



UNIVERSIDAD DE CUENCA

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

**“CONTROL MICROBIOLÓGICO EN ETAPAS DE PURIFICACIÓN Y
PRODUCTO TERMINADO DE EL AGUA DE BIDONES”**

**TESIS PREVIA A LA
OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE
BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO**

AUTORES:

HENRY GEOVANNY LEÓN BRAVO

JANDRY RAMIRO NEIRA SANDOYA.

DIRECTORA DE TESIS:

DRA. MARIANA ELIZABETH SAÁ CRUZ.

CUENCA – ECUADOR

2013

RESUMEN

En el presente trabajo de investigación se evaluó la calidad microbiológica de el agua de bidones en etapas de purificación y como producto terminado, de la Fábrica Cuenca Bottling Company; además se determinaron los sitios de contaminación estableciendo las posibles causas de la misma.

El presente estudio tiene un diseño observacional, analítico, prospectivo de corte transversal. Se efectuó un muestreo aleatorio simple a conveniencia, bajo este criterio se realizaron 432 análisis microbiológicos en un periodo de seis semanas comprendidos entre los meses de abril y junio.

Los indicadores de calidad microbiológica seleccionados fueron coliformes totales y aerobios mesófilos, los mismos que se encuentran señalados en la norma técnica ecuatoriana dando un criterio de los niveles máximos permisibles y como se encuentra el agua a envasarse en las diferentes etapas de purificación, los mohos y levaduras, fueron seleccionados bajo tres criterios, es un indicador propio de la fábrica, además ésta agua purificada se empleará como materia prima para la elaboración de bebidas gaseosas donde si está normalizada su presencia, y finalmente los mohos y levaduras son indicadores de materia orgánica en descomposición.

Para el análisis de los indicadores microbiológicos se empleó el método de la membrana filtrante Millipore®. Los datos obtenidos se analizaron estadísticamente mediante el programa SPSS v.16.0 para Windows, con un nivel de significancia de $P < 0,05$.

Los resultados obtenidos mostraron una baja calidad microbiológica del agua de bidones. Las etapas correspondientes al purificador de carbón y ósmosis inversa son los sitios que presentan mayor contaminación en proceso.

Palabras Clave: Filtración de membrana Millipore®, agua embotellada, bidón, indicadores microbiológicos ozonización.

ABSTRACT

In the present study aimed to examine the microbiological quality of water in purification steps drums and as finished product, Cuenca Factory Bottling Company , also identified the sites of contamination establishing the possible causes of it.

The present study is an observational, analytical, prospective cross-sectional. We performed a simple random sample of convenience, under this criterion 432 microbiological analyzes were performed over a period of six weeks between the months of April and June.

Microbiological quality indicators selected were total coliforms and aerobic mesophilic bacteria , the same that are mentioned in the technical standard criterion Ecuadorian giving a maximum permissible levels as the water is filled into the various stages of purification , molds and yeasts were selected on three criteria , is an indicator of the factory itself , and this purified water is used as raw material for the production of soft drinks which if standardized its presence , and finally molds and yeasts are indicators of organic matter decomposition. For analyzing the microbiological indicators was employed the method of Millipore ® membrane filter. The data were statistically analyzed using SPSS v.16.0 for Windows, with a significance level of $P < 0.05$.

The results showed low microbiological water quality drums. The stages for the coal purifier and reverse osmosis are the sites that have more pollution in the process.

Keywords: Millipore ® membrane filtration , bottled water, container , ozonation microbiological indicators .



INDICE GENERAL

Introducción	14
Capítulo 1: MARCO TEÓRICO.....	15
1.1 Calidad del agua	15
1.1.1 Parámetros de calidad del agua	15
1.1.1.1 Parámetros de calidad física del agua	15
1.1.1.2 Parámetros de calidad química del agua	17
1.1.1.3 Parámetros de calidad microbiológica del agua	19
1.2. Microflora del agua	22
1.2.1 Agua naturales y microorganismos contaminantes.....	22
1.2.1.1 Agua meteóricas	22
1.2.1.2 Aguas superficiales.....	22
1.2.1.3 Aguas embalsadas	23
1.2.1.4 Aguas subterráneas.....	23
1.2.2 Clasificación de las bacterias presentes en aguas naturales de acuerdo a su origen	23
1.2.2.1 Bacterias naturales o propias del agua.....	23
1.2.2.2 Bacterias arrastradas del suelo.....	23
1.2.2.3 Bacterias de la flora intestinal	23
1.2.3 Factores que varían la microflora del agua	24
1.2.4 Contaminantes y contaminación del agua	24
1.2.4.1 Biológicos	24
1.2.4.2 Químicos.....	24



