

Entre los compuestos orgánicos más comunes que encontramos como contaminantes del agua están los plásticos, el petróleo, la gasolina, los plaguicidas, los disolventes, detergentes, etc. que permanecen en el agua por largos periodos de tiempo, debido a que estos son productos elaborados por el hombre, con estructuras complejas casi imposible de ser descompuestas por los microorganismos. (Echarri 2007 [http://dateca.unad.edu.co/contenidos/358001/contaminacion\\_del\\_agua.pdf](http://dateca.unad.edu.co/contenidos/358001/contaminacion_del_agua.pdf)) (López 2003 <http://www2.pr.gov/agencias/jca/areasprogramaticas/biblioteca/documents/contaminacionagua.pdf>.)

### ➤ **Sedimentos y materiales suspendidos**

Ciertas partículas y materiales que son arrastradas con las corrientes de agua, son las que ocasionan una fuente de contaminación, ya que estas permanecen suspendidas en el agua produciendo un elevado nivel de turbidez, la misma que impide la vida de algunos organismos. Cabe recalcar que la turbidez va aumentar cuando se sea época de lluvias. (Sanchón 2002 [http://ocw.unican.es/ciencias-de-la-salud/salud-publica-y-atencion-primaria-de-salud/otros-recursos-1/lecturas/bloque-iii/Contaminacion del agua.pdf](http://ocw.unican.es/ciencias-de-la-salud/salud-publica-y-atencion-primaria-de-salud/otros-recursos-1/lecturas/bloque-iii/Contaminacion%20del%20agua.pdf))

### ➤ **Contaminación térmica**

Ciertas centrales de energía o industrias tienden siempre a liberar agua caliente hacia los afluentes de agua, provocando así una disminución de la capacidad de retención de oxígeno, la misma que afecta indirecta en la vida de los organismos Sanchón 2002 [http://ocw.unican.es/ciencias-de-la-salud/salud-publica-y-atencion-primaria-de-salud/otros-recursos-1/lecturas/bloque-iii/Contaminacion del agua.pdf](http://ocw.unican.es/ciencias-de-la-salud/salud-publica-y-atencion-primaria-de-salud/otros-recursos-1/lecturas/bloque-iii/Contaminacion%20del%20agua.pdf))

#### *1.2.3.1. Enfermedades transmitidas por el agua*

El acceso al agua y el saneamiento es el motor principal de la salud pública y del desarrollo, con incidencia directa en temas como la reducción de la pobreza, la reducción de la mortalidad infantil, el fin de las desventajas del ciclo de vida, el mantenimiento bajo de los costos de la salud pública, la equidad de género, mejorar la educación de las niñas y liberar a las mujeres y niñas del tiempo que pasan buscando agua y la garantía de la dignidad humana. (Sanchón 2002 [http://ocw.unican.es/ciencias-de-la-salud/salud-publica-y-atencion-primaria-de-salud/otros-recursos-1/lecturas/bloque-iii/Contaminacion del agua.pdf](http://ocw.unican.es/ciencias-de-la-salud/salud-publica-y-atencion-primaria-de-salud/otros-recursos-1/lecturas/bloque-iii/Contaminacion%20del%20agua.pdf)) (Ingrahan et. al 1998 pp 473-475)

Sin embargo, la crisis del agua afecta a millones de personas en el mundo, especialmente en los países más pobres, y se refleja también en las múltiples enfermedades relacionadas con la calidad y el abastecimiento de la misma. De hecho, mientras que en los países desarrollados las enfermedades transmitidas por el agua son cosa del pasado, al representar únicamente el 1% de la mortalidad total, en el caso de los países en desarrollo la situación continúa siendo alarmante. (Cabezas 2010 [http://181.177.232.117/anc\\_j28.1/images/stories/agua/cesarcabezas.pdf](http://181.177.232.117/anc_j28.1/images/stories/agua/cesarcabezas.pdf))

Para que el agua sea considerada como un foco de transmisión de enfermedades debe cumplir cuatro condiciones: 1) la enfermedad debe estar asociada con condiciones de insalubridad; 2) su incidencia debe reducirse cuando se perfeccione el sistema de abastecimiento de agua; 3) su incidencia debe aumentar con frecuencia epidémica cuando las fuentes de agua sufren alguna contaminación temporal o cuando falla algún tratamiento; 4) la incidencia debe ser mayor entre los que hacen uso de una fuente sospechosa, en comparación con los que hacen uso de otras fuentes que son parecidas en los demás aspectos pertinente. (Tobergte et al 2013 [http://181.177.232.117/anc\\_j28.1/images/stories/agua/cesarcabezas.pdf](http://181.177.232.117/anc_j28.1/images/stories/agua/cesarcabezas.pdf))

De acuerdo con los datos de la Organización Mundial de la Salud, entre las enfermedades relacionadas con la calidad y el abastecimiento del agua se encuentran:

- **Diarrea**

Aproximadamente 1,8 millones de personas mueren cada año debido a enfermedades diarreicas (incluido el cólera); un 90% de esas personas son niños menores de cinco años, principalmente procedentes de países en desarrollo.

Se piensa que un 88% de las enfermedades diarreicas son producto de un abastecimiento de agua insalubre, de un saneamiento y una higiene deficientes. La mejora del abastecimiento de agua reduce entre un 6% y un 21% la morbilidad por diarrea, si se contabilizan las consecuencias graves. (Molinao 2012 <http://www.laanunciataikerketa.com/trabajos/microorganismos/enfer.pdf>)

- **Paludismo**

El paludismo provoca que 1,3 millones de personas mueran cada año; de éstos, un 90% son niños menores de cinco años. Cada año se producen 396 millones de casos de paludismo. La mayor parte de la carga de morbilidad se registra en el África, al sur del Sahara. La intensificación de la

irrigación, las presas y otros proyectos relacionados con el agua contribuyen de forma importante a esta carga de morbilidad. (Cabezas 2010 [http://181.177.232.117/anc\\_j28.1/images/stories/agua/cesarcabezas.pdf](http://181.177.232.117/anc_j28.1/images/stories/agua/cesarcabezas.pdf))

- **Esquistosomiasis**

Se calcula que 160 millones de personas padecen esquistosomiasis. La enfermedad causa decenas de miles de defunciones cada año, principalmente en el África subsahariana.

Está estrechamente relacionada con la falta de higiene en la evacuación de excretas y con la falta de servicios cercanos de abastecimiento de agua potable. (Mondaca et.al 2005 [http://181.177.232.117/anc\\_j28.1/images/stories/agua/cesarcabezas.pdf](http://181.177.232.117/anc_j28.1/images/stories/agua/cesarcabezas.pdf))

- **Helmintiasis intestinales (ascariasis, tricuriasis, anquilostomiasis)**

Son 133 millones de personas que padecen graves infecciones debidas a helmintos intestinales, que a menudo tienen consecuencias graves como alteraciones cognitivas, disentería importante o anemia. Esas enfermedades causan unas 9400 defunciones cada año.(Tobergte et.al 2013 [http://181.177.232.117/anc\\_j28.1/images/stories/agua/cesarcabezas.pdf](http://181.177.232.117/anc_j28.1/images/stories/agua/cesarcabezas.pdf))

- **Shigelosis**

Aunque la mayoría de Shigelosis se transmiten por alimentos o por contagio de persona a persona, también pueden ser vehiculadas por el agua potable. Los brotes ocurren como consecuencia de la interrupción accidental del tratamiento del agua, la contaminación de un buen suministro de agua por excretas transportadas por inundaciones, por suministro de agua no tratada, por conexiones cruzadas entre conducciones de agua contaminada y de agua potable o por el paso de aguas residuales a los canales de suministro de agua potable.

La metodología para su detección es cualitativa y de baja sensibilidad y las cepas introducidas en el medio hídrico pueden presentar inestabilidad en algunas características bioquímicas. La shigelosis también se llama disentería bacilar o diarrea aguda. Al igual que la fiebre tifoidea, es una afección asociada a higiene deficiente, hacinamiento excesivo y abastecimiento de agua riesgoso. Varias especies del género *Shigella* son patógenas para los humanos.

La shigelosis se caracteriza por espasmos abdominales, diarrea y fiebre después de un periodo de incubación de 1 a 4 días. Los antibióticos como las tetraciclinas y el cloranfenicol o la ampicilina son eficaces en el tratamiento de la disentería bacilar. No se ha tenido tanto éxito en la prevención de infecciones por shigellas como en el control de la fiebre tifoidea. (Tobergte et.al 2013 [http://181.177.232.117/anc\\_j28.1/images/stories/agua/cesarcabezas.pdf](http://181.177.232.117/anc_j28.1/images/stories/agua/cesarcabezas.pdf))

- **Cólera**

Los humanos adquieren el cólera por ingestión de las bacterias conocidas como *Vibrio cholerae*, las cuales pueden estar presentes en aguas salobres y posiblemente las aguas de los estuarios o alimentos contaminados. Es una forma de leve a grave enfermedad diarreica, se asocia con las principales epidemias. Las bacterias ingeridas se multiplican en el intestino delgado y, después de 2 a 5 días, causan espasmos abdominales, náusea, vómito y diarrea abundante que puede ocasionar deshidratación, shock y la muerte.

El cólera es endémico en el estado de Bengala de la India y en Bangladesh, en donde se informa de varios miles de casos cada año. Las áreas donde el cólera permanece endémico son típicamente tierras. (Tobergte et.al 2013 [http://181.177.232.117/anc\\_j28.1/images/stories/agua/cesarcabezas.pdf](http://181.177.232.117/anc_j28.1/images/stories/agua/cesarcabezas.pdf))

- **Fiebre tifoidea y paratifoidea**

La fiebre tifoidea, también denominada tifus, fiebre entérica, es una enfermedad infecciosa producida por algunos serotipos de *Salmonella* entérica, como typhi o bacilo de *Eberth*. Su reservorio es el hombre, y el mecanismo de contagio es fecal-oral, a través de agua y de alimentos contaminados con deyecciones.

La fiebre paratifoidea es una fiebre continua con síntomas muy parecidos o idéntico a los de la fiebre tifoidea. Es producida por *Salmonellas*, de las que se distinguen tres tipos:

- Fiebre paratifoidea A: producida por la *S. paratyphi*
- Fiebre paratifoidea B: producida por la *S. schottmüller*
- Fiebre paratifoidea C: producida por la *S. hirschfeldi*

La forma más frecuente de transmisión es la ingestión de alimentos o de agua contaminada por heces humanas; se observan brotes transmitidos por el agua debidos a saneamiento deficiente y a transmisión fecal-oral directa por la mala higiene personal, especialmente en países en vías de

desarrollo. Se inicia con malestar general, debilidad, pérdida de apetito, dolor de cabeza y estreñimiento. (Molinao 2012. (Molinao 2012 <http://www.laanunciataikerketa.com/trabajos/microorganismos/enfer.pdf>)

**Tabla 7-1** Patógenos y enfermedades de origen hídrico

<b>Patógenos</b>	<b>Enfermedad causada</b>
<b>Bacterias</b>	
<i>Campylobacter jejuni</i>	Gastroenteritis
<i>Escherichia coli</i>	Gastroenteritis
<i>Legionella pneumophila</i>	Enfermedades respiratorias agudas
<i>Salmonella</i>	Salmonelosis, tifoidea, paratifoidea
<i>Shigella</i>	Disentería bacilar
<i>Vibrio cholerae</i>	Cólera
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Gastroenteritis
<b>Protozoarios</b>	
<i>Cryptosporidium</i>	Diarrea
<i>Entamoeba histolytica</i>	Disentería amibiana
<i>Giardia lamblia</i>	Diarrea
<i>Naegleria fowleri</i>	Meningitis cefálica
<b>Enterovirus</b>	
<i>Adenovirus</i>	Enfermedades respiratorias, infecciones en los ojos, gastroenteritis
<i>Astrovirus</i>	Gastroenteritis
<i>Calicivirus</i>	Gastroenteritis
<i>Coxsackievirus A</i>	Meningitis, enfermedades respiratorias, miocarditis
<i>Echovirus</i>	Meningitis, diarrea, fiebre, enfermedades respiratorias
<i>Hepatitis A viral</i>	Infecciones hepáticas
<i>Norwalk virus</i>	Diarrea, vómito y fiebre
<i>Poliovirus</i>	Meningitis, parálisis
<i>Rotavirus</i>	Diarrea, vómitos

Fuente: (Bermello et.al 2013 <https://law.resource.org/pub/ec/ibr/ec.nte.2200.2008.pdf>.)

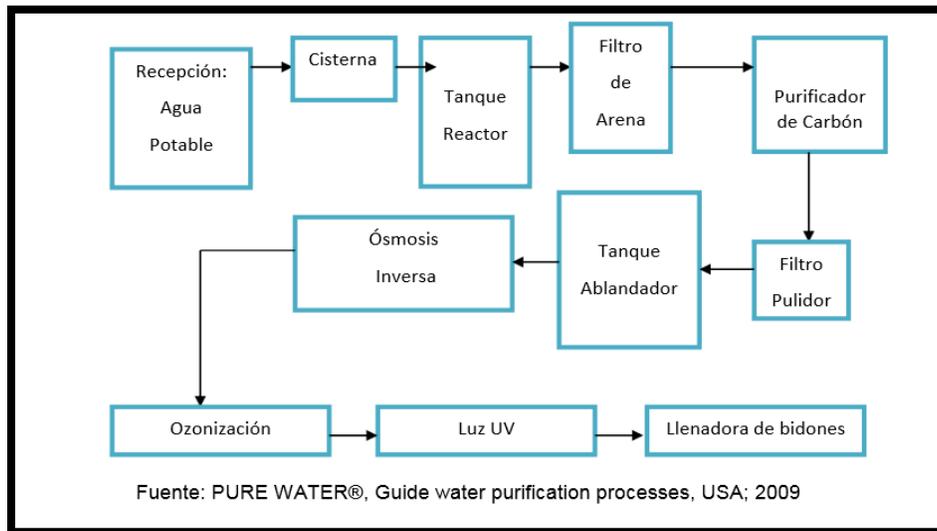
#### 1.2.4. Procedimientos para la producción de aguas embotelladas

Para cumplir con los estándares de calidad de agua purificada y envasada, el agua potable como materia prima debe pasar por una serie de filtros y procesos, con el objetivo de brindar características organolépticas, físico-químicas y microbiológicas adecuadas para su consumo. (Rivera et.al. 2014 <http://es.slideshare.net/pichonypichona/procesos-de-campos-tecnologicos>.)

- a. **Recepción de agua potable.-** Se recibe el agua potable, suministrada por la red municipal. La cual llega con una elevada carga mineral, lo cual justifica su purificación para el consumo humano. Esta agua se capta en tanques de polietileno, los cuales se lavan y sanitizan periódicamente. (Nestle Waters North America 2015 [http://www.nestle-watersna.com/asset-library/documents/pl\\_esp.pdf](http://www.nestle-watersna.com/asset-library/documents/pl_esp.pdf).)
- b. **Bombeo a los equipos de filtración.-** El agua se suministra a los equipos de filtración mediante de una bomba sumergible, la cual es muy silenciosa proporciona el caudal y la presión necesarios para llevar a cabo eficientemente la filtración.
- c. **Filtro de sedimentos.-** Este filtro detiene las impurezas grandes (sólidos hasta 30 micras) que trae el agua al momento de pasar por las camas de arena. Este filtro se regenera periódicamente; retro lavándose a presión, para desalojar las impurezas retenidas.
- d. **Filtro de carbón activado.-** El agua se conduce por columnas con Carbón Activado. Este carbón activado elimina eficientemente el cloro, sabores y olores característicos del agua de pozo, además de una gran variedad de contaminantes químicos orgánicos, tales como: pesticidas, herbicidas, metilado de mercurio e hidrocarburos clorinados.
- e. **Suavizador.-** Este filtro remueve del agua minerales disueltos en la forma de Calcio, Magnesio, y Hierro. La remoción de estos minerales se logra por medio de un proceso de intercambio iónico al pasar el agua a través del tanque de resina. El suavizador disminuye las sales disueltas antes de pasar al equipo de osmosis inversa.
- f. **Sistema de osmosis inversa.-** La osmosis inversa separa los componentes orgánicos e inorgánicos del agua por el uso de presión ejercida en una membrana semipermeable mayor que la presión osmótica de la solución. La presión forza al agua pura a través de la membrana semipermeable, dejando atrás los sólidos disueltos. El resultado es un flujo de agua pura, esencialmente libre de minerales, coloides, partículas de materia y bacterias.
- g. **Captación de agua purificada.-** El agua ya purificada se almacena en otro tanque de polietileno.

- h. **Bombeo final.**- El agua purificada se bombea mediante un equipo hidroneumático a la lámpara de luz ultravioleta, luego al filtro pulidor y finalmente a los llenadores.
- i. **Esterilizador de luz ultravioleta.**- Funciona como germicida, anula la vida de las bacterias, gérmenes, virus, algas y esporas que vienen en el agua. Los microorganismos no pueden proliferarse ya que mueren al contacto con la luz.
- j. **Filtro pulidor.**- La función de este filtro es de detener las impurezas pequeñas (sólidos hasta 5 micras). Los pulidores son fabricados en polipropileno grado alimenticio (FDA). Después de este paso se puede tener un agua brillante, cristalina y realmente purificada.
- k. **Lavado exterior.**- De manera muy independiente se lleva a cabo el proceso de recepción, y lavado exterior del garrafón, el cual se lleva a cabo por medios mecánicos, jabón biodegradable y agua suavizada.
- l. **Lavado interior.**- Después del lavado exterior, se somete el interior del garrafón a una pulverización con vapor de agua suavizada y se lava interiormente mediante una solución sanitizante a presión y se enjuaga mediante agua suavizada a presión.
- m. **Llenado.**- Finalmente se llena el garrafón, se pone una tapadera nueva, se seca y se entrega al cliente. (Rivera et. al. 2014 [http://es.slideshare.net/pichonypichona/procesos-de-campos-tecnologicos.](http://es.slideshare.net/pichonypichona/procesos-de-campos-tecnologicos))

**Figura 2-1** Procedimientos para la obtención de aguas embotelladas



**Fuente:** (SlideShare 2012 ,<http://es.slideshare.net/hahimive/agua-de-mesa-15597414>.)

#### *1.2.4.1. Requisitos sanitarios de las plantas y proceso de las envasadoras de agua*

- La planta deberá ser construida de manera tal que los pisos, paredes y techos puedan ser limpiados adecuadamente y mantenidos en buenas condiciones sanitarias.
- La planta deberá contar con espacio suficiente para almacenamiento de equipos, envases y otros materiales, así como también deben estar alejado de las paredes.
- La planta debe ser ventilada para minimizar los olores, gases o vapores tóxicos y condensación en el procesamiento, embotellamiento y en los recintos para el lavado y el saneamiento de recipientes, impidiendo la entrada de humo, polvo, vapores u otros.
- Con iluminación adecuada, protegidas sobre las áreas de procesamiento. El alumbrado no deberá alterar los colores.
- La planta deberá tener malla milimétrica de manera tal que impida la entrada de animales, insectos, roedores y/o plagas.
- Las instalaciones para lavarse las manos, deberán disponer de medios adecuados y en buen estado para lavarse y secarse las manos higiénicamente, con lavamanos y abastecimiento de agua caliente y/o fría (o con la temperatura debidamente controlada).
- Los vestidores y comedor para los trabajadores se ubicarán separados de las operaciones de la planta y áreas de almacenamiento.
- El llenado, tapado, cerrado, sellado y empacado de los envases debe ser hecho de manera higiénica para no producir contaminación del agua envasada.

- Los tanques de almacenamiento deben estar provistos de tapas para evitar la introducción de cualquier materia extraña. Las conexiones hacia las tuberías deberán estar provistas de filtros fácilmente limpiables o reemplazables.
- La limpieza y sanitización de los utensilios y equipos deberán ser conducidos de tal manera que protejan contra la contaminación del agua, superficies de contacto o material de empaque.
- Se usarán envases y tapones no tóxicos. Todos los depósitos y tapones deben ser inspeccionados para asegurarse que están libres de contaminación.
- Efectuar monitoreo de llenado, tapado y sellado por inspección visual o electrónica de los recipientes.
- La planta debe registrar y mantener la información en cuanto al producto, volumen de producción del lote y distribución del producto terminado, para asegurarse que la producción de agua envasada está conforme a las especificaciones de calidad descrito en la presente norma.
- No deberá depositarse ropa, ni objetos personales en la zona de procesamiento.
- Efectuar monitoreo de la calidad del agua envasada después del procesamiento y antes del embotellamiento, para asegurar la uniformidad y efectividad del proceso de tratamiento.
- Todos los recipientes defectuosos o no higiénicos deberán ser descartados.
- Los recipientes utilizados como envase primario deberán ser lavados, saneados e inspeccionados antes de comenzar a ser llenados, tapados y sellados. (FAO y OMS 2007, [ftp://ftp.fao.org/codex/Publications/Booklets/Waters/Waters\\_2007\\_ES.pdf](ftp://ftp.fao.org/codex/Publications/Booklets/Waters/Waters_2007_ES.pdf).)