1.2.5 Enfermedades transmitidas por el agua	25
1.3 Agua purificada y envasada.....	26
1.3.1 Proceso de purificación del agua	26
1.3.1.1 Recepción del agua potable	26
1.3.1.2 Cisterna	27
1.3.1.3 Tanque reactor.....	28
1.3.1.4 Filtro de arena.....	28
1.3.1.5 Purificador de carbón activado.....	29
1.3.1.6 Filtros pulidores.....	30
1.3.1.7 Tanque ablandador	30
1.3.1.8 Ósmosis inversa	32
1.3.1.9 Ozonización del agua	34
1.3.1.10 Luz ultravioleta.....	36
1.3.1.11 Llenadora de bidones	38
Capítulo 2: MATERIALES Y MÉTODOS	39
2.1 Tipo de investigación	39
2.2 Población de estudio.....	39
2.3 Muestreo.....	39
2.4 Toma de muestra.....	41
2.4.1 Muestra del producto terminado	41
2.4.2 Muestra de las etapas de purificación.....	41
2.5 Recurso materiales	42
2.5.1 Materiales y medios de cultivo	42
2.5.1 Equipos.....	42
2.6 Fundamento de la técnica de filtración de membrana	42



2.7 Fundamento de los medios de cultivo para aerobios mesófilos, coliformes totales mohos y levaduras	43
2.7.1 Caldo extracto de glucosa triptona (TGE) MHA000P2T Millipore® ..	43
2.7.2 Caldo m-Endo MHA000P2E Millipore®	43
2.7.3 Caldo m-Green MHA000P2M Millipore®	44
2.8 Procedimiento para el análisis microbiológico de las muestras recolectadas	45
2.9 Medición de ozono.....	46
2.9.1 Fundamento de la técnica.....	46
2.9.1 Toma de muestra.....	46
2.9.2 Procedimiento	47
2.10 Diseño estadístico.....	47
Capítulo 3: RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	49
3.1 Control microbiológico en producto terminado.....	49
3.2 Control microbiológico en etapas de purificación.....	51
3.2.1 Contaminación por aerobios mesófilos	51
3.2.2 Contaminación por coliformes totales	53
3.2.3 Contaminación por mohos y levaduras.....	55
3.3 Efecto de la concentración de ozono sobre la contaminación microbiana de los bidones comerciales	57
CONCLUSIONES	58
RECOMENDACIONES.....	60
BIBLIOGRAFÍA.....	61
ANEXOS.....	64

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Proceso de purificación del agua de bidón	26
Figura 2: Proceso típico de potabilización de agua	27
Figura 3: Tanque cisterna en Cuenca Bottling Company	27
Figura 4: Diseño de tanque reactor	28
Figura 5: Diseño de filtro de arena y filtro carbón	30
Figura 6: Diseño de tanque ablandador.....	31
Figura 7: Tanque ablandador en Cuenca Bottling Company	32
Figura 8: Funcionamiento de la ósmosis inversa.....	33
Figura 9: Ósmosis inversa en Cuenca Bottling Company.....	33
Figura 10: Funcionamiento del proceso de ozonización.....	34
Figura 11: Equipo de ozonización en Cuenca Bottling Company	36
Figura 12: Funcionamiento de lámpara UV para desinfección del agua	37
Figura 13: Lámpara de luz UV germicida	38
Figura 14: Máquina llenadora de bidones en Cuenca Bottling Company	38
Figura 15: Medios de cultivo empleados para el análisis microbiológico	44