### ***1.2.5. Distribuidoras y comercializadoras de aguas purificadas en la Ciudad de Riobamba***

#### ***1.2.5.1. Agualuz***

Agua Natural Purificada libre de bacterias, algas, microorganismos, cloro y minerales. Mensualmente realiza análisis de su producto mediante CESTTA (Centro de Servicios Técnicos y Transferencia Tecnológica Ambiental) con el fin de proporcionar un producto apto para el consumo, cumpliendo con la norma Técnica Ecuatoriana NT INEN 2 200:2008 de Agua Purificada Envasada.

Debido a que el agua potable de la Ciudad de Riobamba proviene del caudal del Chimborazo, existía una creencia popular de que su agua tiene bondades milagrosas y siendo sumamente valorada por gente de otras provincias, adquiriéndola por galones con el fin de lavarse la cara por

las noches; es por esto que su gente no veía la necesidad de adquirir agua purificada. Por lo contrario, estadísticas médicas datan, que en la Provincia de Chimborazo se presenta más casos de cálculos renales en sus habitantes por la excesiva cantidad de minerales existentes en su agua potable. Por consecuente, Distribamba emprende la distribución de “Aqualuz Agua Natural Purificada”, producto elaborado sin presencia de minerales. (DISTRIBAMBA 2008, <http://distribamba.com/aqualuz.html>.)

- **Presentaciones:** Aqualuz pone a disposición de su clientela sus diferentes productos:
  - ✓ Botellón (20 litros)
  - ✓ Botella personal (500 cc)
  - ✓ Galones (5 litros)
  - ✓ Dispensadores cerámicos y plásticos
  - ✓ Válvulas americanas y colombianas
- **Pretratamiento:** Ablandamiento, Filtración, Ultra Violeta
- **Tratamiento:** Microfiltración Ultra Violeta, Osmosis Inversa, Ozono. (DISTRIBAMBA 2008)

#### *1.2.5.2. Water Live*

Elaboración, comercialización y distribución de bebidas no alcohólicas, bajo la Norma Ecuatoriana NTE INEN 2200-2008.

- **Presentaciones:**
  - ✓ Water live botellón de agua de 20 (litros)
  - ✓ Water live Agua (500 cc)
  - ✓ Water live Agua 1 (litro)
  - ✓ Water live Agua 5 (litros)
- **Tipo de tratamiento:** Purificada con filtración por carbón Activado Ozonificada y Luz Ultravioleta.

#### *1.2.5.3. Aquazul*

Riobamba le da un valor agregado, pues nuestra agua purificada contiene electrolitos como Calcio, Magnesio, Sodio, Potasio, Bicarbonatos, etc. Elementos que son necesarios para el metabolismo celular que nuestro cuerpo necesita para funcionar correctamente, certificado por un laboratorio

acreditado, sistema de purificación por membrana, bajo las Norma Ecuatoriana NTE INEN 2200-2008.

#### *1.2.5.4. Bbwater Agua*

Con tecnología de Punta, maquinaria americana, con un Registro Sanitario N° 9973-ALN -0516

- **Presentaciones**

- ✓ Bbwater Botellón de agua de 20 (litros)
- ✓ Bbwater Agua (500 cc)
- ✓ Bbwater Agua 1 (litro)

- **Tratamiento:** Filtrado, Ultra Violeta, ozonizado, osmosis inversa

#### *1.2.5.5. Agua Chimborazo*

Agua Natural Purificada, bajo las Norma Ecuatoriana NTE INEN 2200-2008, con un Registro Sanitario N° 08706INHQAN1207

- **Presentaciones**

- ✓ Agua Chimborazo Botellón de 18 (litros)
- ✓ Agua Chimborazo (500 cc).

- **Tratamiento:** Ablandamiento, filtración, ozonización, carbón activado, osmosis inversa, ultravioleta.

## **CAPÍTULO II**

### **2. MARCO METODOLÓGICO**

#### **2.1. Lugar de Investigación**

La investigación se llevó a cabo en la ciudad de Riobamba, provincia de Chimborazo, siendo de tipo investigativo al no poseer variables manipulables, utilizando 10 marcas de aguas embotelladas, los distintos análisis bacteriológicos fueron desarrollados en el laboratorio Microbiológico de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia.

#### **2.2. Unidad de Análisis**

La unidad de análisis fue el agua embotellada comercializada en la ciudad de Riobamba.

#### **2.3. Población de Estudio**

Se efectuaron los análisis microbiológicos en 10 marcas de agua embotellada de 500 mL (sin gas), en las que realizaron tres muestreos en distintas fechas, con la finalidad de reunir la mayor cantidad de datos posibles y así al finalizar la investigación reportar datos mucho más confiables. Cada botella de agua presentaba lotes diferentes, las mismas que fueron codificadas para una mejor identificación al momento de realizar los análisis microbiológicos requeridos por la norma NTE INEN 2 200:2008, coliformes totales, coliformes fecales y aerobios Mesófilos.

La investigación se realizó durante el periodo comprendido entre Abril a Junio del 2016, con un lapso de 21 días por muestreo. Finalmente los resultados obtenidos fueron comparados con los datos que exige la normativa NTE INEN 2 200:2008.

**Tabla 1-2** Fechas de los Muestreos Realizados

<b>Nº de Muestreo</b>	<b>1<sup>er</sup> Muestreo</b>	<b>2<sup>do</sup> Muestreo</b>	<b>3<sup>er</sup> Muestreo</b>
<b>Muestras de Agua</b>	T11,T21,T31,T41,T51,T61,T71,T81,T91,T101	T12,T22,T32,T42,T52,T62,T72,T82,T92,T102	T13,T23,T33,T43,T53,T63,T73,T83,T93,T103
<b>Fecha</b>	22 de Abril del 2016	13 de Mayo del 2016	3 de Junio del 2016

Realizado por: Sandy Arteaga 2016

### **2.3.1. Tamaño de la Muestra**

El tamaño de la muestra fue de 1 unidad de 500 mL de agua sin gas por marca, con una diferencia de 21 días para cada muestreo, por tres ocasiones.

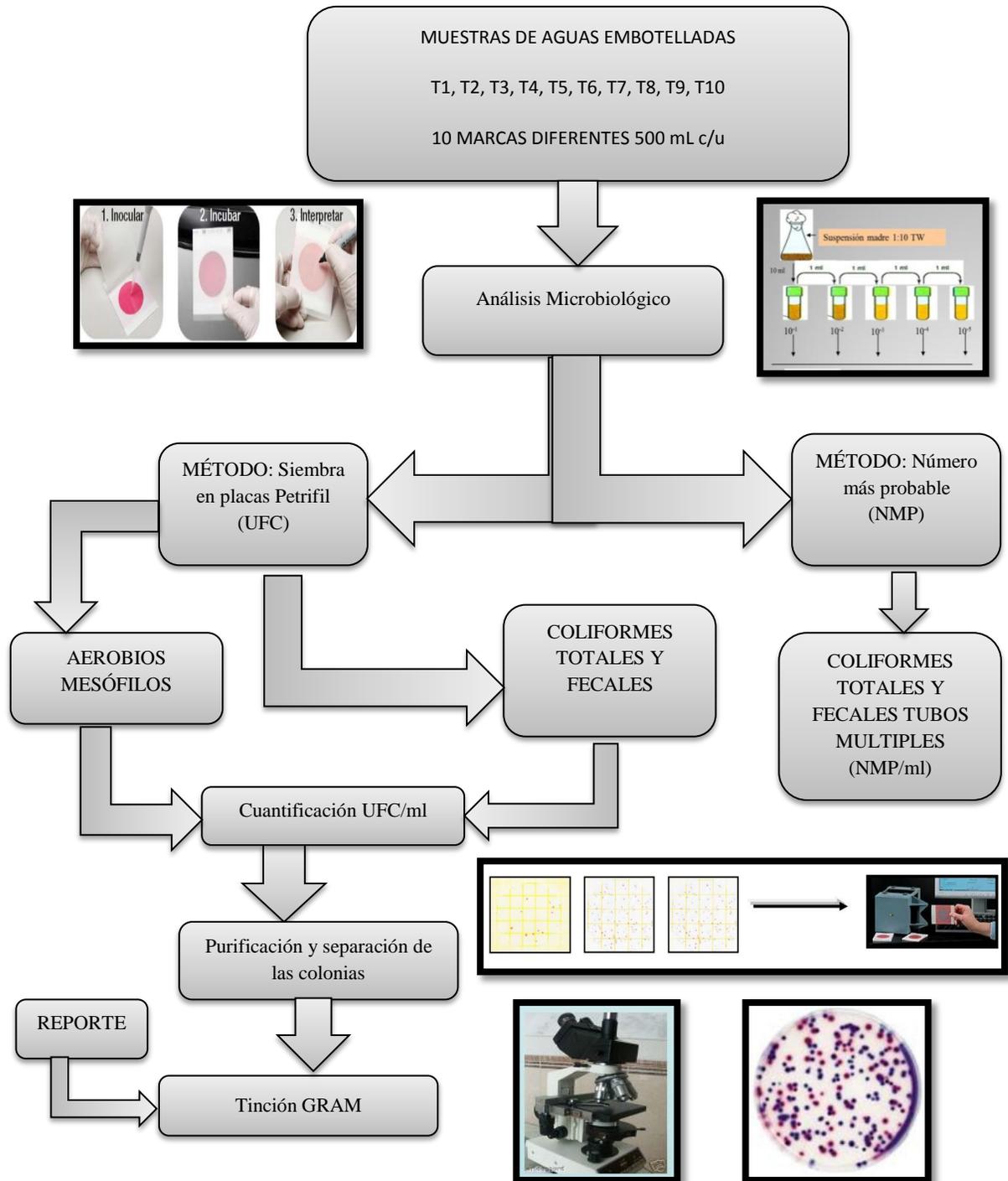
**Tabla 2-2** Muestreo de las diferentes marcas de agua embotellada

<b>Muestras</b>	<b>Total de Muestras por marca de agua</b>	<b>Número de Repeticiones por muestra (Petrifilm UFC)</b>	<b>Repeticiones Aerobios Mesófilos (Petrifilm UFC)</b>	<b>Repeticiones Coliformes Fecales/ Coliformes Totales ( Petrifilm UFC)</b>	<b>Número de Repeticiones por muestra (NMP)</b>	<b>Repeticiones Coliformes Fecales / Coliformes Totales (NMP)</b>
<b>T1</b>	3	3	9	9	1	3
<b>T2</b>	3	3	9	9	1	3
<b>T3</b>	3	3	9	9	1	3
<b>T4</b>	3	3	9	9	1	3
<b>T5</b>	3	3	9	9	1	3
<b>T6</b>	3	3	9	9	1	3
<b>T7</b>	3	3	9	9	1	3
<b>T8</b>	3	3	9	9	1	3
<b>T9</b>	3	3	9	9	1	3
<b>T10</b>	3	3	9	9	1	3
<b>Total</b>	30	30	90	90	10	30

Realizado por: Sandy Arteaga ,2016

## 2.4. Flujograma de Trabajo

**Figura 1-2** Metodología para el análisis Microbiológico de las aguas embotelladas expendidas en la ciudad de Riobamba



Realizado por: Sandy Arteaga 2016

## **2.5. Codificación e Identificación de las Muestras**

Las 30 aguas embotelladas analizadas fueron codificadas e identificadas de acuerdo a la fecha de muestreo, las repeticiones y la marca, para un mejor reconocimiento de cada una de ellas. De acuerdo a lo anteriormente dicho las muestras se especifican con 3 elementos, la letra T y dos números; para la primera muestra la categorización sería T11, para la segunda muestra T21, continuando una secuencia lógica, estableciendo que es por triplicado los diferentes análisis.

### **2.5.1. Registro de las Muestras**

Posteriormente a la toma de las muestras, se debe proceder al registro pertinente de las muestras, para lo cual se colocaron en las botellas una etiqueta, tomando como fundamento principal la Norma NTE INEN 2176: 1998, denominada “Agua. Calidad del Agua. Muestreo”, en la sección sobre las Técnicas de Identificación y Registros de muestreo que menciona los siguientes datos en el informe de muestreo. (NTE INEN ,1998, <https://law.resource.org/pub/ec/ibr/ec.nte.2176.1998.pdf>.)

- a)** Localización (y nombre) del lugar de procedencia y cualquier Información relevante de la localización;
- b)** Referencias del punto de muestreo;
- c)** Nombre del recolector;
- d)** Hora de la recolección;
- e)** Método de recolección;
- f)** Fecha de la recolección;
- g)** Datos recogidos en el campo
- h)** Condiciones atmosféricas.

**Tabla 3-2** Codificación, Identificación y Registros de las Muestras

<b>Código</b>	<b>Lugar de Origen</b>	<b>Contenido Neto</b>	<b>Lugar de Muestreo (Riobamba)</b>	<b>Hora de Muestreo</b>
<b>T11,T12,T13 T14,T15,T16 T17,T18,T19</b>	Machachi	500 mL	Súper Mercados Tía	9:00 am
			Súper Mercados Akí	9:00am
			Hipermaxi	9:00am
<b>T21,T22,T23 T24,T25,T26 T27,T28,T29</b>	Guayaquil	500 mL	Súper Mercados Mi Canasta	9:12am
			Súper Mercados Dicosavi	9:15am
			Súper Mercados Tía	9:10am
<b>T31,T32,T33 T34,T35,T36 T37,T38,T39</b>	Guayaquil	500 mL	Súper Mercados AhíEs	9:25am
			Súper Maxi	9:40am
			Súper Mercados Tía	9:28am
<b>T41,T42,T43 T44,T45,T46 T47,T48,T49</b>	Sangolquí	500 mL	Súper Maxi	9:45am
			Súper Mercados La Ibérica	10:22am
			Súper Mercados Akí	9:48am
<b>T51,T52,T53 T54,T55,T56 T57,T58,T59</b>	Machachi	500 mL	Súper Mercados Dicosavi	10:00am
			Hipermaxi	10:40am
			Súper Mercados Tía	10:10am
<b>T61,T62,T63 T64,T65,T66 T67,T68,T69</b>	Quito	500 mL	Súper Mercados Agrovid	10:15am
			Súper Mercados Tía	11:00am
			Súper Mercados AhíEs	10:27am
<b>T71,T72,T73</b>	Cuenca		Súper Mercados	10:26am

<b>T74,T75,T76</b> <b>T77,T78,T79</b>		500 mL	La Ibérica	
			Súper Mercados Tía	11:03am
			Súper Mercado Disprova	10:45am
<b>T81,T82,T83</b> <b>T84,T85,T86</b> <b>T87,T88,T89</b>	Sangolquí	500 mL	Súper Mercados Akí	10:48am
			Súper Mercados Mi Canasta	11:15am
			Súper Mercados Disprova	10:47am
<b>T91,T92,T93</b> <b>T94,T95,T96</b> <b>T97,T98,T99</b>	Guayaquil	500 mL	Súper maxi	11:05am
			Súper Mercado Agrovid	11:28am
			Hiperemaxi	11:00am
<b>T101,T102,T103</b> <b>T104,T105,T106</b> <b>T107,T108,T109</b>	Riobamba	500 mL	Empresa Agua Luz	11:30amm
			Empresa Agua Luz	11:53am
			Empresa Agua Luz	11:23am
<b>NOTA:</b> El primer número corresponde a la muestra de una marca, el segundo a la repetición, relacionándose con la fecha de muestreo				

Realizado por: **Sandy Arteaga 2016**

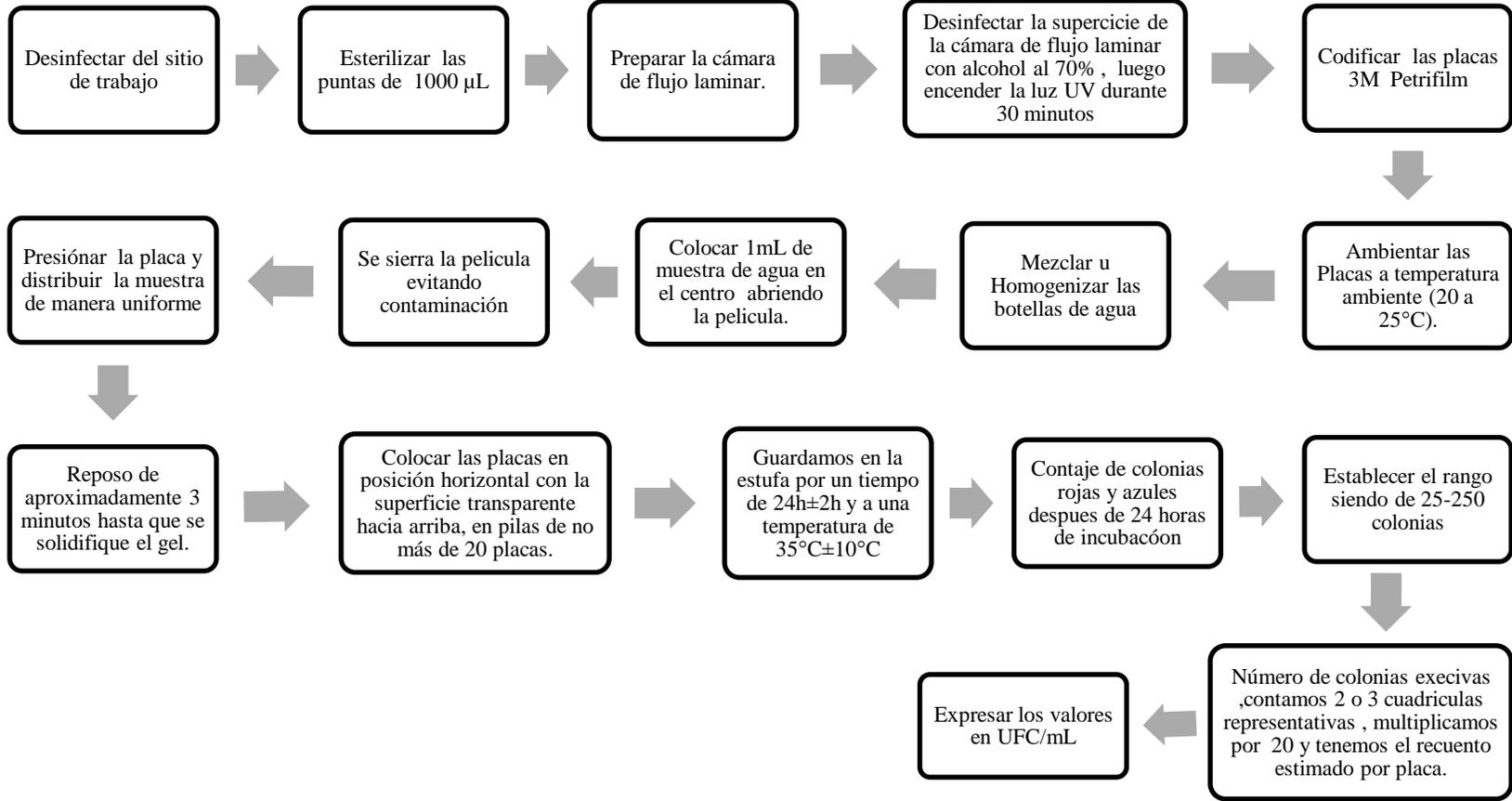
## **2.6. Análisis de Muestras**

### **2.6.1. Análisis Microbiológico**

#### *2.6.1.1. Determinación de Coliformes totales y fecales por el método placas Petrifilm TM*

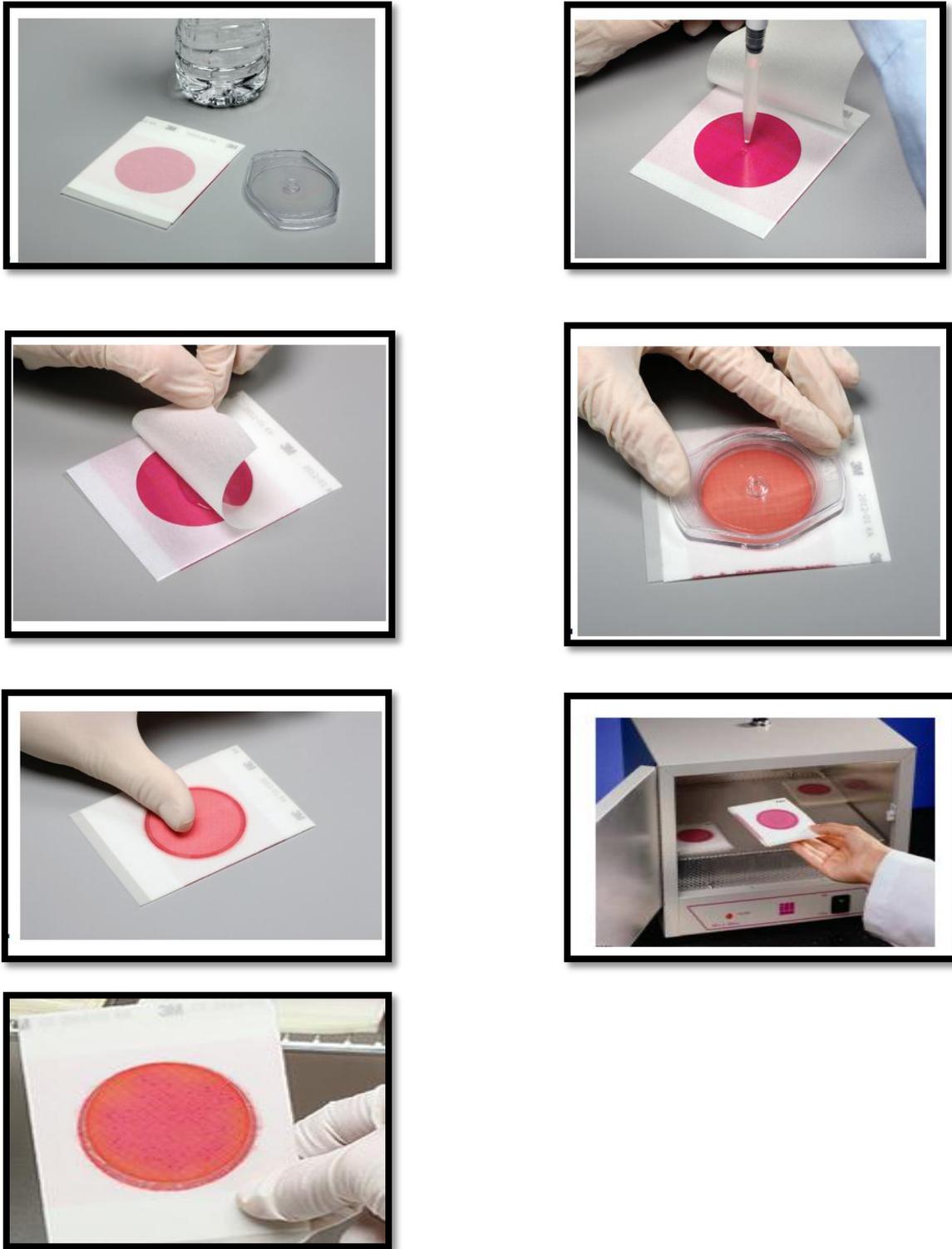
Las placas Petrifilm TM contienen los nutrientes del Violeta Rojo Bilis (VRB) modificado, un agente gelificante soluble en agua fría y un indicador de tetrazolio que facilita la enumeración de colonias. El film superior atrapa el gas producido por la fermentación de la lactosa por los coliformes. (3M Microbiology 2003, [http://jornades.uab.cat/workshopmrama/sites/jornades.uab.cat/workshopmrama/file/Petrfilm\\_guias.pdf](http://jornades.uab.cat/workshopmrama/sites/jornades.uab.cat/workshopmrama/file/Petrfilm_guias.pdf).)

**Esquema 1-2 Determinación de coliformes totales y fecales por el método Petrifilm**



Realizado por: Sandy Arteaga 2016

**Figura 2-2** Procedimiento para análisis de Coliformes Totales y Fecales



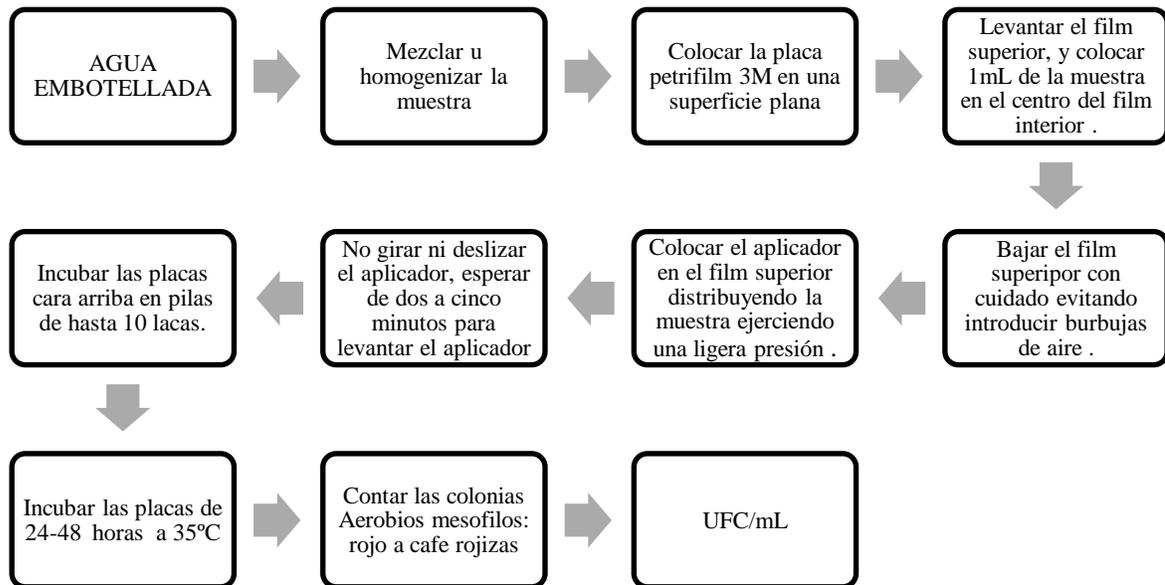
**Fuente:** (3M Microbiology 2003, [http://jornades.uab.cat/workshopmramas/sites/jornades.uab.cat/workshopmrama/files/Petrfilm\\_guias.pdf](http://jornades.uab.cat/workshopmramas/sites/jornades.uab.cat/workshopmrama/files/Petrfilm_guias.pdf).)

2.6.1.2. *Determinación de Aerobios Mesófilos por el método placas Petrifilm 3M™*

Las Placas Petrifilm para Recuento de Aerobios (Aerobic Count AC) son un medio de cultivo listo para ser empleado, contiene nutrientes del Agar Standard Methods, un agente gelificante soluble en agua fría, y un tinte indicador de color rojo que facilita el recuento de las colonias.

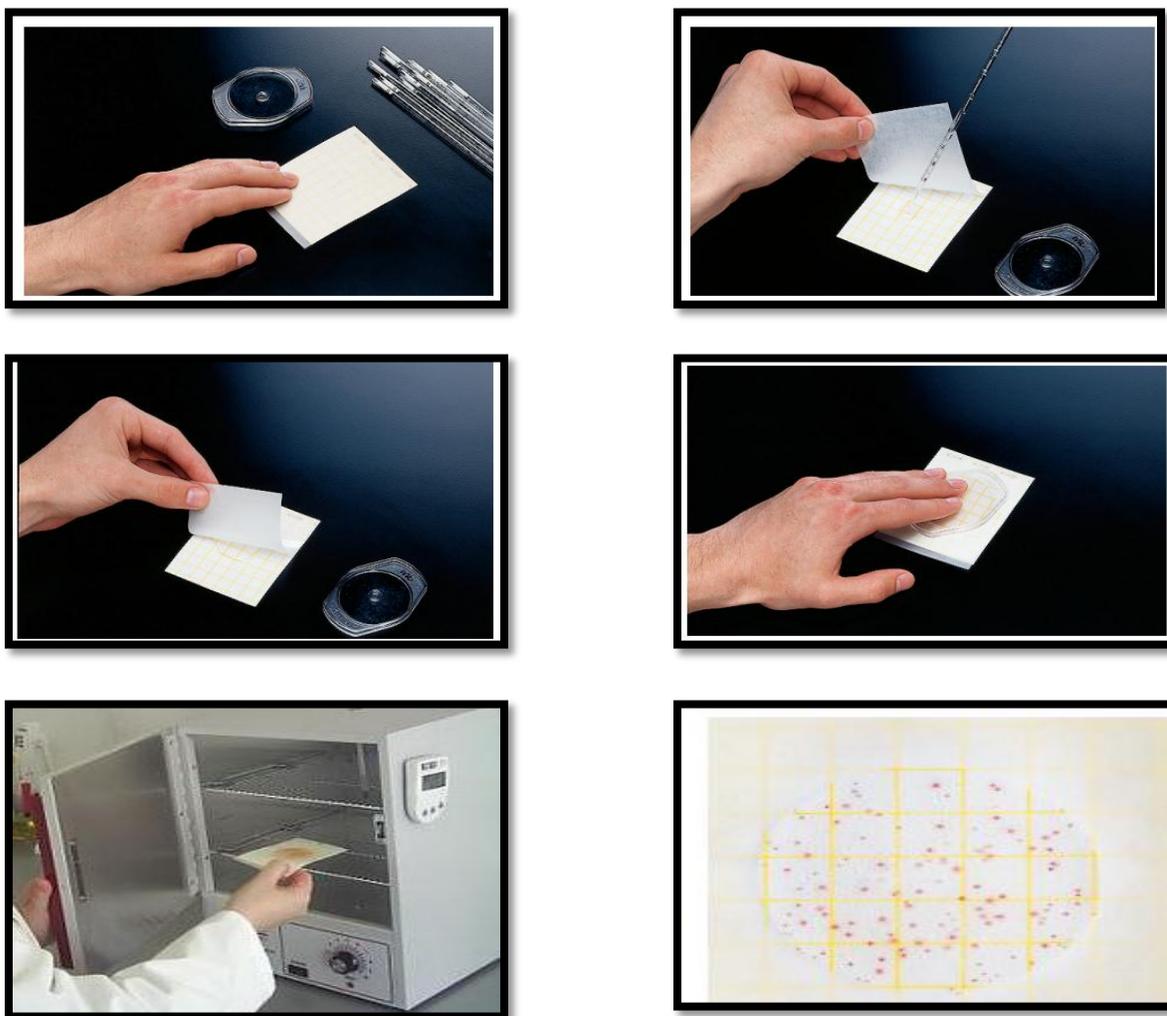
Las Placas Petrifilm AC se utilizan para el recuento de la población total existente de bacterias aerobias en productos, superficies, alimentos, bebidas etc. (3M Microbiology 2006 [http://jornades.uab.cat/workshopmrama/sites/jornades.uab.cat/workshopmrama/files/Petrifilm\\_guias.pdf](http://jornades.uab.cat/workshopmrama/sites/jornades.uab.cat/workshopmrama/files/Petrifilm_guias.pdf))

**Esquema 2-2 Técnica 3M Petrifilm para Aerobios Mesófilos**



Realizado Por: Sandy Arteaga 2016

**Figura 3-2** Procedimientos para análisis de Aerobios Mesófilos



Fuente: (3M Microbiology 2003, [http://jornades.uab.cat/workshopmrama/sites/jornades.ua.cat/workshopmrama/files/Petrifilm\\_guias.pdf](http://jornades.uab.cat/workshopmrama/sites/jornades.ua.cat/workshopmrama/files/Petrifilm_guias.pdf))

### **2.6.2. Cuantificación de los microorganismos Aerobios Mesófilos**

Para la cuantificación de microorganismos Aerobios Mesófilos en placa Petrifilm 3M<sup>TM</sup> se realizó las siguientes consideraciones:

- Puede ser contada toda la placa Petrifilm 3M<sup>TM</sup> o por cuadrante
- El tinte indicador rojo encontrado en la placa Petrifilm 3M<sup>TM</sup> colorea las colonias para una clara y concisa identificación de las bacteria. Se cuenta todas las colonias rojas sin importar su tamaño o la intensidad del tono rojo.
- El rango recomendado de conteo en la Placa Petrifilm 3M<sup>TM</sup> está entre 25- 250 colonias.

- Cuando el número de colonias es mayor a 250, por su excesivo crecimiento, los conteos deben ser estimados. Determinar el promedio de las colonias en un cuadrado ,multiplicar por 20 para obtener el conteo total por placa.
- Aquellas placas que tengas más de 300 colonias se reportan como “Incontables”, ya que existen colonias muy numerosas para contar, es decir son recuentos muy altos.(3M Food Safety 2014 <http://multimedia.3m.com/mws/media/236194O/petrifilm-aerobic-interpretation-guide.pdf>.)

### ***2.6.3. Aislamiento y purificación de las colonias de bacterias Aerobios Mesófilos***

Verificar las placas petrifilm 3M™ donde se toman diferentes colonias para la preparación de colonias puras.

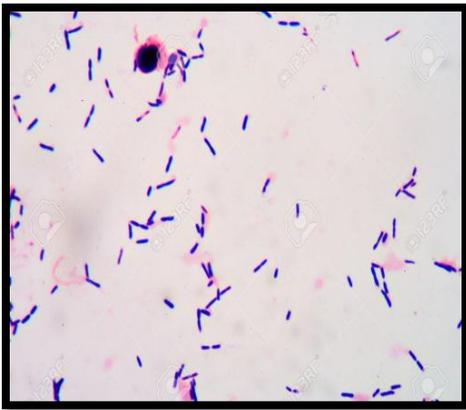
Cuidadosamente abrir el film superior, esterilizar el asa en el fuego hasta que adquiera un rojo encendido, esperar que se enfríe en su totalidad el asa y se procede a tomar las colonias visiblemente diferentes, luego se inocula en el agar mueller hinton, posteriormente se incuba por 24 horas a una temperatura de 35 °C, se observa el crecimiento tomando nuevamente con el asa esterilizada las colonia y se repite la siembra como mínimo unas cuatro veces( repiques)con el mismo procedimiento, obteniendo de tal forma colonias puras de bacterias Aerobios Mesófilos.

### ***2.6.4. Caracterización Microscópica***

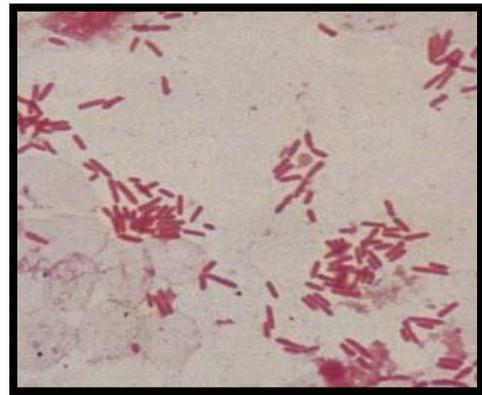
Una vez obtenidas las colonias puras y posteriormente a su aislamiento en el medio Mueller Hinton, se determinan las características de las bacterias encontradas, mediante la observación en el microscopio.

- **Bacilos:** Los bacilos son bacterias que tienen forma de bastón cuando se observan al microscopio. Los bacilos se suelen dividir en:
  - **Bacilos Gram positivos:** fijan el violeta de genciana (tinción de Gram).
  - **Bacilos Gram negativos:** no fijan el violeta de genciana, presentando una coloración rosada.

**Figura 5-2** Bacilos Gram Negativos



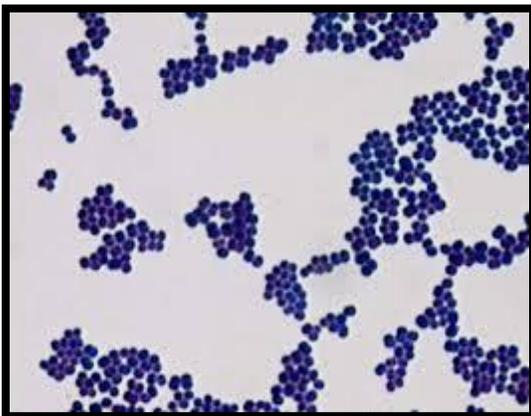
**Figura 4-2** Bacilos Gram Positivos



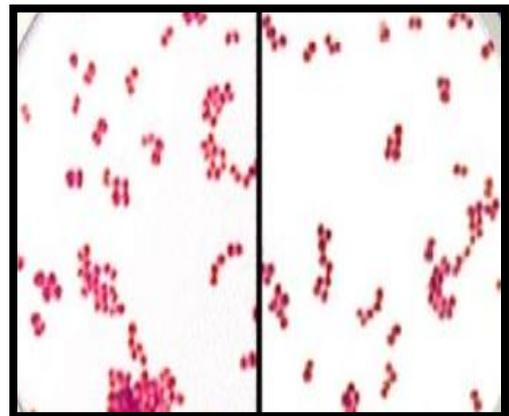
Fuente: (Sanz 2012 <http://asignatura.us.es/mbclinica/docs/practicas/practicas-mbclinica-miercoles-1213.pdf>.)

- **Cocos:** Son bacterias en formas esféricas mirándolos al microscopio los podemos distinguir:
- **Cocos Gram positivos:** fijan el violeta de genciana (tinción de Gram).
- **Cocos Gram negativos:** no fijan el violeta de genciana, presentando una coloración rosada.

**Figura 6-2** Cocos Gram Positivos



**Figura 7-2** Cocos Gram Negativos



Fuente: (SlideShare 2011 <http://es.slideshare.net/Altajimenez/cocos-gram-negativos-seccion-05>)

### 2.6.5. *Tinción Gram*

La tinción de Gram una técnica de coloración y la más conocida , denominada así por el bacteriólogo danés Christian Gram, quien desarrollo esta técnica en 1844. Sobre la base dela tinción de gran, las bacterias se clasifican en dos grupos: gran positivos y gran negativos Las bacterias

Gram positiva y Gram negativas tiñen de forma distintas debido a las diferencias constitutivas en la estructura de sus paredes celulares.

➤ **Extensión:** se limpia un portaobjetos con alcohol y posteriormente se flamea, luego se coloca una gota de suero fisiológico en el centro del porta objetos, con el asa de siembra esterilizada a la llama, se coloca una pequeña cantidad de suspensión de bacterias de una colonia sobre la gota de suero fisiológico, después con el asa se extendió la gota y las bacterias sobre el porta objetos, se fija la muestra en calor, hasta tener la placa con la muestra completamente seca.

➤ **Coloración:** Se aplica a la muestra fijada anteriormente una cantidad del colorante cristal violeta suficiente para cubrir la superficie del extendido durante un minuto y se lava con agua destilada la muestra fijada, seguidamente se aplica lugol (mordiente) sobre toda la superficie del extendido durante un minuto, luego se debe agregar alcohol cetona al 95° para retirar el exceso de colorante (decolorante) por treinta segundos y se lava con agua destilada,

Después se aplica safranina (colorante de contraste) durante un minuto y nuevamente se lava la muestra con agua destilada , luego se deja secar la muestra a temperatura ambiente , colocándola invertida sobre papel, una vez que la preparación está totalmente seca, se coloca una gota muy pequeña de aceite de inmersión y se observa al microscopio.(Buritica et. al. 2012 [http://www.academia.edu/6245506/tinción\\_de\\_gram\\_y\\_observación\\_microscópica.](http://www.academia.edu/6245506/tinción_de_gram_y_observación_microscópica))

Las bacterias GRAM positivas se observan de color violeta, ya que retienen el cristal violeta y las Gram negativas pierden el cristal violeta y por el contraste de la safranina aparecen de color rosa, siendo de tonalidad más tenue al utilizar safranina como colorante de contraste.