LISTA DE TABLAS

Tabla 1: Parásitos más frecuentes transmitidos por el agua.....	25
Tabla 2: Bacterias más frecuentes transmitidas por agua	25
Tabla 3: Muestreos de las diferentes etapas de purificación y de producto terminado.....	39
Tabla 4: Cronograma de muestreo para análisis microbiológico	39
Tabla 5: Comportamiento de la media de los indicadores microbiológicos en los duplicados de los bidones de diferentes lotes comerciales.....	49
Tabla 6: Análisis de varianza para las medias de las UFC/ml de aerobios mesófilos en las diferentes etapas del proceso de purificación	51
Tabla 7: Análisis de varianza para las medias de las UFC/ml de coliformes totales en las diferentes etapas del proceso de purificación	53
Tabla 8: Análisis de varianza para las medias de las UFC/ml de mohos y levaduras en las diferentes etapas del proceso de purificación.....	55
Tabla 9: Efecto de diferentes concentraciones de ozono sobre la calidad microbiológica de los bidones comerciales. Se representan las medianas y el rango de los datos	57



LISTA DE GRÁFICAS

Gráfica 1: Porcentaje de muestras que sobrepasan los valores normales establecidos por la norma nacional y norma técnica colombiana para el agua embotellada en la fábrica. 49

Gráfica 2: Comportamiento de las medias de los recuentos de aerobios mesófilos en las diferentes etapas de purificación 52

Gráfica 3: Comportamiento de las medias de los recuentos de coliformes totales en las diferentes etapas de purificación 54

Gráfica 4: Comportamiento de las medias de los recuentos de los mohos y levaduras en las diferentes etapas de purificación..... 56



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Fundada en 1867

Yo, Henry Geovanny León Bravo, autor de la tesis "CONTROL MICROBIOLÓGICO EN ETAPAS DE PURIFICACIÓN Y PRODUCTO TERMINADO DE EL AGUA DE BIDONES", certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autor.

Cuenca, 12 de Noviembre del 2013



Henry Geovanny León Bravo

0301601522

Cuenca Patrimonio Cultural de la Humanidad. Resolución de la UNESCO del 1 de diciembre de 1999

Av. 12 de Abril, Ciudadela Universitaria, Teléfono: 405 1000, Ext.: 1311, 1312, 1316

e-mail cdjbv@ucuenca.edu.ec casilla No. 1103

Cuenca - Ecuador



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Fundada en 1867

Yo, Jandry Ramiro Neira Sandoya, autor de la tesis "CONTROL MICROBIOLÓGICO EN ETAPAS DE PURIFICACIÓN Y PRODUCTO TERMINADO DE EL AGUA DE BIDONES", certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autor.

Cuenca, 12 de Noviembre del 2013


Jandry Ramiro Neira Sandoya
1104094956

Cuenca Patrimonio Cultural de la Humanidad. Resolución de la UNESCO del 1 de diciembre de 1999

Av. 12 de Abril, Ciudadela Universitaria, Teléfono: 405 1000, Ext.: 1311, 1312, 1316
e-mail cdjbv@ucuenca.edu.ec casilla No. 1103
Cuenca - Ecuador




UNIVERSIDAD DE CUENCA

Fundada en 1867

Yo, Jandry Ramiro Neira Sandoya, autor de la tesis "CONTROL MICROBIOLÓGICO EN ETAPAS DE PURIFICACIÓN Y PRODUCTO TERMINADO DE EL AGUA DE BIDONES", reconozco y acepto el derecho de la Universidad de Cuenca, en base al Art. 5 literal c) de su Reglamento de Propiedad Intelectual, de publicar este trabajo por cualquier medio conocido o por conocer, al ser este requisito para la obtención de mi título de Bioquímico Farmacéutico. El uso que la Universidad de Cuenca hiciere de este trabajo, no implicará afección alguna de mis derechos morales o patrimoniales como autor.

Cuenca, 12 de Noviembre del 2013


Jandry Ramiro Neira Sandoya
1104094956

Cuenca Patrimonio Cultural de la Humanidad. Resolución de la UNESCO del 1 de diciembre de 1999

Av. 12 de Abril, Ciudadela Universitaria, Teléfono: 405 1000, Ext.: 1311, 1312, 1316
e-mail cdjbv@ucuenca.edu.ec casilla No. 1103
Cuenca - Ecuador




UNIVERSIDAD DE CUENCA

Fundada en 1867

Yo, Henry Geovanny León Bravo, autor de la tesis "CONTROL MICROBIOLÓGICO EN ETAPAS DE PURIFICACIÓN Y PRODUCTO TERMINADO DE EL AGUA DE BIDONES", reconozco y acepto el derecho de la Universidad de Cuenca, en base al Art. 5 literal c) de su Reglamento de Propiedad Intelectual, de publicar este trabajo por cualquier medio conocido o por conocer, al ser este requisito para la obtención de mi título de Bioquímico Farmacéutico. El uso que la Universidad de Cuenca hiciere de este trabajo, no implicará afección alguna de mis derechos morales o patrimoniales como autor.

Cuenca, 12 de Noviembre del 2013


Henry Geovanny León Bravo
0301601522

Cuenca Patrimonio Cultural de la Humanidad. Resolución de la UNESCO del 1 de diciembre de 1999

Av. 12 de Abril, Ciudadela Universitaria, Teléfono: 405 1000, Ext.: 1311, 1312, 1316
e-mail cdjbv@ucuenca.edu.ec casilla No. 1103
Cuenca - Ecuador

INTRODUCCIÓN

El acceso a fuentes de abasto de agua potable es un determinante importante en la salud y calidad de vida de las poblaciones; es por ello que cada año crece más la preocupación mundial, dado que las características químico-físicas y microbiológicas de este imprescindible recurso natural se encuentran constante y crecientemente afectadas por las actividades humanas y los fenómenos naturales.

En este sentido en los últimos años se ha registrado un dramático incremento en el consumo de agua embotellada, presumiblemente por su mayor pureza y menor contenido de sustancias químicas que afectan sus propiedades organolépticas. Se ha llegado así a recomendar a este producto como de excelencia para la preparación de fórmulas para infantes y personas inmunosuprimidas.⁽¹⁾

Sin embargo, a pesar de que se realizan diferentes procesos de purificación del agua no se garantiza que el producto final cumpla con los requisitos microbiológicos mínimos para su expendio, puesto que para las entidades reguladoras es difícil detectar contaminación en las fases intermedias del tratamiento y en todos los lotes disponibles en el mercado. En este contexto existe una gran preocupación sobre la calidad del agua embotellada porque puede ser un vehículo de microorganismos patógenos que afectan la salud de los consumidores.

Por todo lo anterior, el presente estudio plantea realizar el control microbiológico de el agua de bidones Pure Water®, producido y embotellado por la Fábrica Cuenca Bottling Company, ubicada en la ciudad de Cuenca, provincia del Azuay. Este análisis ha sido considerado una necesidad por parte de la Fábrica para determinar una potencial contaminación en las etapas del proceso de purificación de agua y del producto terminado, identificar su origen y establecer las posibles causas.

CAPITULO 1

1. MARCO TEÓRICO

1.1 Calidad del Agua

La calidad del agua está determinada por su composición físico-química y biológica. Este estado deberá permitir su empleo sin causar daño, para lo cual requiere reunir dos características: estar exenta de sustancias y microorganismos que sean peligrosos para los consumidores y de residuos que le comuniquen sensaciones sensoriales desagradables para el consumo (color, turbiedad, olor, sabor).

El criterio de potabilidad del agua depende fundamentalmente del uso al que se la destina (humano, industrial, agrícola, etc.). La definición de agua para consumo se ha ido adaptando al avance del conocimiento científico y a las nuevas técnicas, tanto de purificación y potabilización, así como a las relacionadas con el análisis de contaminantes.