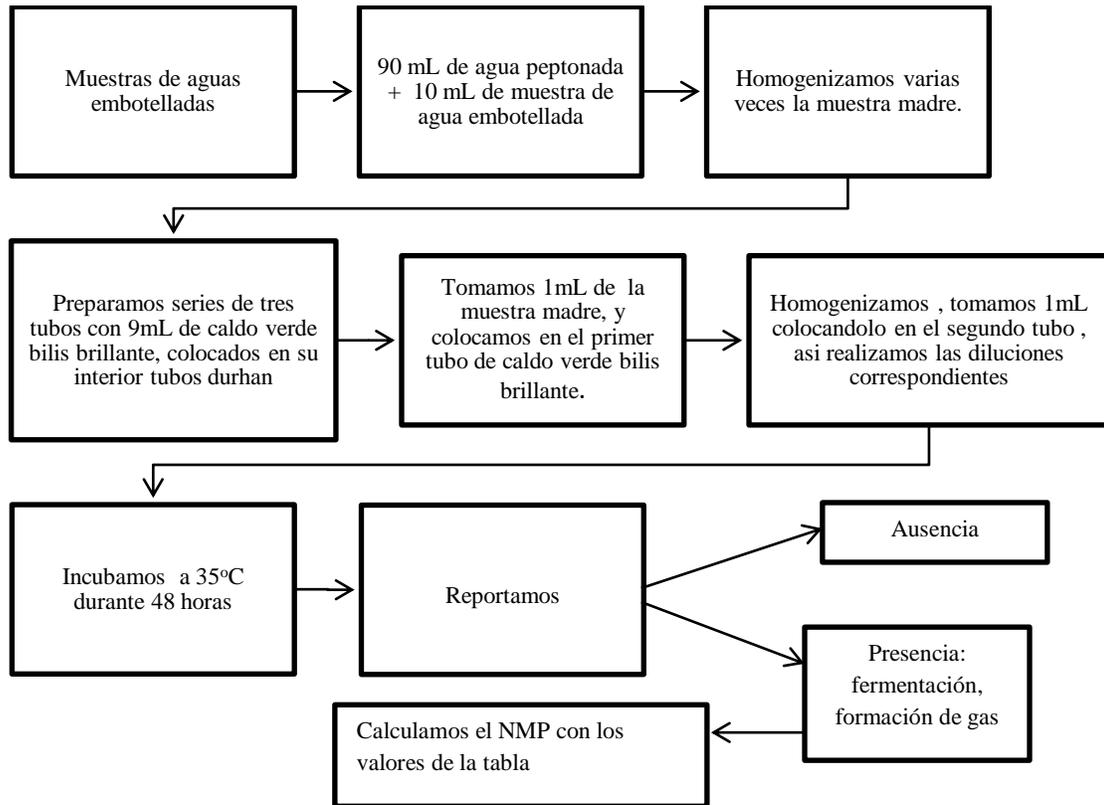
**Figura 8-2** Técnica de Coloración Tinción de GRAM



**Fuente:**(Sanz 2012 <http://asignatura.us.es/mbclinica/docs/practicas/practicas-mbclinica-miercoles-1213.pdf>)

## 2.7. Determinación de microorganismos Coliformes Totales y Fecales por la Técnica del Número más probable (NMP).

Esquema 3-2 Técnica para la determinación de Microorganismos Coliformes Totales-Fecales NMP



Realizado por : Sandy Arteaga 2016

**Tabla 4-2** Índice del NMP de bacterias cuando se utiliza tres alícuotas de 1 cm<sup>3</sup> por dilución.

NUMERO DE TUBOS POSITIVOS EN CADA DILUCION			NMP POR GRAMO O cm <sup>3</sup>	LIMITES DE CONFIANZA DEL 95%		CATEGORIA
DILUCION 10 <sup>-1</sup>	DILUCION 10 <sup>-2</sup>	DILUCION 10 <sup>-3</sup>		INFERIOR	SUPERIOR	
0	0	0	0	-	-	-
0	0	1	3	0,5	9	3
0	1	0	3	0,5	13	2
1	0	0	4	0,5	20	1
1	0	1	7	1	21	3
1	1	0	7	1	23	2
1	1	1	11	3	36	4
1	2	0	11	3	36	3
2	0	0	9	1	36	1
2	0	1	14	3	37	3
2	1	0	15	3	44	2
2	1	1	20	7	89	4
2	2	0	21	4	47	3
2	2	1	28	10	150	4
3	0	0	23	4	120	1
3	0	1	39	7	130	2
3	0	2	64	15	380	4
3	1	0	43	7	210	1
3	1	1	75	14	230	2
3	1	2	120	30	380	3
3	2	0	93	15	380	1
3	2	1	150	30	440	2
3	2	2	210	35	470	3
3	3	0	240	36	1 300	1
3	3	1	460	71	2 400	1
3	3	2	1 100	150	4 800	1

Fuente:(NTE INEN 1990 [ftp://law.resource.org/pub/ec/ibr/ec.nte.1529.6.1990.pdf](http://law.resource.org/pub/ec/ibr/ec.nte.1529.6.1990.pdf).)

### 2.7.1. *Caldo Verde Bilis Brillante*

Este medio está recomendado para el recuento de Coliformes Totales y Fecales, por la técnica del número más probable.

- **Fundamento**

En el medio de cultivo, la peptona aporta los nutrientes necesarios para el adecuado desarrollo bacteriano, la bilis y el verde brillante son los agentes selectivos que inhiben el desarrollo de bacterias Gram positivas y Gram negativas a excepción de coliformes, y la lactosa es el hidrato de carbono fermentable.(Acevedo ,et.al 2015 pp 51-58)

Es una propiedad del grupo coliforme, la fermentación de la lactosa con producción de ácido y gas.

**Tabla 5-2** Fórmula de Caldo Verde Bilis Brillante

<b>Fórmula (en gramos por litro)</b>	
<b>Bilis de buey deshidratada</b>	20.0
<b>Lactosa</b>	10.0
<b>Peptona</b>	10.0
<b>Verde brillante</b>	0.0133
<b>pH final: 7.2 ± 0.2</b>	

Fuente: (DIVICO 2012 <https://es.scribd.com/doc/105162815/Caldo-Bilis-Verde-Brillante>)

### **Preparación**

Rehidratar 40 g del medio en un litro de agua destilada agitando frecuentemente para disolverlo por completo. Distribuir 9mL en tubos de ensayo con campana de Durham. Esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos. (DIVICO 2012 <https://es.scribd.com/doc/105162815/Caldo-Bilis-Verde-Brillante>)

## CAPITULO III

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1. Estudio Microbiológico de las Aguas embotelladas que se expenden en la ciudad de Riobamba

De un total de 30 aguas embotelladas analizadas, 7 botellas presentaron crecimiento microbiano en las placas empleadas 3M Petrifilm para Aerobios Mesófilos. Mientras que para coliformes totales y fecales al 100% cumplieron con la ausencia de dichos organismos como lo establece la Norma NTE INEN 2200-2008. (NTE INEN 2008 <http://law.resource.org/pub/ec/ibr/ec.nte.2200.2008.pdf>).

Como primer paso esencial anterior al estudio microbiológico de las muestras de agua embotellada se creyó fundamental realizar el muestreo siguiendo protocolos, los cuales permitan adecuados procesos para su transportación, segura evitando peligros de contaminación.

Se utilizó como técnicas de Identificación y Registros de muestreo la Norma NTE INEN 2176: 1998, “Agua. Calidad del Agua. Muestreo. Técnicas de muestreo”, CODEX STANDARD 227-2001 “Norma general para las Aguas potables embotelladas/envasadas”; es de trascendental importancia llevar a cabo este proceso ya que nos facilita conocer datos originarios de las muestras analizar, así como también las condiciones bajo las cuales fueron recogidas, realizado esto de manera correcta y específica las muestras nos permiten obtener resultados seguros y confiables de la investigación. (Codex Standar 2001 [http://www.fao.org/input/download/standards/369/CXS\\_227s.pdf](http://www.fao.org/input/download/standards/369/CXS_227s.pdf)). (NTE INEN 1998 <https://law.resource.org/pub/ec/ibr/ec.nte.2176.1998.pdf>)

A continuación se detallan los resultados obtenidos en el trabajo de investigación de las 30 aguas embotelladas utilizadas, las cuales se obtuvieron en el periodo del 22 de Abril al 3 de junio del 2016, siendo los muestreos cada 21 días.

Las aguas que se analizaron fueron de distintos supermercados, los más distintivos de la ciudad de Riobamba, para que la muestra fuera representativa.

Los resultados obtenidos se compararon con la Norma NTE INEN 2200-2008 establecida para agua purificada envasada. Requisitos.

### 3.2. Análisis del parámetro Coliformes Totales/Fecales en las muestras de Aguas Embotelladas

**Tabla 1-3:** Cuantificación de Coliformes Totales y Fecales en las aguas embotelladas analizadas

MUESTRAS	TÉCNICA	RESULTADO	LÍMITE MÁXIMO PARA COLIFORMES FECALES	LÍMITE MÁXIMO PARA COLIFORMES TOTALES
T11-T19	Número más probable (NMP)/Petrifilm UFC	0 NMP/100 mL 0 UFC/100 mL	< 1,8 < 1,0 x10 <sup>0</sup>	< 1,8 < 1,0 x10 <sup>0</sup>
T21-T29				
T31-T39				
T41-T49				
T51-T59				
T61-T69				
T71-T79				
T81-T89				
T91-T99				
T101-T109				
<p><b>NOTA:</b> Los valores &lt; 1,8 y &lt; 1,0 x 10<sup>0</sup> significan ausencia, o no detectables</p> <p><b>T1,T2.....T10,:</b> Codificación para las diferentes marcas de aguas embotelladas, acompañadas por el número de repeticiones</p>				

Realizado por: Sandy Arteaga, 2016

En la Tabla 1-3 se presenta un resumen de los resultados obtenidos para coliformes totales y fecales de los 3 muestreos realizados en la investigación, para ambas técnicas número más probable (NMP) y siembra en placa 3M Petrifilm.

Se muestra los resultados de la técnica número más probable (NMP) en las muestras de aguas embotelladas que fueron seleccionadas para la investigación. En ninguno de los casos se determinó la presencia de coliformes expresando su ausencia como  $\leq 2,2$  NMP/100ml.

En lo concerniente a la siembra en placa 3M Petrifilm se indica que el 100 % de las muestras de agua embotellada cumplieron con el parámetro establecido por la norma que es  $< 1,0 \times 10^0$  UFC/100 mL, o lo que representa ausencia de estos microorganismos.

Se puede notar con claridad en la Tabla 1-3 que las 30 botellas de agua utilizadas en la investigación se muestran aptas para el consumo humano al abordar resultados completamente negativos para coliformes totales y fecales. Debe haber ausencia de coliformes totales inmediatamente después de la desinfección, indicando de tal forma que el tratamiento fue el adecuado. La presencia de los mencionados microorganismos en reservas de agua almacenada puede revelar contaminación por la entrada de materias extrañas, como tierra o plantas. (Arcos et.al. 2005 [http://www.unicolmayor.edu.co/invest\\_nova/nova/artrevis2\\_4.pdf](http://www.unicolmayor.edu.co/invest_nova/nova/artrevis2_4.pdf).)

La ausencia de Coliformes en la investigación realizada de aguas embotelladas, revela procesos adecuados y eficientes de Buenas Prácticas de Higiene (BPH) y Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) durante el tratamiento de las mismas, así como un buen método de cloración, higiene durante el transcurso de envasado, almacenamiento, distribución y filtración.

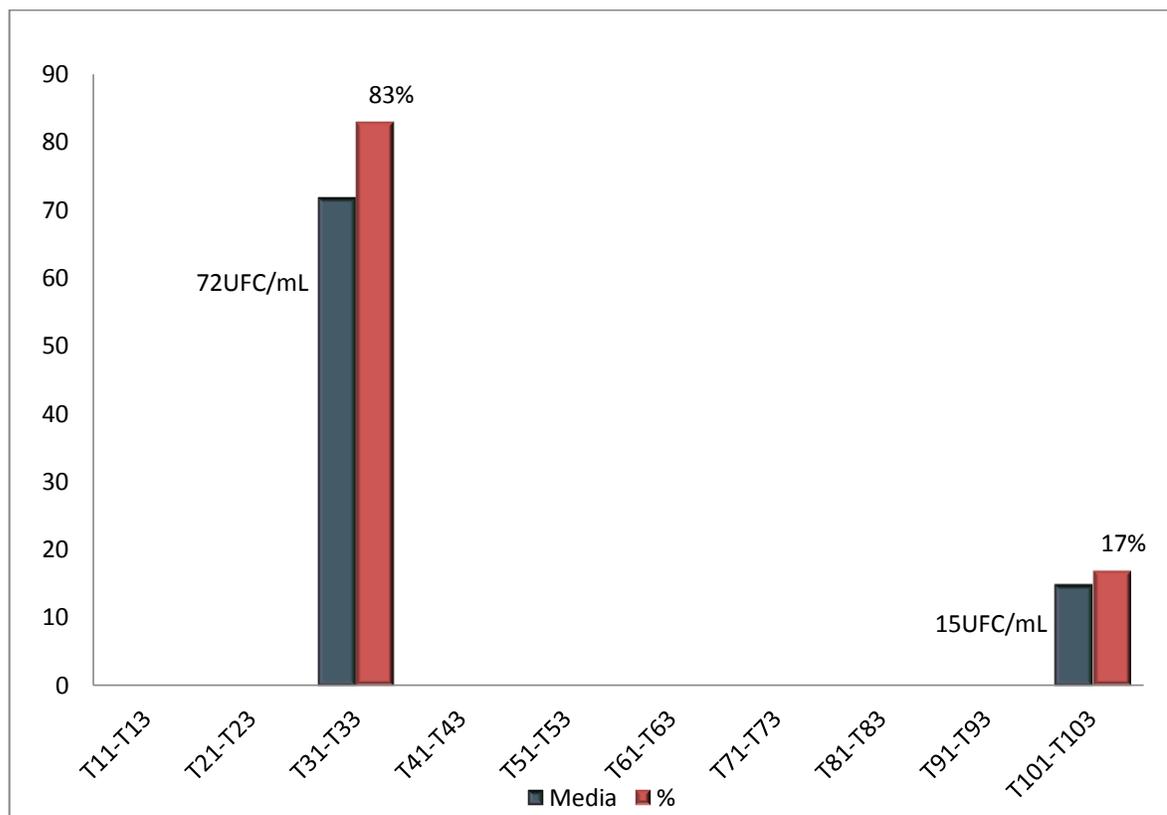
### 3.3. Cuantificación de los microorganismos Aerobios Mesófilos presentes en las muestras del agua embotellada.

**Tabla 2-3** Valores obtenidos de las pruebas microbiológicas en el primer muestreo para Aerobios Mesófilos (Petrifilm UFC/mL)

1er MUESTREO (22-Abril-2016)	1era Repetición PETRIFIL M UFC/mL	2da Repetición PETRIFIL M UFC/mL	3era Repetición PETRIFIL M UFC/mL	$\bar{X}$	Desv. Est	%
T11-T13	0	0	0	0	0	0
T21-T23	0	0	0	0	0	0
T31-T33	68	82	66	72	8	83
T41-T43	0	0	0	0	0	0
T51-T53	0	0	0	0	0	0
T61-T63	0	0	0	0	0	0
T71-T73	0	0	0	0	0	0

<b>T81-T83</b>	0	0	0	0	0	0
<b>T91-T93</b>	0	0	0	0	0	0
<b>T101-T103</b>	12	18	15	15	3	17

Realizado por: Sandy Arteaga, 2016



**Gráfico 1-3** Promedios y porcentajes de crecimiento bacteriano Aerobios Mesófilos en el primer muestreo de aguas embotelladas que se expenden en la ciudad de Riobamba

Realizado por: Sandy Arteaga, 2016

La Tabla 2-3 representa el recuento de microorganismos Aerobios Mesófilos encontrados en dos de las marcas de las botellas de agua analizadas en el primer muestreo, las mismas expresadas en UFC/ml, la marca T31-T33 presento una media de 72UFC/ml, mientras que la marca T101-T103 mostro una media de 15 UFC/ml. Los resultados obtenidos reflejan que las muestras evaluadas se encontraron dentro de los lineamientos de la OMS (100 UFC/ml).(OMS 2010)

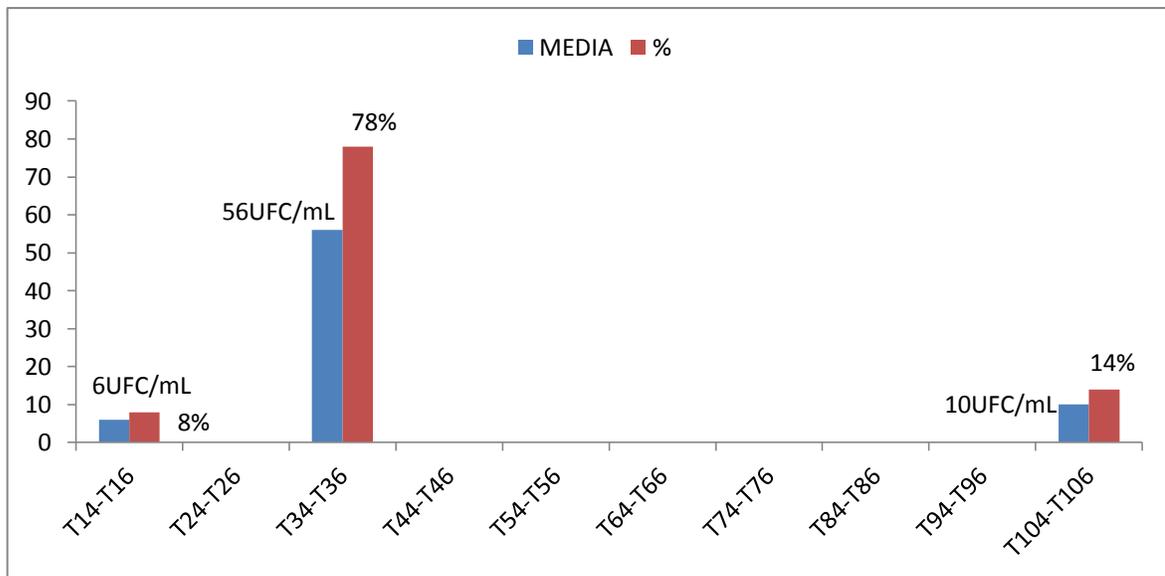
Nótese el Gráfico 1-3 comparando entre ambas muestras puede distinguirse que la marca de agua embotellada T31-T33 fue la que mayor Unidades formadoras de colonias presento, con un

porcentaje del 83% del total de las 10 muestras analizadas, mientras que la marca T101-T103 representa un porcentaje del 17%.

**Tabla 3-3** Valores obtenidos de las pruebas microbiológicas en el segundo muestreo para Aerobios Mesófilos (Petrifilm UFC/mL)

<b>2do MUESTREO (13-Mayo- 2016)</b>	<b>1era Repetición PETRIFILM UFC/mL</b>	<b>2da Repetición PETRIFIL M UFC/mL</b>	<b>3era Repetición PETRIFIL M UFC/mL</b>	$\bar{X}$	<b>Desv. Est</b>	<b>%</b>
<b>T14-T16</b>	7	5	6	6	1	8
<b>T24-T26</b>	0	0	0	0	0	0
<b>T34-T36</b>	54	66	48	56	9,16	78
<b>T44-T46</b>	0	0	0	0	0	0
<b>T54-T56</b>	0	0	0	0	0	0
<b>T64-T66</b>	0	0	0	0	0	0
<b>T74-T76</b>	0	0	0	0	0	0
<b>T84-T86</b>	0	0	0	0	0	0
<b>T94-T96</b>	0	0	0	0	0	0
<b>T104-T106</b>	10	8	12	10	2	14

Realizado por: Sandy Arteaga, 2016



**Gráfico 2-3** Promedios y porcentajes de crecimiento bacteriano en el segundo muestreo de aguas embotelladas que se expenden en la ciudad de Riobamba

Realizado por: Sandy Arteaga, 2016

En la Tabla 3-3 se muestran los resultados del segundo muestreo de las marcas de aguas embotelladas para microorganismos Mesófilos ; en tres muestras se evidenció la presencia de estos microorganismos , en donde la marca T34-T36 fue la que mayor Unidades formadoras de Colonia presentó con valores de 56UFC/mL, seguida de la muestra T104-T106, con 10UFC/mL ,finalmente la muestra T14-T16 con los valores relativamente más bajos 6 UFC/mL.