En la actualidad, existen otros caracteres que se toman en consideración cuando se habla de la calidad del agua, y que inciden de forma perjudicial en la salud del consumidor como: pesticidas, detergentes, subproductos de la desinfección y otras sustancias orgánicas e inorgánicas así como protozoos, virus, bacterias, etc. ⁽²⁾

1.1.1 Parámetros de calidad del agua. La calidad del agua está íntimamente relacionada con el nivel de vida y con el nivel sanitario de un país. El agua de consumo puede considerarse de buena calidad cuando es salubre y limpia; es decir, cuando no contiene microorganismos patógenos ni contaminantes a niveles capaces de afectar adversamente la salud de los consumidores. ⁽³⁾

Existen ciertos parámetros que se utilizan para evaluar la calidad del agua, enumerados a continuación:

1.1.1.1 Parámetros de calidad física del agua. Se controlan en agua para consumo humano los siguientes parámetros físicos: turbiedad, color, olor, sabor, temperatura, los sólidos que contenga y la conductividad específica.

- **Turbiedad:** Se aplica a las aguas que tienen materia suspendida y coloidal que interfiere con el paso de la luz a través del agua.

La turbiedad debe medirse y removerse por:

- Aspectos estéticos, la turbiedad es función de la contaminación del agua.
- Para facilitar la desinfección.
- Para cloración se debe tener una turbiedad menor de 1NTU.
- Eficiencia de los procesos de tratamiento. Es un indicador de las operaciones de tratamiento efectuadas al agua. ⁽⁴⁾

- **Color:** Está ligado a la turbiedad pero puede presentarse como una característica independiente. Se conocen dos tipos de color:

- Color verdadero o color real: se debe a sustancias en solución. Se mide después de retirar la turbiedad (sustancias suspendidas) por centrifugación,
- Color aparente: incluye la turbiedad, es decir se mide el color debido a sustancias en solución y en suspensión.

Puede ser removida por oxidación (con permanganato), por coagulación, por paso a través de lechos de carbón activado o por filtración con antracita. El agua de consumo humano debe tener menos de 75 unidades de color. ⁽⁴⁾

- **Olor y sabor:** Están íntimamente relacionados. Entre los orígenes más comunes se encuentran: la materia orgánica en solución, el ácido sulfhídrico, el cloruro de sodio, sulfatos de sodio y magnesio, hierro y manganeso, fenoles, aceites, productos de cloro, diferentes especies de algas, hongos etc. Los olores están asociados de forma directamente proporcional a la temperatura. Para evitar rechazos de los consumidores, el agua debe estar exenta de color y sabor, por lo tanto deben ser removidas las sustancias que los generan. ⁽²⁾

- **Temperatura:** Puede variar debido a efectos climáticos naturales o por la introducción de desechos industriales. Es importante porque actúa sobre procesos como la actividad biológica, la absorción de oxígeno, la precipitación de compuestos, la formación de depósitos, y por los cambios de viscosidad en los procesos de tratamiento, como desinfección por cloro, filtración, floculación, sedimentación y ablandamiento. ⁽²⁾

- **Sólidos:** Como materia sólida se clasifica toda la materia, excepto el agua, contenida en los materiales acuosos. Aguas para el consumo humano, con un alto contenido de sólidos disueltos, son por lo general de mal agrado para el paladar y pueden inducir una reacción fisiológica adversa en el consumidor. ⁽⁴⁾

1.1.1.2 Parámetros de calidad química del agua. Entre los múltiples parámetros químicos que se pueden determinar en las aguas los principales son: pH, dureza, sulfatos, acidez, cloruros, hierro, alcalinidad, fosfatos, manganeso, amonio, agentes oxidantes, aceites y grasas, arsénico, bario, boro, cadmio, cromo, cobre, cianuros, fenoles, fluoruros, mercurio, nitratos, oxígeno disuelto, pesticidas, plata, plomo, zinc, y otros elementos y sustancias que puedan estar contenidas en las aguas. ⁽²⁾

- **pH:** Concentraciones excesivas de protones (H^+) afectan el agua en algunos de sus usos y por esta razón es una medida de polución en potencia. Los valores de pH de 6,5 - 8,5 son aptos para consumo humano.

La presencia de carbonatos, fosfatos y de iones similares dan al agua un poder bufferizante y entonces la adición al agua de un ácido o de una base en tales condiciones no causa mayor efecto en el pH.