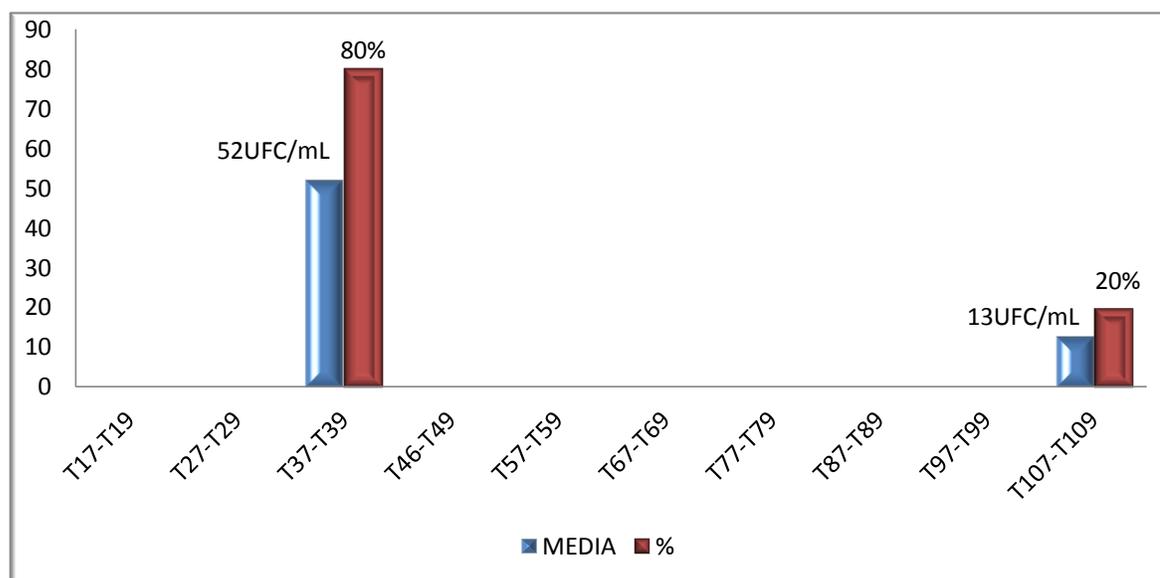
En la Gráfica 2-3 se analiza los porcentajes de la presencia de Aerobios Mesófilos en el segundo muestreo realizado a las diez muestras de agua embotellada que se expenden en la ciudad de Riobamba ,dando a conocer que la muestra T14-T16 presentó un 8% ,la muestra T34-T36 presentó un 78% y por último la muestra T104-T106 un 14%.

Tómese en consideración que pese al crecimiento bacteriano en las tres muestras de agua embotelladas, siguen sus valores dentro de los parámetros establecidos por la Norma NTE INEN 2200-2008.(NTE INEN 2008 <https://law.resource.org/pub/ec/ibr/ec.nte.2200.2008.pdf>.)

**Tabla 4-3** Valores obtenidos de las pruebas microbiológicas en el tercer muestreo para Aerobios Mesófilos (Petrifilm UFC/mL)

2do MUESTREO (3-Junio-2016)	1era Repetición PETRIFIL M UFC/mL	2da Repetición PETRIFIL M UFC/mL	3era Repetición PETRIFIL M UFC/mL	$\bar{X}$	Desv. Est	%
T17-T19	0	0	0	0	0	0
T27-T29	0	0	0	0	0	0
T37-T39	48	52	56	52	4	80
T46-T49	0	0	0	0	0	0
T57-T59	0	0	0	0	0	0
T67-T69	0	0	0	0	0	0
T77-T79	0	0	0	0	0	0
T87-T89	0	0	0	0	0	0
T97-T99	0	0	0	0	0	0
T107-T109	14	10	15	13	2	20

Realizado por: Sandy Arteaga, 2016



**Gráfico 3-3** Promedios y porcentajes de crecimiento bacteriano en el tercer muestreo de aguas embotelladas que se expenden en la ciudad de Riobamba

Realizado por: Sandy Arteaga, 2016

En la Tabla 4-3 se muestra el tercer y último muestreo, existiendo crecimiento de microorganismos Aerobios Mesófilos en dos de las muestras de agua T37-T39 con 52 UFC/mL, y en la muestra T107-T109 con 13UFC/mL, haciendo énfasis que a pesar de la presencia de dichos microorganismos no exceden los lineamientos establecidos manteniéndose así dentro de la Norma pudiendo ser apta para el consumo humano. Además se puede notar que la muestra de agua T3 en los tres muestreos realizados fue la que mayor proliferación de microorganismos presentó.

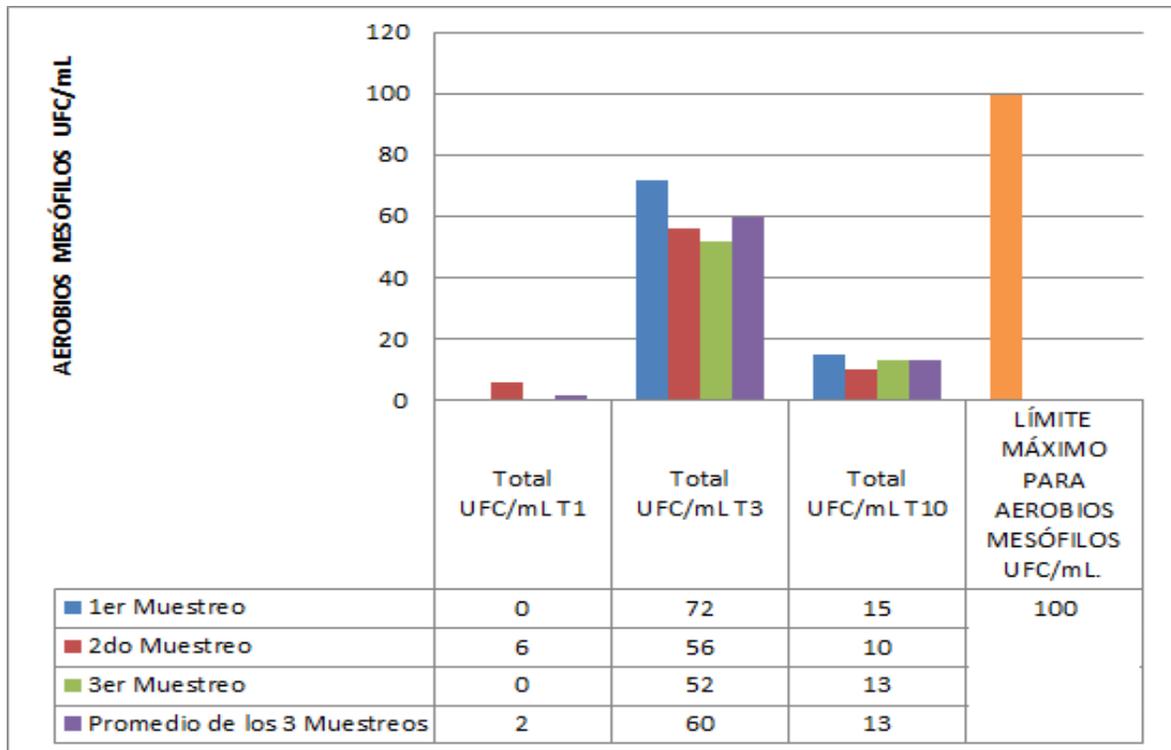
La presencia de estos microorganismos puede relacionarse con el grado de salubridad del sistema de distribución. El crecimiento de dichos microorganismos indica si el agua embotellada es apta o no para el consumo humano, mostrando además, las condiciones sanitarias de la materia prima, la forma de manipulación, el procesamiento, empaque, distribución, entre otros. El crecimiento bacteriano con valores excesivos fuera de los rangos establecidos en un sistema de distribución puede representar contaminación o cierto tipo de problemas de calidad del agua.

A lo anterior mencionado Dibua, señaló que el agua potable al igual que otros productos alimenticios, deben ser procesados y envasados bajo condiciones asépticas libres de todas las fuentes posibles de contaminación. Un crecimiento de estas bacterias en el agua envasada puede deberse a la dudosa potabilidad del agua, pudiendo provenir de otras fuentes de agua disponibles, que van desde el agua de lluvia hasta cisternas, las mismas que son oxidadas en su mayoría sin tener un previo lavado y una desinfección adecuada.(Benítez et.al. 2013 <http://www.redalyc.org/pdf/904/90428348002.pdf>.)

**Tabla 5-3** Resumen de los promedios totales en los análisis de los tres muestreos de aguas embotelladas con presencia de microorganismos Aerobios Mesófilos.

<b>MUESTREOS (PETRIFILM)</b>	<b>Total UFC T1</b>	<b>%T1</b>	<b>Total UFC T3</b>	<b>%T3</b>	<b>Total UFC T10</b>	<b>%T10</b>	<b>LÍMITE MÁXIMO PARA AEROBIOS MESÓFILOS</b>
<b>1er Muestreo</b>	0	0	72	85	15	15	<b>1,0 x 10<sup>2</sup>UFC/MI</b>
<b>2do Muestreo</b>	6	10	56	76	10	14	
<b>3er Muestreo</b>	0	0	52	77	13	23	
<b>Promedio</b>	2	3.3%	60	79.3%	13	17.3%	

Realizado por: Sandy Arteaga, 2016



**Gráfico 4-3** Resultados promedio de crecimiento en los tres muestreos de aguas embotelladas para Aerobios Mesófilos

Realizado por: Sandy Arteaga 2016

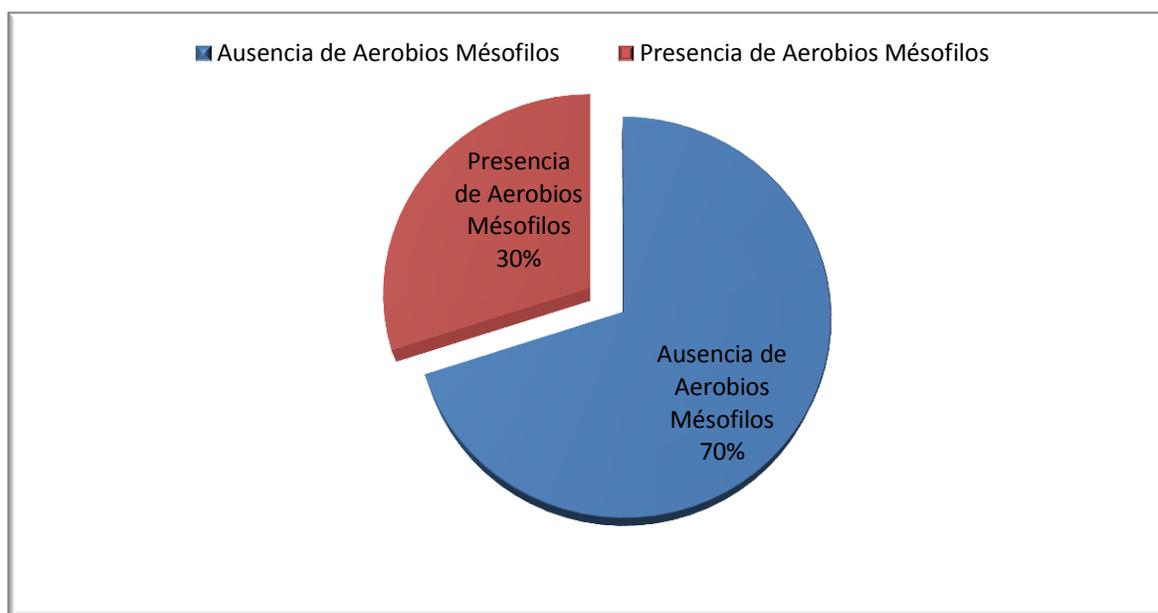
Como es apreciable la Tabla 5-3 muestra los valores promedio al indicador señalado al parámetro Aerobios Mesófilos, en las diferentes marcas de aguas embotelladas obtenidas en los supermercados más representativos de la ciudad de Riobamba. Los resultados mostraron, que de las treinta (30) marcas estudiadas siete de ellas presentaron crecimiento, indicando que la muestra T3 presento el mayor número de colonias, seguida de la muestra T10 y por último la muestra T1. Esto puede resultar debido a operaciones inadecuadas de tratamiento; con insuficiencias del proceso de embotellamiento, o con permeabilización de los recipientes. Los resultados obtenidos, nos lleva a cuestionar que no existe una total eficacia de los establecimientos en cuanto a la producción de aguas embotelladas.

Realizando un estudio comparativo al finalizar los tres muestreos establecidos, en el periodo de análisis microbiológico para microorganismos Aerobios Mesófilos se puede evidenciar la repetitividad de crecimiento en las muestras T3 con un rango de valores aproximadamente de 60

UFC/mL y la muestra T10 con 13 UFC/mL. Mientras que la muestra T1 presentó crecimiento únicamente en el segundo muestreo con valores relativamente bajos 2UFC/mL.

Tomando en consideración la muestra T1 se puede mencionar como un caso especial ya que presentó contaminación con microorganismos Aerobios Mesófilos en solamente 1 de los 3 muestreos ejecutados. Se puede indicar en estos casos que únicamente el lote al que pertenece dicha muestra estuvo expuesto a contaminación y ésta no fue generalizada.

De las tres muestras con crecimiento de microorganismos Aerobios Mesófilos la muestra T3 representa el 79.3%, a continuación la muestra T10 con un 17.3% y por último la muestra T1 con un 3.3% siendo un valor significativamente bajo. (Ver Tabla 5-3)



**Gráfico 5-3** Porcentajes obtenidos de ausencia o presencia de microorganismos Aerobios Mesófilos en las treinta muestras de Aguas Embotelladas analizadas.

**Realizado por:** Sandy Arteaga ,2016

Finalizando el análisis microbiológico a las 30 aguas embotelladas se visualiza un 30 % de crecimiento para Aerobios Mesófilos en las placas Petrifil 3M, sin excederse los parámetros permisibles establecidos, y un 70 % mostró ausencia total bacteriana. (Ver Gráfico 5-3)

El recuento de los Aerobios Mesófilos es importante ya que nos permite evaluar la calidad microbiológica y las BPM implementadas en las empresas procesadoras de agua embotellada, cumpliendo el producto final con los valores establecidos por la Norma NTE INEN 2200-2008 ( $1,0 \times 10^2$  UFC). Recalcando lo anteriormente dicho el crecimiento de estos microorganismos en aguas embotelladas puede estar relacionado a una mala aplicación de las BPM en el sistema de distribución. Su crecimiento determina si el agua es adecuada o no para consumo humano. Un recuento alto puede representar una contaminación u otro problema de calidad del agua.

### 3.4. Aislamiento, purificación e Identificación Microscópica de las colonias de los microorganismos Aerobios Mesófilos presentes en las Aguas Embotelladas que se expenden en la ciudad de Riobamba.

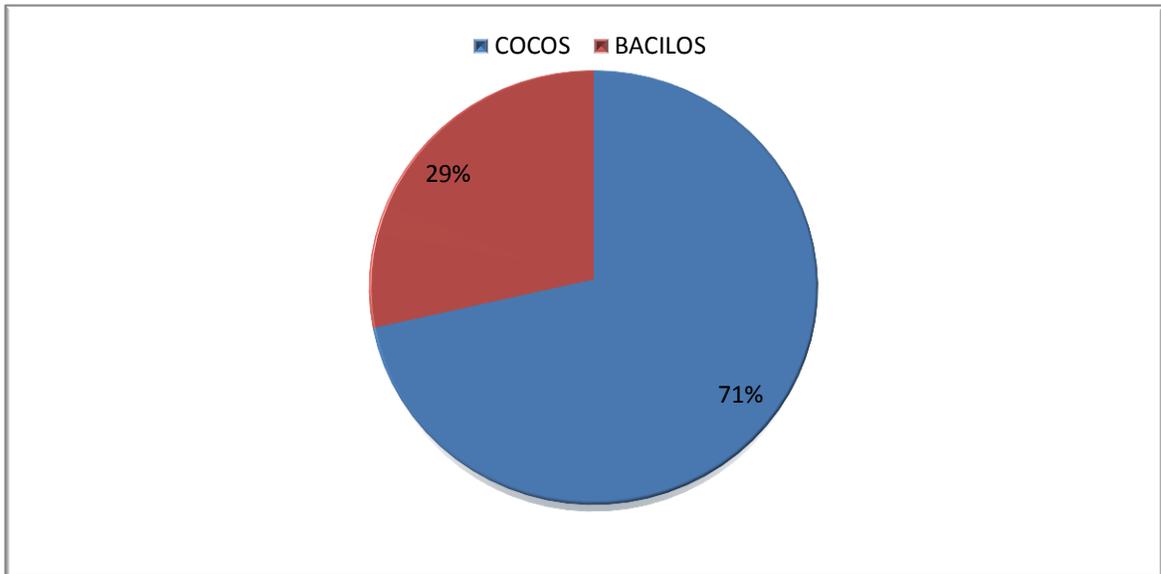
**Tabla 6--3** Identificación microscópica y diferenciación por tinción GRAM de colonias bacterianas aisladas en aguas purificadas embotelladas que se expenden en la ciudad de Riobamba.

MUESTRA	CÓDIGO	GRAM
<b>T1</b>	T14	Cocos (+)
	T15	Cocos (+)
	T16	Cocos (+)
<b>T3</b>	T31	Cocos (+)
	T32	Cocos (+)
	T33	Cocos (+)
<b>T3</b>	T34	Bacilos (+)
	T35	Bacilos (+)
	T36	Bacilos (+)
<b>T3</b>	T37	Bacilos (+)
	T38	Bacilos (+)
	T39	Bacilos (+)
<b>T10</b>	T101	Cocos (+)
	T102	Cocos (+)
	T103	Cocos (+)
<b>T10</b>	T104	Cocos (+)
	T105	Cocos (+)
	T106	Cocos (+)

<b>T10</b>	T107	Cocos (+)
	T108	Cocos (+)
	T109	Cocos (+)

Realizado por: Sandy Arteaga ,2016

**Gráfico 6-3** Porcentaje de bacterias aisladas según la tinción GRAM en aguas embotelladas que se expenden en la ciudad de Riobamba



Realizado por: Sandy Arteaga, 2016

Una vez obtenido el crecimiento de microorganismos Aerobios Mesófilos en las placas 3M Petrifilm se logró aislar y purificar las colonias con facilidad, para una correcta identificación bacteriológica, utilizando la siembra por cuadrantes en agar Mueller Hinton, logrando un resultado de 21 bacterias puras

En la Tabla 6-3 se muestran los resultados del aislamiento de los microorganismos Aerobios Mesófilos, obteniendo de las muestras cocos y bacilos GRAM positivos.

En la caracterización microscópica de las 21 bacterias purificadas mediante la Tinción Gram y la observación en el microscopio se determinó un porcentaje de 29% Bacilos GRAM positivos y un 71% de cocos GRAM positivos. (Ver Gráfico 6-3)

En esta investigación las aguas embotelladas arrojaron resultados que se encuentran dentro de los rangos establecidos por la Norma NTE INEN 2200-2008. El recuento de Aerobios Mesófilos en las 30 muestras de agua embotelladas pese a que hubo crecimiento no sobrepasó las  $1.0 \times 10^2$  UFC/mL. Con respecto a los resultados obtenidos de coliformes totales y fecales determina que el agua purificada debe de estar libre de coliformes totales y fecales, por lo cual debe haber ausencia total en cada una de las muestras; cumpliendo con lo establecido las 30 muestras de aguas embotelladas analizadas son aptas para el consumo humano, mostrando un buen indicador sanitario.

Realizando comparaciones con análisis similares nacionales e internacionales, se encontró similitudes así como diferencias; por lo que se da a conocer a continuación los mismos.

En el país de Perú la Srta. Noelia Zavalaga en su Trabajo de Investigación determinó la calidad microbiológica de 11 marcas de aguas embotelladas y comercializadas en la ciudad de Tacna; sustenta que el 64 % de ellas no cumplen con los parámetros establecidos para este tipo de productos, mientras que el 36% si cumple con las especificaciones de calidad. (Zavalaga 2012 [http://tesis.unjbg.edu.pe:8080/bitstream/handle/unjbg/135/29\\_Zavalaga\\_Talledo\\_EN\\_FACI\\_Biologia\\_Microbiologia\\_2012\\_Resumen.pdf?sequence=2](http://tesis.unjbg.edu.pe:8080/bitstream/handle/unjbg/135/29_Zavalaga_Talledo_EN_FACI_Biologia_Microbiologia_2012_Resumen.pdf?sequence=2))

En otra de las investigaciones realizada por José Eustaquio evaluó la calidad microbiológica de las aguas embotelladas, comercializadas en la ciudad de Babahoyo, determinando que 3 de las 5 marcas estudiadas sobrepasan el indicador establecido en relación al parámetro aerobio Mesófilos por lo que deben considerarse NO APTAS para el consumo humano; mientras que con respecto a coliformes por su parte, resultó cumpliendo la Norma NTE INEN 2200-2008. (Macías 2015 [http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/reduug/7042/1/macias\\_sanchez\\_jose\\_eustaquio.pdf](http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/reduug/7042/1/macias_sanchez_jose_eustaquio.pdf).)

Por otra parte una investigación realizada por Verónica Villegas Análisis microbiológico de aguas envasadas en funda consumidas masivamente en el Cantón Shushufindi, Provincia Sucumbíos, indica que la cuantificación de Mesófilos aerobios en las marcas de agua, en su totalidad exceden la cantidad de Mesófilos aerobios permitidos por la norma lo que indica una contaminación de las aguas. (Villegas 2013 <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/1893/1/T-UCE-0008-25.pdf>.)

Un estudio realizado por Carol Aparicio y Ernesto Ladino , sobre Evaluación de la calidad microbiológica de aguas envasadas en bolsas distribuidas en el área metropolitana de San Salvador en el periodo de septiembre – octubre de 2007, indican que el recuento de microorganismos Aerobios Mesófilos presento en los tres muestreos valores superiores a los límites establecidos en el recuento según la NSO 13.07.02:07, excepto las marcas AE-01 y AE-

02, por tanto, el recuento alto de estas bacterias en las 8 marcas restantes indica que existen deficiencias en dichos procesos, o en almacenamiento y manipulación de las bolsas. Esta investigación corrobora con los resultados obtenidos, ya que fue realizada en circunstancias similares y con datos semejantes así por ejemplo en ambos casos realizamos tres muestreos a diez marcas de aguas, con la diferencia total de crecimiento bacteriano para aerobios Mesófilos. (Aparicio et.al 2011 <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/1893/1/T-UCE-0008-25.pdf>.)

Un estudio realizado por Carolina Tobianny y Leidys Pérez “Calidad bacteriológica del agua potable envasada comercialmente. Ciudad Bolívar” arrojó resultados para el recuento de aerobios Mesófilos en las 5 marcas de agua envasadas comercialmente no sobrepasó las 100 UFC/ ml encontrándose entre los valores aceptados por la OMS, con respecto a los resultados obtenidos de coliformes totales y fecales en el agua envasada comercialmente, no se evidenció la presencia de coliformes totales, tampoco se encontró coliformes fecales que es un indicador sanitario manteniéndose dentro de los criterios de la OMS establecidos para el agua apta para el consumo humano. (Martínez et. al 2010 <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/1893/1/T-UCE-0008-25.pdf>.)

Vidal, Consuegra, Gómes Caseres y Marrugo en Colombia; realizaron la evaluación de la calidad microbiológica de 13 marcas envasadas en bolsas en Sincelejo, determinando que el 92% de las marcas de agua envasada presentaron bacterias mesófilas en su producto, mientras que en el 33% de ellas se encontraron coliformes totales. Cabe destacar que una marca presentó coliformes fecales. (Gómes Caseres et.al. 2009 <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/1893/1/T-UCE-0008-25.pdf>.)

Betty Benítez, Kenna Ferrer, Lisbeth Rangel, Ayarí Ávila, Yasmina Barboza y Alegría Levi, llevaron a cabo un estudio sobre “Calidad microbiológica del agua potable envasada en bolsas y botellas que se venden en la ciudad de Maracaibo, estado Zulia-Venezuela” estableciendo de las 10 marcas comerciales de agua envasada estudiadas, sólo 2 de ellas (A y G) son consideradas aptas para el consumo humano, debido a que cumplen con todos los requisitos microbiológicos exigidos por las normas venezolanas. Con respecto a los resultados se puede observar, que la mitad de las aguas analizadas (B, C, D, E, F) se encontraron con valores que exceden los estándares establecidos por la Gaceta Oficial de Venezuela para aerobios Mesófilos en aguas envasadas de consumo humano. En lo que respecta a los coliformes fecales, de las 10 marcas analizadas, 6 de ellas (B, C, D, H, I, J) resultaron positivas para este microorganismo. (Benítez et.al. 2013 <http://www.redalyc.org/pdf/904/90428348002.pdf>.)

## CONCLUSIONES

- Se determinaron los parámetros microbiológicos que la norma ecuatoriana NTE INEN 2200:2008 exige para las marcas de agua embotelladas analizadas.
- En el periodo comprendido entre Abril a Junio del 2016, se notó el cumplimiento de los estándares microbiológicos establecidos por la Norma NTE INEN 2200-2008 en los tres muestreos realizados para el estudio de las 10 marcas de agua embotelladas expandidas en la ciudad de Riobamba.
- En lo concerniente a microorganismos Coliformes Totales y Fecales las 10 marcas de aguas embotelladas analizadas muestran ausencia de los mismos, cumpliendo al 100% los límites permisibles, siendo aptas para el consumo humano y buenos modelos desde el punto de vista sanitario en la industria envasadora.
- La ausencia de Coliformes Totales y fecales en el agua embotellada analizada indica que no existe contaminación fecal en las mismas, librando así al consumidor cualquier riesgo de adquirir infecciones bacterianas intestinales a causa de aguas mal tratadas.
- En el análisis de Aerobios Mesófilos tres muestras de agua embotellada presentaron crecimiento, tomando en consideración que no excedieron los parámetros establecidos en la Norma NTE INEN 2200-2008 que es de  $1,0 \times 10^2$  UFC/mL, así la marca T1 (2UFC), T3(60UFC), y T10 (13UFC) , con un porcentaje total de 30% de aguas contaminadas y un 70% de aguas libres de bacterias heterótrofas. Aun así estos hallazgos presentes de bacterias pudiesen resultar perjudiciales para la salud, lo que nos conlleva a deducir que el proceso de elaboración no cumple con las normas de buenas prácticas de manufactura, dando la posibilidad de que estos productos en el mercado puedan llegar a ocasionar daños nocivos para la salud de los consumidores ; por lo cual es necesario recalcar que es muy importante mantener un control en los distribuidores o pequeños comerciantes en la venta de aguas embotelladas.
- La contaminación en las muestras de agua embotelladas respecto al parámetro de Aerobios Mesófilos podría deberse a múltiples factores, tales como operaciones inadecuadas de

limpieza y saneamiento , manipulación impropia de los vendedores, envases en estado inapropiado, formas no idóneas de almacenamiento, empaques asegurados ligeramente; por lo que las marcas T1, T3 y T10 reflejan deficiencias sanitarias en la industria envasadora, pese a no llegar al límite máximo permitido de UFC para este tipo de microorganismos.

- Una vez aisladas las colonias de Aerobios Mesófilos presentes en las muestras de agua embotellada, con ayuda de la observación microscópica se pudo identificar un 29% de bacilos GRAM positivos y un 71% de cocos GRAM positivos, los mismos que proporcionan información con respecto a las prácticas incorrectas de higiene y la falta de implementación de Buenas Prácticas de Manufactura, lo que refleja la mala calidad sanitaria del agua, sin embargo no deben ser considerados como parámetros definitivos en cuanto a su valor como indicador de calidad e inocuidad , ya que un resultado elevado no necesariamente determinará la presencia de microorganismos patógenos o toxinas o un mínimo recuento en el número de colonias no siempre expresa la ausencia de microorganismos patógenos.

## RECOMENDACIONES

- Se recomienda colocar con mucho cuidado la muestra de agua en la placa Petrifilm evitando la presencia de burbujas, ya que esta puede ser confundida con crecimiento bacteriano, alterando los resultados.
- Se recomienda antes de ingerir un agua embotellada, verificar su procedencia, fecha de elaboración, caducidad, su lote, revisar que la tapa se encuentre herméticamente sellada.
- Se recomienda a los empresarios encargados del procesamiento de aguas embotelladas, realizar análisis microbiológicos permanentes y minuciosos al producto elaborado, así como también brindar capacitaciones y controles continuos a todo el personal que labora dentro de la empresa.
- Para la adquisición de aguas embotelladas se recomienda elegir un lugar donde se observe que exista las condiciones sanitarias asépticas para consumo, así como también el debido cuidado, manipulación y exhibición de estos productos de modo que no existan alteraciones en su composición.
- Se recomienda una evaluación, inspección y vigilancia sanitaria continua por parte de los organismos reguladores como el departamento de Agencia Nacional de Regulación, Control y Vigilancia Sanitaria (ARCSA) ,cuya responsabilidad es proporcionar los registros sanitarios , evaluando posteriormente si se está cumpliendo con los parámetros de calidad que el producto lo requiere.
- Se recomienda a las microempresas encargadas de la producción de aguas purificadas embotelladas realizar periódicamente análisis microbiológicos post registro como medida de calidad y seguridad antes y después de la venta de su producto.

## **GLOSARIO**

<b>UFC/mL</b> .....	Unidades Formadoras de colonias por mililitro
<b>NMP</b> .....	Número más probable
<b>FAO</b> .....	Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura
<b>NRDC</b> .....	Natural Resources Defense Council
<b>BHT</b> .....	Bacterias heterotróficas
<b>pH</b> .....	Potencial de hidrógeno
<b>mL</b> .....	Mililitro
<b>°C</b> .....	Grado Celsius
<b>FDA</b> .....	Administración de Alimentos y Medicamentos
<b>DBO</b> .....	Demanda biológica de oxígeno
<b>RHP</b> .....	Recuento heterotrófico en placas
<b>M.O</b> .....	Microorganismo

## **BIBLIOGRAFÍA**

**ACEVEDO, L .et al.,** Biología y Microbiología Ambiental. España 2015, pp. 51-58.

**ALAN, R.,** *El Maremoto del Agua Embotellada*. [en línea] 2008, [Consulta: 12 abril 2016].  
Disponible en: <http://www.cvshealthresources.com/print.aspx?token=f75979d3-9c7c-4b16-af56-3e122a3f19e3&chunkiid=121758>.

**APARICIO, C. et al. ,** *Evaluación de la calidad microbiológica y físico-química de aguas envasadas en bolsas distribuidas en el área metropolitana de san salvador* [en línea] 2011 .  
[consulta: 28 agosto 2016]. disponible en: <http://ri.ues.edu.sv/494/1/10136845.pdf>.

**ARCOS, M.,et al.,** *Indicadores Microbiológicos de Contaminación de las Fuentes de Agua*. [en línea], 200 [Consulta: 17 agosto 2016]. Disponible en: [http://www.unicolmayor.edu.co/invest\\_nova/nova/artrevis2\\_4.pdf](http://www.unicolmayor.edu.co/invest_nova/nova/artrevis2_4.pdf).

**BENÍTEZ, B .et al.,** *Calidad microbiológica del agua potable envasada en bolsas y botellas que se venden en la ciudad de Maracaibo , estado Zulia-Venezuela*. [en línea] 2013, [Consulta: 13 agosto 2016]. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/904/90428348002.pdf>.

**BERMELLO, R.,et al.,** *Agua potable*. [en línea] 2013, [Consulta: 4 abril 2016]. Disponible en: [http://www.cpicmha.sld.cu/BoletinEspl/bes02\\_13.pdf](http://www.cpicmha.sld.cu/BoletinEspl/bes02_13.pdf).

**BOLAÑOS JURADO, Mónica Carolina,** Plan de negocios para la producción y comercialización de agua embotellada por la empresa industrial danec s.a en la ciudad de quito [en línea](tesis). s.l: Escuela Politécnica Nacional,Facultad Ciencias Administrativas, Quito, Ecuador.2009.pp32-62 [consulta: 2 marzo 2016]. disponible en: <http://bibdigital.epn.edu.ec/bitstream/15000/1405/1/cd-2147.pdf>.

**BRECEDA, M.,** *Agua y Energía en la Ciudad de México*. [en línea],2004 [Consulta: 16 febrero 2016]. Disponible en: <http://www.bvsde.paho.org/bvsacd/cd59/aguayenergia.pdf>.

**BURITICA, B .et al.**, *Tinción de Gram y observación Microscópica*. [en línea],2012 [Consulta: 18 mayo 2016]. Disponible en: [http://www.academia.edu/6245506/tinción\\_de\\_gram\\_y\\_observación\\_microscópica](http://www.academia.edu/6245506/tinción_de_gram_y_observación_microscópica).

**CABEZAS, C.**, *Enfermedades de origen hídrico*. [en línea], 2010 [Consulta: 18 mayo 2016]. Disponible en: [http://181.177.232.117/anc\\_j28.1/images/stories/agua/cesarcabezas.pdf](http://181.177.232.117/anc_j28.1/images/stories/agua/cesarcabezas.pdf).

**CHAIDEZ, C.**, *Agua Embotellada y su calidad Bacteriológica*. [en línea],2002 [Consulta: 2 febrero 2016]. Disponible en: <http://www.agualatinoamerica.com/docs/pdf/9-10-02aguaemb.pdf>.

**CHAMORRO REASCOS ,Blanca & YAR SAAVEDRA, Brenda.**, *Evaluacion de la calidad del agua para el consumo humano de las comunidades del canton Cotacachi y propuesta de medidas correctivas* [en línea]. (tesis) Universidad Técnica del Norte, Facultad de Ingenieria en Ciencias Agropecuarias y Ambientales,Escuela de Ingeniería en Recursos Naturales Renovables ,Quito Ecuador,2010 pp32-60 [Consulta: 16 marzo 2016]. Disponible en: [repositorio.utn.edu.ec/bitstream/.../221/1/03 REC 123 CONTENIDO.pdf](repositorio.utn.edu.ec/bitstream/.../221/1/03_REC_123_CONTENTIDO.pdf).

**CODEX STANDAR**, *Norma general para las aguas potables embotelladas / envasadas ( distintas de las aguas minerales naturales )*. [en línea], 2001 vol. 227, pp. 4. [consulta: 16 marzo 2016]. Disponible en: [www.fao.org/input/download/standards/369/CXS\\_227s.pdf](http://www.fao.org/input/download/standards/369/CXS_227s.pdf).

**COSMOS**, *Información Técnica y Comercial del Agua purificada*. [en línea],2003 pp. 10. [Consulta: 14 marzo 2016]. Disponible en: <http://www.cosmos.com.mx/wiki/4c0c/agua-purificada>.

**DASILVA, Z .et al**, *Comparison of the bacteriological quality of tap water and bottled mineral water*. [en línea], 2008, pp. 504. [Consulta: 17 abril 2016]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18206422>.

**DÍAZ, J .et al**, *El Agua Embotellada Es Adecuada Para Nuestro Consumo*. [en línea],2007 pp 2-12. [Consulta: 17 abril 2016]. Disponible en: <http://www.saber.ula.ve/bitstream/123456789/27715/1/articulo1.pdf>.

**DISTRIBAMBA**, *Agua luz*. [en línea],2008 [Consulta: 4 julio 2016]. Disponible en:  
<http://distribamba.com/agualuz.html>.

**DIVICO**, *Caldo verde brillante bilis al 2%*. [en línea], 2012 pp. 450-450. [Consulta: 4 julio 2016].  
Disponible en: <https://es.scribd.com/doc/105162815/Caldo-Bilis-Verde-Brillante>.

**DOMANSK, H.**, *Agua Pura y Saludable: de la fuente al consumidor*. [en línea],2011, pp. 6.  
[Consulta: 13 junio 2016]. Disponible en:  
[http://solutions.3m.com.ar/3MContentRetrievalAPI/BlobServlet?lmd=1343020167000&locale=es\\_AR&assetType=MMM\\_Image&assetId=1319229506639&blobAttribute=ImageFile](http://solutions.3m.com.ar/3MContentRetrievalAPI/BlobServlet?lmd=1343020167000&locale=es_AR&assetType=MMM_Image&assetId=1319229506639&blobAttribute=ImageFile)

**ECHARRI, L.**, *Contaminación del agua*. [en línea], 2007 pp. 26. [Consulta: 8 junio 2016].  
Disponible en: [http://datateca.unad.edu.co/contenidos/358001/contaminacion\\_del\\_agua.pdf](http://datateca.unad.edu.co/contenidos/358001/contaminacion_del_agua.pdf)

**FAO y OMS**, *Aguas purificadas embotelladas*. [en línea],2007 pp. 51. [Consulta: 14 junio 2016].  
Disponible en: [ftp://ftp.fao.org/codex/Publications/Booklets/Waters/Waters\\_2007\\_ES.pdf](ftp://ftp.fao.org/codex/Publications/Booklets/Waters/Waters_2007_ES.pdf).

**FDA**, *Regulation of Bottled Water*. [en línea],2009 [Consulta: 12 marzo 2016]. Disponible en:  
<http://www.fda.gov/NewsEvents/Testimony/ucm170932.htm>

**FDA**, *Estudio De Mercado Agua Embotellada - En los Estados Unidos*. [en línea],2012 pp. 46.  
[Consulta: 14 junio 2016]. Disponible en: [http://www.prochile.gob.cl/wp-content/files\\_mf/documento\\_05\\_07\\_12172014.pdf](http://www.prochile.gob.cl/wp-content/files_mf/documento_05_07_12172014.pdf)

**FLORES, C..** *Contaminación del agua*. [en línea], 2015, pp. 1-86. [Consulta: 15 febrero 2016].  
Disponible en: [http://www.ugr.es/~fgarciac/pdf\\_color/tema4 \[Modo de compatibilidad\].pdf](http://www.ugr.es/~fgarciac/pdf_color/tema4 [Modo de compatibilidad].pdf).

**GALLO VELASCO, José Nelson, & VITERI CHILQUINGA, Diana Margarita . y PONCE PORTILLA, Damian Alamiro.**, Evaluación de Impacto Ambiental caudado por la Planta envasadora del agua natural de manantial Splend'OR de La Maná Provincia de Cotopaxi. [en línea].(tesis) Universidad Técnica del Norte,Ecuador 2009 pp.12-60. [Consulta: 2 febrero 2016]. Disponible en: <http://repositorio.utn.edu.ec/bitstream/123456789/193/1/03 REC 82 TESIS.pdf>.

**GOMESCASERES, L .et al.**, Evaluación de la calidad microbiológica del agua envasada en bolsas producida en Sincelejo-Colombia. *Revista Unicordoba*. [en línea],2009 pp. 9. [Consulta: 14 abril 2016]. Disponible en: <http://revistas.unicordoba.edu.co/revistamvz/mvz-142/v14n2a9.pdf>.

**HERNANDEZ, A .et. al.**, *Microfiltración, ultrafiltración y ósmosis inversa*. 3era ed. España: Murcia,1990 pp. 142.

**HUERTA, L.,***Métodos para purificar el agua*. [en línea], 2012 pp. 40-43. [Consulta: 3 marzo 2016]. Disponible en: [http://www.profeco.gob.mx/revista/publicaciones/adelantos\\_04/purificar\\_agua\\_mzo04.pdf](http://www.profeco.gob.mx/revista/publicaciones/adelantos_04/purificar_agua_mzo04.pdf).

**HUNTER, P. et al.**, *The bacteriological quality of bottled natural mineral waters*. *Epidemiol Infect* [en línea],1987 vol. 99, pp. 439-443. [Consulta: 17 abril 2016]. Disponible en: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2249271&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.

**IDROVO,C**, *Optimización de la planta de tratamiento de Uchupucun* [en línea]2009 S.I. [Consulta: 17 abril 2016] Disponible en: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/2426/1/tq1066.pdf>

**INGRAHAN, J,et al**, *Introducción a la Microbiología*. En: H. PRENTISS. 2da ed. California:1998, pp. 473-475.

**URUGUAY, Intituto de Promoción de Inversiones y Exportación.**, *Informe de Agua embotellada República Popular China*. [en línea]2011. S.I.: [Consulta: 17 abril 2016]. Disponible en: <http://www.uruguayxxi.gub.uy/informacion/wp-content/uploads/sites/9/2015/05/Informe-China-Agua-embotellada-Uruguay-XXI-May-2011.pdf>.

**JEENA, M .et. al.**, *Risk assessment of heterotrophic bacteria from bottled drinking water sold in Indian markets*. [en línea],2006 vol. 2, pp. 191. [Consulta: 16 marzo 2016]. Disponible en: [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=JeenaMI\[Author\]&cauthor=true&cauthor\\_uid=16412688](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=JeenaMI[Author]&cauthor=true&cauthor_uid=16412688).

**KASSENDA, G.**, *The health-related microbiological quality of bottled drinking water sold in Dar es Salaam, Tanzania*. [en línea],2007 vol. 5, no. 1, pp. 179. [Consulta: 6 mayo 2016]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17402289>.

**LENNTECH**,*Tratamiento y purificación del agua embotellada*. [en línea] 2006, [Consulta: 13 abril 2016]. Disponible en: <http://www.lenntech.es/agua-embotellada.htm>.

**LÓPEZ, C.**,*Contaminación del Agua*. [en línea], 2003 pp. 15. [Consulta: 2 marzo 2016]. Disponible en: <http://www2.pr.gov/agencias/jca/areasprogramaticas/biblioteca/documents/contaminacionagua.pdf>.

**MACIAS SANCHEZ, José Eustaquio.**, Evaluación de la calidad físico química y microbiológica de las aguas embotelladas, comercializadas en la ciudad de babahoyo en el periodo enero - marzo 2011 [en línea]. (Tesis) UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL, Ecuador, Babahoyo 2015 pp.22-60 [Consulta: 18 junio 2016]. Disponible en: [http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/7042/1/MACIAS\\_SANCHEZ\\_JOSE\\_EUSTAQUIO.pdf](http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/7042/1/MACIAS_SANCHEZ_JOSE_EUSTAQUIO.pdf).

**MARÍN, C.**,*Las aguas de consumo envasadas en España trasvases muy rentables y nada cuestionados*. [en línea], 2001 pp. 125-142. [Consulta: 14 junio 2016]. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=40703407>.

**MARTÍNEZ RUIZ,Tobianny Carolina. & PÉREZ ABREU, Leydis Nohelis.**,Calidad bacteriológica del agua potable envasada comercialmente. Ciudad bolivar 2009 - 2010 [en línea].(Tesis) Universidad del Oriente, Escuela de Ciencias de la Salud,Venezuela, Bolivar 2010 pp.30-34 [Consulta: 13 agosto 2016]. Disponible en: <http://ri.bib.udo.edu.ve/bitstream/123456789/2247/1/30-TesisQW9M385.pdf>.

**MARTÍNEZ, M.**,*Estudio para el tratamiento, manejo y disposición final de lodos generados en plantas de tratamientos de agua potable*. [en línea],2012 pp. 186. [Consulta: 6 mayo 2016]. Disponible en: <http://bibdigital.epn.edu.ec/bitstream/15000/4757/1/CD-4369.pdf>.

**MOLINAO, E.**, *Principales Enfermedades Transmitidas Por El Agua*. [en línea], 2012 pp. 1-21. [Consulta: 18 junio 2016]. Disponible en: <http://www.laanunciataikerketa.com/trabajos/microorganismos/enfer.pdf>

**MONDACA, M. et al.**, *Riesgo De Enfermedades Transmitidas Por El Agua En Zonas Rurales*. [en línea], 2005 vol. 1, pp. 155-167. [Consulta: 17 abril 2016]. Disponible en: <http://www.bvsde.paho.org/bvsacd/cd57/riesgo.pdf>.

**NADEEO, V. et al**, *A comparative approach to the variation of natural elements in Italian bottled waters according to the national and international standard limits*. [en línea], 2008 vol. 21, no. 6, pp. 505-514. [Consulta: 6 mayo 2016]. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0889157508000598>.

**NESTLE WATERS NORTH AMERICA**,. *Reporte de Calidad del Agua Embotellada*. [en línea], 2015 pp. 1-20. [Consulta: 16 marzo 2016]. Disponible en: [http://www.nestle-watersna.com/asset-library/documents/pl\\_esp.pdf](http://www.nestle-watersna.com/asset-library/documents/pl_esp.pdf).

**NORMA TÉCNICA OBLIGATORIA NICARAGUENSE**, *Norma tecnica obligatoria nicaragüense de Agua Envasada*. [en línea], 2003 pp. 1-10. [Consulta: 12 febrero 2014]. Disponible en: [www.foodproductenvision.com/~fooda1/.../5-control-de-calidad?...agua-ensada](http://www.foodproductenvision.com/~fooda1/.../5-control-de-calidad?...agua-ensada)

**NTE INEN**, *Control microbiológico de los alimentos. Determinación de microorganismos coliformes por la técnica del número más probable 1529-6*. [en línea], 1990 vol. 6, pp. 11. [Consulta: 6 mayo 2016]. Disponible en: <ftp://law.resource.org/pub/ec/ibr/ec.nte.1529.6.1990.pdf>.

**NTE INEN**, *Agua Calidad de Agua. Muestreo .Técnicas de muestreo*. [en línea], 1998 pp. 1-9. [Consulta: 17 junio 2016]. Disponible en: <https://law.resource.org/pub/ec/ibr/ec.nte.2176.1998.pdf>.

**NTE INEN**, *Agua Purificada Envasada*. [en línea], 2008 , pp. 9. [Consulta: 5 febrero 2016]. Disponible en: <https://law.resource.org/pub/ec/ibr/ec.nte.2200.2008.pdf>.

**NTE INEN**, *Agua Potable Requisitos* 1108. [en línea],2011 vol. 4, pp. 11. [Consulta: 5 febrero 2016]. Disponible en: <https://law.resource.org/pub/ec/ibr/ec.nte.1108.2011.pdf>.

**NTE INEN**, *Agua Deficiniones* 1182. [en línea], 2012 pp. 6. [Consulta: 5 febrero 2016]. Disponible en: [http://www.normalizacion.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2013/11/nte\\_inen\\_1882.pdf](http://www.normalizacion.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2013/11/nte_inen_1882.pdf).

**OMS**, *Guías para la calidad del agua potable*. [en línea] 2003 . 3era ed. Suiza: Geneve, pp. 10-402. [Consulta: 14 Marzo 2016]. Disponible en [http://www.who.int/water\\_sanitation\\_health/dwq/gdwq3\\_es\\_full\\_lowres.pdf](http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/gdwq3_es_full_lowres.pdf)

**OMS**, *Guidelines for Drinking-water Quality*. [en línea],2006 vol. 23, pp. 408. [Consulta: 17 marzo 2016]. Disponible en: [http://www.who.int/water\\_sanitation\\_health/dwq/gdwq3\\_es\\_full\\_lowres.pdf](http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/gdwq3_es_full_lowres.pdf)

**OMS**, *Programa Conjunto FAO/OMS sobre Normas Alimentarias*. [en línea],2010 [Consulta: 20 agosto 2016]. Disponible en: [file:///D:/USUARIO/Downloads/REP11\\_FHs.pdf](file:///D:/USUARIO/Downloads/REP11_FHs.pdf).

**ORELLANA, J.**, *Características del agua potable*. [en línea],2005 vol. 3, pp. 7. [Consulta: 7 junio 2016]. Disponible en: [https://www.frro.utn.edu.ar/repositorio/catedras/civil/ing\\_sanitaria/Ingenieria\\_Sanitaria\\_A4\\_Capitulo\\_03\\_Caracteristicas\\_del\\_Agua\\_Potable.pdf](https://www.frro.utn.edu.ar/repositorio/catedras/civil/ing_sanitaria/Ingenieria_Sanitaria_A4_Capitulo_03_Caracteristicas_del_Agua_Potable.pdf).

**ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD**, *Guías para la calidad del Agua Potable*. [en línea] 1987 . 3era ed. Washington: EUA, pp. 3-10. Disponible en <http://cidbimena.desastres.hn/pdf/spa/doc8586/doc8586-a.pdf>

**PÉREZ, J.**, *Aspectos Socio-Económicos Del Sector De Aguas Envasadas , Y Su Evolución*. [en línea],2000 pp. 168. [Consulta: 16 junio 2016]. Disponible en: <http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/rehabilitacion-bal/aspectos.pdf>.

**PUB MED**, *Criteria for the evaluation of hygienic and microbiologic characteristics of mineral waters*. [en línea], 1976 vol. 12, pp. 210-217. [Consulta: 3 marzo 2016]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/829204>.

- QUESADA, A.**, *Control de Calidad de los parámetros Físicos de un agua potable. Control de Calidad de los parámetros Físicos de un agua potable* [en línea], 2014 vol. 2, pp. 19. [Consulta: 6 mayo 2016]. Disponible en: <https://tecnicosinstrumentals.files.wordpress.com/2011/09/pnt-7-tutorial-pdf.pdf>.
- RAMÍREZ, F.**, *El agua embotellada no siempre es mejor que la del grifo.* [en línea], 2008 [Consulta: 17 mayo 2016]. Disponible en: [http://www.elaguapotable.com/aguas\\_envasadas.htm](http://www.elaguapotable.com/aguas_envasadas.htm).
- RIVERA, V .et. al.**, *Procedimientos para la Obtencion del agua embotellada.* [en línea], 2014 pp. 14. [Consulta: 29 junio 2016]. Disponible en: <http://es.slideshare.net/pichonypichona/procesos-de-campos-tecnologicos>.
- ROMERO, M.**, *Tratamientos Utilizados En La Potabilización De Agua.* [en línea], 2008 pp. 12. [Consulta: 13 marzo 2016]. Disponible en: [http://www.tec.url.edu.gt/boletin/URL\\_08\\_ING02.pdf](http://www.tec.url.edu.gt/boletin/URL_08_ING02.pdf).
- SANCHEZ, R.**, *Water quality problems in Nogales, Sonora. Environmental Health Perspectives* [en línea], 1995 vol. 103, no. 1, pp. 93-97. [Consulta: 9 abril 2016]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1519322/>.
- SANCHÓN, M.**, *La contaminación del agua.* [en línea], 2002 pp. 1-5. [Consulta: 7 junio 2016]. Disponible en: [http://ocw.unican.es/ciencias-de-la-salud/salud-publica-y-atencion-primaria-de-salud/otros-recursos-1/lecturas/bloque-iii/Contaminacion del agua.pdf](http://ocw.unican.es/ciencias-de-la-salud/salud-publica-y-atencion-primaria-de-salud/otros-recursos-1/lecturas/bloque-iii/Contaminacion%20del%20agua.pdf).
- SANZ, C.**, *Prácticas De Microbiología Clínica.* [en línea], 2012 vol. 1. [Consulta: 19 mayo 2016]. Disponible en: <http://asignatura.us.es/mbclinica/docs/practicas/practicas-mbclinica-miercoles-1213.pdf>.
- SCRIBD**, *Proceso de fabricación del Agua Embotellada.* [en línea], 2012 pp. 10. [Consulta: 12 junio 2016]. Disponible en: <https://es.scribd.com/doc/65460172/un-proceso-de-fabricacion-del-agua-embotellada>.

**SIMANCA, M .et. al.,***Calidad Física, Química y Bacteriológica del Agua Envasada en el Municipio de Montería.* [en línea],2010 vol. 15, no. 1, pp. 13. [Consulta: 17 junio 2016]. Disponible en: <http://revistas.unicordoba.edu.co/ojs/index.php/temasagrarios/article/view/394>.

**SIMBAÑA GUALLIQUICO, Edison Paul & CHIZAOCAÑA ,Edwin Marcel.** Construcción de un prototipo de máquina tapadora de botellas rosca estandar de 500mL controlada mediante un PLC para microempresas [en línea]. (tesis) Escuela Politécnica Nacional., Quito ,Ecuador 2012 pp 60-66 [Consulta: 12 abril 2016]. Disponible en: <http://bibdigital.epn.edu.ec/bitstream/15000/5661/1/CD-4661.pdf>.

**SLIDESHARE,** *Cocos GRAM positivos-GRAM Negativos.* [en línea],2011 [Consulta: 12 abril 2016]. Disponible en: <http://es.slideshare.net/Altajimenez/cocos-gram-negativos-seccion-05>.

**SLIDESHARE,** *Proceso de purificacion del agua.* [en línea], 2012 pp. 3. [Consulta: 17 abril 2016]. Disponible en: <http://es.slideshare.net/hahimive/agua-de-mesa-15597414>.

**STANDARD METHODS,***Multiple-tube Fermentation Technique For Members Of The Coliform Group.* [en línea], 2006pp. 48-59. [Consulta: 13 junio 2016]. Disponible en: <http://accounts.smccd.edu/case/biol690/ref/mpn.pdf>.

**SURVIO,** *Agua embotellada.* [en línea],2012 pp. 78. [Consulta: 6 junio 2016]. Disponible en: <http://www.survio.com/survey/d/Q5W5E2W0S8I1Q7G4T>.

**TAPIA SANTANA, Pablo Andrés. &CALUPIÑA MORA , Carlos Javier.,** Análisis de la evolución del mercado de agua embotellada [en línea]. (Tesis) Universidad Politécnica Salesina, Administración de Empresas, ingeniería Comercial Quito Ecuador.2014 pp 20-80 [Consulta: 4 abril 2016]. Disponible en: <file:///D:/USUARIO/Downloads/UPS-QT04644.pdf>.

**TOBERGTE, D et al** *Enfermedades transmitidas a través del agua.* [en línea], 2013 vol. 53, no. 9, pp. 1689-1699. [Consulta: 17 mayo 2016]. Disponible en: [http://docencia.udea.edu.co/bacteriologia/MicrobiologiaAmbiental/microbiologia\\_9.pdf](http://docencia.udea.edu.co/bacteriologia/MicrobiologiaAmbiental/microbiologia_9.pdf).

**VILLEGAS JIMÉNEZ, Verónica Cristina.**, Análisis físico-químico y microbiológico de aguas envasadas en fundas consumidas masivamente en en Cantón Shushufindi, Provincia Sucumbíos variando las condiciones de almacenamiento [en línea].Universidad Central del Ecuador Facultad de Ciencias Químicas Escuela de Química Farmacéutica, Quito, Ecuador 2013 pp 30-90 [Consulta: 14 marzo 2016]. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/1893/1/T-UCE-0008-25.pdf>.

**WEBMD**, *Bacteria Found in Bottled Mineral Water embotellada*. [en línea], 2004 [Consulta: 16 mayo 2016]. Disponible en: <http://www.webmd.com/food-recipes/food-poisoning/20041104/bacteria-found-in-bottled-mineral-water>.

**WU, T .et. al.,** *Molecular epidemiology of nosocomial infection associated with multi-resistant Acinetobacter baumannii by infrequent-restriction-site PCR*. [en línea], 2002, pp. 21-32. [Consulta: 2 marzo 2016]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12009817>.

**ZAVALAGA, N.,** *Calidad Microbiológica Y Físicoquímica Del Agua Embotellada , Comercializada En La Ciudad De Tacna*. [en línea], 2012. [Consulta: 16 agosto 2016]. Disponible en: [http://tesis.unjbg.edu.pe:8080/bitstream/handle/unjbg/135/29\\_Zavalaga\\_Talledo\\_EN\\_FACI\\_Biologia\\_Microbiologia\\_2012\\_Resumen.pdf?sequence=2](http://tesis.unjbg.edu.pe:8080/bitstream/handle/unjbg/135/29_Zavalaga_Talledo_EN_FACI_Biologia_Microbiologia_2012_Resumen.pdf?sequence=2).

**3M FOOD SAFETY**, *Aerobic Count Plate*. [en línea], 2014 pp. 130. [Consulta: 2 abril 2016]. Disponible en: <http://multimedia.3m.com/mws/media/2361940/petriefilm-aerobic-interpretation-guide.pdf>.

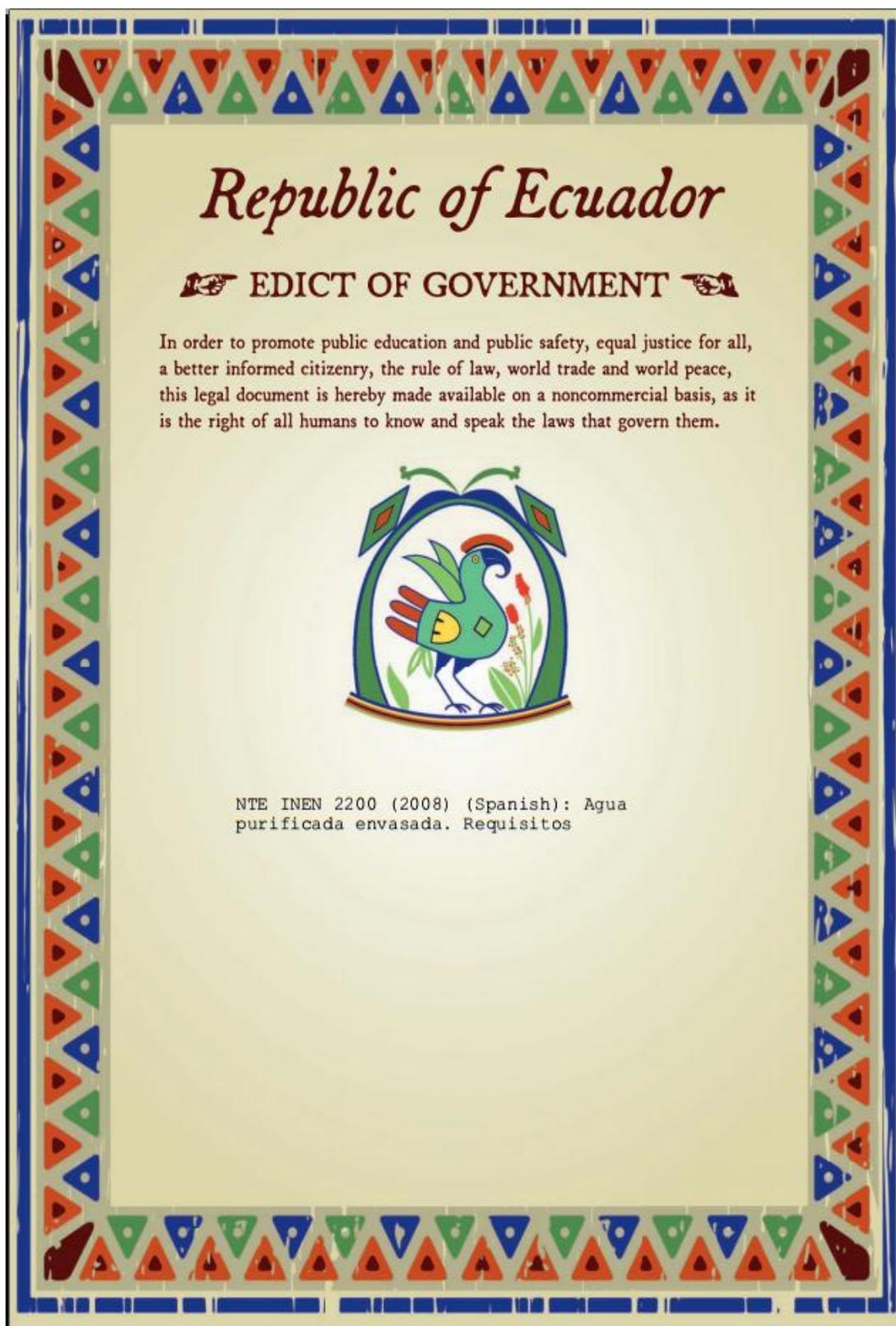
**3M MICROBIOLOGY**, *3M TM Petrifilm Guía de Interpretación. Guía de interpretación* [en línea], 2003 pp. 80. [Consulta: 3 marzo 2016]. Disponible en: [http://jornades.uab.cat/workshopmrama/sites/jornades.uab.cat.workshopmrama/files/Petriefilm\\_guias.pdf](http://jornades.uab.cat/workshopmrama/sites/jornades.uab.cat.workshopmrama/files/Petriefilm_guias.pdf).

**3M MICROBIOLOGY**, *Placas Petrifilm 3M para el recuento de Aerobios*. [en línea], 2006 pp. 6. [Consulta: 4 febrero 2016]. Disponible en:

[http://jornades.uab.cat/workshopmrama/sites/jornades.uab.cat/workshopmrama/files/Petrifilm\\_guias.pdf](http://jornades.uab.cat/workshopmrama/sites/jornades.uab.cat/workshopmrama/files/Petrifilm_guias.pdf)

## ANEXOS

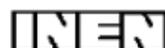
### Anexo A: Norma NTE INEN 2200:2008 Agua Purificada Envasada Requisitos



BLANK PAGE



PROTECTED BY COPYRIGHT



# INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN

Quito - Ecuador

---

**NORMA TÉCNICA ECUATORIANA**

**NTE INEN 2 200:2008**  
**Primera revisión**

---

## **AGUA PURIFICADA ENVASADA. REQUISITOS.**

**Primera Edición**

PACKED PURIFICATE WATER. SPECIFICATIONS.

First Edition

---

DESCRIPTORES: Tecnología de los alimentos, bebidas, bebidas no alcohólicas, aguas.  
AL 04.04-405  
CDU: 614.777.620.113  
CIIU: 4200  
ICS: 67.160.20

Norma Técnica  
Ecuatoriana  
Obligatoria

AGUA PURIFICADA ENVASADA.  
REQUISITOS.

NTE INEN  
2 200:2008  
Primera revisión  
2008-08

### 1. OBJETO

1.1 Esta norma establece los requisitos que debe cumplir el agua purificada envasada para consumo humano.

### 2. ALCANCE

2.1 Esta norma se aplica también a las aguas purificadas mineralizadas envasadas, se excluyen las aguas minerales naturales, las aguas de fuente y las aguas purificadas de uso farmacéutico.

### 3. DEFINICIONES

3.1 **Agua purificada envasada.** Se considera agua purificada envasada, carbonatada o no, a las aguas destinadas al consumo humano que sometidas a un proceso fisicoquímico y de desinfección de microorganismos, cumple con los requisitos establecidos en esta norma y es envasada en recipientes de cierre hermético e inviolable, fabricados de material grado alimentario.

3.2 **Agua purificada mineralizada envasada.** Se entiende al producto elaborado con agua purificada adicionada de minerales de uso permitido, carbonatada o no y es envasada en recipientes de cierre hermético e inviolable, fabricados de material grado alimentario.

### 4. DISPOSICIONES GENERALES

4.1 Los cierres de los envases utilizados para el agua purificada deben ser herméticos y garantizar que el envase no ha sido abierto después de llenado y antes de la venta al consumidor.

4.2 Las instalaciones destinadas a la producción y envasado, deben ser apropiadas para excluir toda posibilidad de contaminación; con este objeto y en particular:

- a) las tuberías y los depósitos deben estar contruidos con materiales inertes y de modo tal que impidan el ingreso de sustancias extrañas en el agua;
- b) las instalaciones destinadas al lavado de los envases retornables y las destinadas a producción deben satisfacer los requisitos de Buenas Prácticas de Manufactura y las disposiciones sanitarias vigentes.

### 5. REQUISITOS

#### 5.1 Requisitos específicos

5.1.1 *Requisitos de materia prima.* Los parámetros físicos, químicos y microbiológicos del agua previa al proceso de purificación debe cumplir con los requisitos de la NTE INEN 1 108.

5.1.2 *Requisitos de producto.* El agua purificada envasada o el agua mineralizada purificada envasada deben cumplir con los requisitos físicos establecidos en la tabla 1.

(Continúa)

DESCRIPTORES: Tecnología de los alimentos, bebidas, bebidas no alcohólicas, aguas.

**TABLA 1. Requisitos físicos del agua purificada envasada o agua purificada mineralizada envasada**

REQUISITOS	Mínimo	Máximo
Color expresado en unidades de color verdadero (UTC)	--	5
Turbiedad expresada en unidades nefelométricas de turbiedad NTU	--	3
Sólidos totales disueltos expresados en mg/l:		
- Agua purificada envasada	--	500
- Agua purificada mineralizada envasada	250	1000
pH a 20°C:		
- no carbonatada,	6,5	8,5
- carbonatada,	4,0	8,5
- proceso de ósmosis y destilación	5,0	7,0
Cloro libre residual, mg/l	0,0	0,0
Dureza, CaCO <sub>3</sub> , mg/l	-	300
Olor y sabor	inobjetable	

5.1.3 El agua purificada envasada o el agua purificada mineralizada envasada debe cumplir con los requisitos microbiológicos indicados en la tabla 2.

**TABLA 2. Requisitos microbiológicos para muestra unitaria o de anaquel**

	Límite máximo
Aerobios mesófilos, UFC/ml	$1,0 \times 10^2$
Coliformes NMP/100 ml	< 1,8
Coliformes UFC/100ml	< $1,0 \times 10^0$
NOTA: Los valores < 1,8 y < $1,0 \times 10^0$ significan ausencia, o no detectables	

5.1.4 La cantidad máxima de sustancias inorgánicas, orgánicas, elementos radiactivos y de residuos de plaguicidas debe cumplir con lo indicado en la NTE INEN 1 108.

## 6. INSPECCIÓN

### 6.1 Muestreo

6.1.1 El muestreo en planta para la determinación de los requisitos fisicoquímicos y microbiológicos se efectuará de acuerdo con lo indicado en la NTE INEN 1 077.

6.1.2 Las muestras en anaquel se tomarán de un mismo lote y en la cantidad que la técnica de análisis lo requiera.

### 6.2 Aceptación o rechazo

6.2.1 Se aceptará la muestra o los lotes que cumplan con todos los requisitos indicados en esta norma, caso contrario se rechazará.

(Continúa)

## 7. MÉTODOS DE ENSAYO

7.1 Los métodos de ensayo utilizados para los análisis que se especifican en esta norma serán los métodos normalizados para el agua potable y residual (Standard Methods) especificados en su última edición.

## 8. ENVASADO

8.1 Los envases utilizados deben presentar cierre seguro e inviolable, de modo que no se evidencien pérdidas de su contenido como consecuencia de los procesos propios del transporte y almacenamiento de los mismos.

8.2 Los envases retornables o no retornables y las tapas deben ser de materiales de calidad grado alimenticio, certificados por el fabricante o proveedor.

8.3 Los envases retornables antes de ser nuevamente utilizados deben ser completamente sanitizados.

8.4 El agua purificada envasada se puede comercializar en envases de hasta 20 litros.

## 9. ROTULADO

9.1 El rotulado del producto debe cumplir con lo establecido en la NTE INEN 1 334-1 y además debe indicar lo siguiente:

- a) En los envases de presentaciones superiores a 10 litros se debe poner la leyenda: "Después de abierto el envase, consúmase dentro de los diez días siguientes".
- b) Si el envase es retornable o no.
- c) El tipo de tratamiento al que ha sido sometida el agua para su purificación.

*(Continúa)*

**APENDICE Z****Z.1 DOCUMENTOS NORMATIVOS A CONSULTAR**

Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1 077:1984 *Bebidas gaseosas. Muestreo*  
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1 108:2006 *Agua potable. Requisitos (2da. Revisión)*  
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1 334-1:2000 *Rotulado de productos alimenticios para consumo humano – Parte 1 – Requisitos (1ra. Revisión)*

*Métodos normalizados para el agua potable y residual (Standard Methods)* en su última edición. Publicado por la APHA (American Public Health Association), AWWA (American Water World Association) y WEF (Water Environment Federation).

**Z.2 BASES DE ESTUDIO**

Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1 108 (2R). *Agua potable. Requisitos.* Instituto Ecuatoriano de Normalización, INEN. Quito, 2006.

Code of Federal regulations, *CFR Food and Drug Administration* FDA PART 165—BEVERAGES Subpart B—Requirements for Specific Standardized Beverages 165.110 Bottled water.

Código Alimentario Argentino, CAPITULO XII *Bebidas Hídricas, agua y agua gasificada, agua gasificada* Artículo 983 - (Res N° 494 del 7.07.94).

Internacional Bottled Water Association. *WWA. Bottled Water Code of Practice.* Revised March, 2005 International Bottled Water Association 1700 Diagonal Road, Suite 650 Alexandria, VA 22314 (703) 683-5213 <http://www.bottledwater.org>

Secretaría de la Salud Norma Oficial Mexicana NOM-201-SSA1-2002, *Productos y servicios. Agua y Hielo para consumo humano, envasados y a granel.* Especificaciones sanitarias.

FDA Quality Standars, *NSF Certification Services Bottled water program.*

## INFORMACIÓN COMPLEMENTARIA

**Documento:** TITULO: AGUA PURIFICADA ENVASADA. REQUISITOS. **Código:**  
NTE INEN 2 200 **AL 04.04.405**  
Primera revisión

<b>ORIGINAL:</b> Fecha de iniciación del estudio:	<b>REVISIÓN:</b> Fecha de aprobación anterior por Consejo Directivo 1998-10-08 Oficialización con el Carácter de Obligatoria por Acuerdo No. 980131 de 1998-11-11 publicado en el Registro Oficial No. 70 de 1998-11-19  Fecha de iniciación del estudio:
--	---

Fechas de consulta pública: de a

Subcomité Técnico: **Agua Purificada**

Fecha de iniciación: 2006-12-07

Fecha de aprobación: 2007-07-12

Integrantes del Subcomité Técnico:

### NOMBRES:

Ing. Sergio Vinueza (Presidente del SCT)  
Ing. Marcelo Maldonado  
Ing. Santiago Gómez  
Ing. Arturo Ordóñez

Ing. Benito Mendoza  
Dra. Alexandra Levoyer  
Dra. Elizabeth Uribe  
Ing. Roberto Núñez  
Ing. Marco Solano  
Sr. Eduardo Toral  
Ing. Richar Casamen  
Dra. Virginia Trujillo  
Ing. Juan José Vaca

Dra. Raquel Rodríguez  
Dra. Ma. Esperanza Berrezueta  
Ing. Clara Benavides  
Ing. Fabricio Intriago  
Ing. Marcelo Gallegos  
Dra. Lucía Navas  
Dra. Meyra Manzo

Dra. Loyde Triana

Dra. Margarita Ordóñez

Ing. María E. Dávalos (Secretaría Técnica)

### INSTITUCIÓN REPRESENTADA:

INDUSTRIAL EMBOTELLADORA QUITO S.A.  
AGUA PURIFICADA GLUS  
AGUA PURIFICADA GLUS  
AGUA MANANTIAL, CERVECERÍA ANDINA,  
GUAYAQUIL  
UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO  
INDUQUITO S.A.  
THE TESALIA SPRINGS C.O.  
PURE WATER GAMAPRODU  
CERVECERÍA ANDINA S.A.  
SUPERAGUA  
HIDRO 2S  
DANDELION ORANGINE S.A.  
REFRESHMENT PRODUCT SERVICES  
ECUADOR  
TRANSPUREZA S.C.C.  
UNIAGUA – UNIVERSIDAD CENTRAL  
SUMESA S.A.  
AGRICOLA GANADERA REYSAHIWAL  
ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL  
INSTITUTO NACIONAL DE HIGIENE, QUITO  
INSTITUTO NACIONAL DE HIGIENE,  
GUAYAQUIL  
INSTITUTO NACIONAL DE HIGIENE,  
GUAYAQUIL  
INSTITUTO NACIONAL DE HIGIENE,  
GUAYAQUIL  
INEN - REGIONAL CHIMBORAZO

Otros trámites:

El Directorio del INEN aprobó este proyecto de norma en sesión de 2008-07-23

Oficializada como: Obligatoria  
Registro Oficial No. 403 de 2008-08-14

Por Resolución No. 086-2008 de 2008-07-24

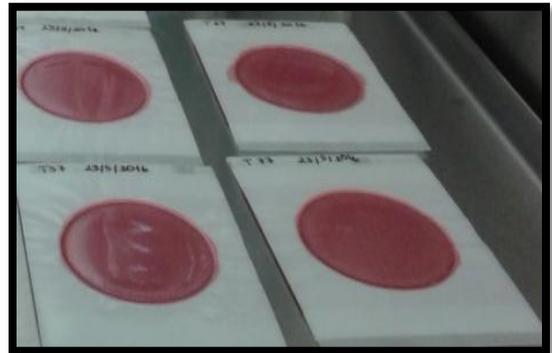
**Anexo B:** Muestras de aguas embotelladas para el análisis microbiológico



**Anexo C:** Siembra de Aerobios Mesófilos 3M Petrifilm



**Anexo D:** Siembra de Coliformes totales y fecales 3M Petrifilm



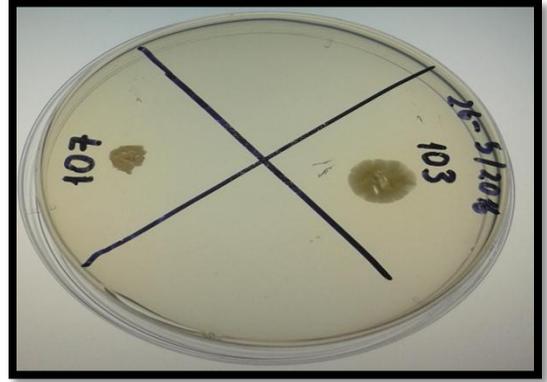
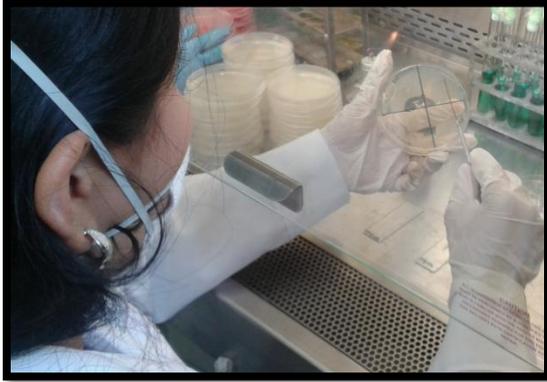
**Anexo E:** Recuento de Coliformes Totales y Fecales



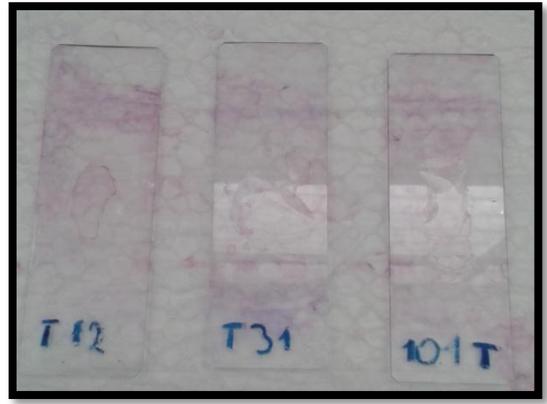
**Anexo E:** Recuento de Aerobios Mesófilos



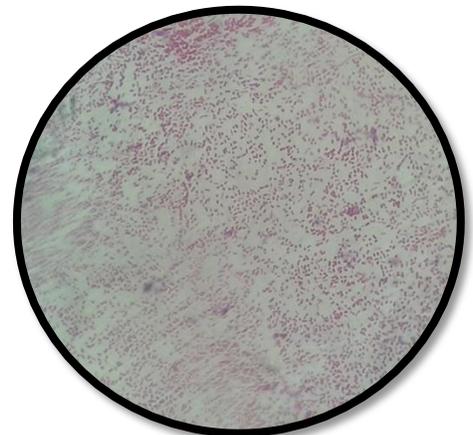
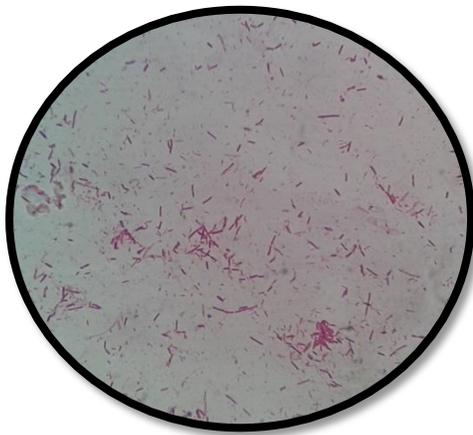
**Anexo G:** Aislamiento y siembra de las Colonias Aerobios Mesófilos en Agar Mueller Hinton



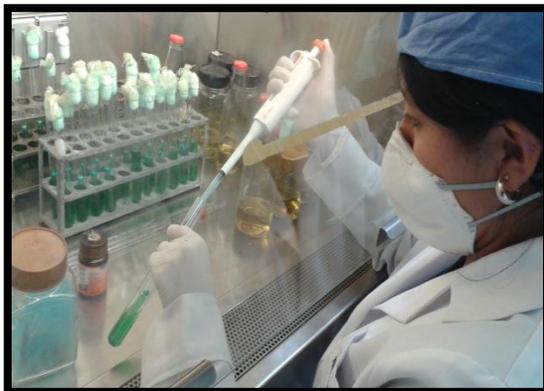
**Anexo H:** Tinción GRAM de las colonias Aisladas de microorganismos Aerobios Mesófilos



**Anexo I:** Morfología Microscópica de las Bacterias Cocos y Bacilos GRAM Positivos



**ANEXO J: Siembra de Coliformes Totales y Fecales Por la Técnica del NMP**



**Anexo K:** NPM Index and 95% confidence limits for various combinations of positive results when five tubes are used per dilution (10mL, 1.0mL, 0,1mL)

Combinación de tubos positivos			NMP/100mL	Límites de 95% de confianza		Combinación de tubos positivos			NMP/100mL	Límites de 95% de confianza	
				Inferior	Superior					Inferior	Superior
0	0	0	< 1.8	-	6.8	4	0	3	25	9.8	70
0	0	1	1.8	0.090	6.8	4	1	0	17	6.0	40
0	1	0	1.8	0.090	6.9	4	1	1	21	6.8	42
0	1	1	3.6	0.70	10	4	1	2	26	9.8	70
0	2	0	3.7	0.70	10	4	1	3	31	10	70
0	2	1	5.5	1.8	15	4	2	0	22	6.8	50
0	3	0	5.6	1.8	15	4	2	1	26	9.8	70
1	0	0	2.0	0.10	10	4	2	2	32	10	70
1	0	1	4.0	0.70	10	4	2	3	38	14	100
1	0	2	6.0	1.8	15	4	3	0	27	9.9	70
1	1	0	4.0	0.71	12	4	3	1	33	10	70
1	1	1	6.1	1.8	15	4	3	2	39	14	100
1	1	2	8.1	3.4	22	4	4	0	34	14	100
1	2	0	6.1	1.8	15	4	4	1	40	14	100
1	2	1	8.2	3.4	22	4	4	2	47	15	120
1	3	0	8.3	3.4	22	4	5	0	41	14	100
1	3	1	10	3.5	22	4	5	1	48	15	120
1	4	0	10	3.5	22	5	0	0	23	6.8	70
2	0	0	4.5	0.79	15	5	0	1	31	10	70
2	0	1	6.8	1.8	15	5	0	2	43	14	100
2	0	2	9.1	3.4	22	5	0	3	58	22	150
2	1	0	6.8	1.8	17	5	1	0	33	10	100
2	1	1	9.2	3.4	22	5	1	1	46	14	120
2	1	2	12	4.1	26	5	1	2	63	22	150
2	2	0	9.3	3.4	22	5	1	3	84	34	220
2	2	1	12	4.1	26	5	2	0	49	15	150
2	2	2	14	5.9	36	5	2	1	70	22	170
2	3	0	12	4.1	26	5	2	2	94	34	230
2	3	1	14	5.9	36	5	2	3	120	36	250
2	4	0	15	5.9	36	5	2	4	150	58	400
3	0	0	7.8	2.1	22	5	3	0	79	22	220
3	0	1	11	3.5	23	5	3	1	110	34	250
3	0	2	13	5.6	35	5	3	2	140	52	400
3	1	0	11	3.5	26	5	3	3	170	70	400
3	1	1	14	5.6	36	5	3	4	210	70	400
3	1	2	17	6.0	36	5	4	0	130	36	400
3	2	0	14	5.7	36	5	4	1	170	58	400
3	2	1	17	6.8	40	5	4	2	220	70	440
3	2	2	20	6.8	40	5	4	3	280	100	710
3	3	0	17	6.8	40	5	4	4	350	100	710
3	3	1	21	6.8	40	5	4	5	430	150	1100
3	3	2	24	9.8	70	5	5	0	240	70	710
3	4	0	21	6.8	40	5	5	1	350	100	1100
3	4	1	24	9.8	70	5	5	2	540	150	1700
3	5	0	25	9.8	70	5	5	3	920	220	2600
4	0	0	13	4.1	35	5	5	4	1600	400	4600
4	0	1	17	5.9	36	5	5	5	>1600	700	-
4	0	2	21	6.8	40						

Fuente: (Standard Methods 2006)