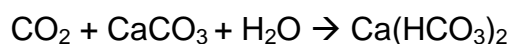
El pH debe ser monitorizado en el proceso de purificación de agua ya que la reacción del hipoclorito adiciona iones H^+ , disminuyendo el pH ($HOCl_2 \rightarrow H^+ + OCl_2$) de la misma. ⁽²⁾

- **Acidez:** La acidez o pH bajo del agua es generalmente el resultado de las condiciones geológicas, posiblemente agravado por la lluvia ácida, evaluando la posibilidad de contener metales lixiviados como el cobre, plomo, hierro, cadmio y zinc de diferentes fuentes como el sistema de plomería.

El CO₂ es el principal causante de la acidez en aguas naturales. Se introduce de la atmósfera cuando la presión parcial del CO₂ en el aire es mayor que la presión parcial del CO₂ en el agua. ⁽⁴⁾

- **Alcalinidad:** La alcalinidad en el agua se debe primordialmente a la presencia de sales de los ácidos débiles, tales como carbonatos, bicarbonatos, boratos, silicatos y fosfatos, y unos pocos ácidos orgánicos que son muy resistentes a la oxidación biológica (ácidos húmicos) y llegan a formar sales que contribuyen a la alcalinidad total. ⁽⁵⁾

La alcalinidad debida a hidróxidos, carbonatos y bicarbonatos es tan alta que hace despreciable la contribución de otros materiales. Los bicarbonatos representan las mayores formas de alcalinidad porque se forman en cantidades considerables por la acidez del CO₂ sobre los materiales ácidos del suelo:



No se considera que la alcalinidad cause daño al hombre, pero se encuentra asociada al pH, la dureza y los sólidos disueltos que si pueden producir efectos letales. ⁽⁵⁾

- **Dureza:** Se debe principalmente a la presencia de iones metálicos divalentes. La composición química del agua y su contenido en las sales de los iones Ca⁺⁺, Mg⁺⁺, Sr⁺⁺, Fe⁺⁺, Mn⁺⁺. El agua adquiere la dureza cuando pasa a través de las formaciones geológicas que contienen los elementos minerales que la producen y por su poder solvente los disuelve e incorpora, y pueden ser encontrados, en mayor o menor grado, en la mayoría de las aguas naturales. A

veces se da como límite para denominar a un agua como dura una dureza superior a 120 mg CaCO₃/L.

Mientras que la dureza del agua no tiene efectos negativos para la salud y el medio ambiente, sí provoca otros inconvenientes como el peligro de obstrucción de tuberías, interfiere en la eficiencia de los procesos de desinfección de agua previa a ser envasada y altera sus características organolépticas; debido a esto se prefieren las aguas blandas para su consumo.

(6)

- **Oxígeno disuelto:** Todos los gases de la atmósfera son solubles en agua en algún grado. El oxígeno es pobremente soluble y no reacciona químicamente con el agua. La cantidad de oxígeno que está en el agua se denomina oxígeno disuelto. La solubilidad es directamente proporcional a la presión parcial de este gas. ⁽⁷⁾

Se mide para asegurar las condiciones aerobias de un tratamiento. Los cambios biológicos producidos en un residuo líquido se conocen por la concentración de oxígeno disuelto. Es un factor de corrosión del hierro y el acero y se controla o elimina en sistemas de distribución de agua.

Analíticamente se mide por el método de Winkler o yodimétrico. También por electrodos específicos. ⁽⁷⁾

- **Cloro:** El cloro es un gas de color amarillo verdoso que se disuelve fácilmente en agua. Olor nocivo que algunas personas pueden detectar a concentraciones por encima de 0,3 partes por millón. Como el cloro es un excelente desinfectante, se añade comúnmente a la mayoría de los suministros. En algunas partes del mundo donde no se añade cloro al agua potable, miles de personas mueren cada día a causa de enfermedades transmitidas por el agua, como la fiebre tifoidea y el cólera. ⁽⁸⁾

- **Nitratos y nitritos:** El nitrato puede llegar a las aguas superficiales y las

aguas subterráneas como consecuencia de la actividad agrícola (incluyendo la aplicación excesiva de fertilizantes nitrogenados inorgánicos y abonos), de tratamiento de aguas residuales y de la oxidación de los desechos nitrogenados productos en los excrementos humanos y animales, incluyendo tanques sépticos. El nitrito puede ser también formado químicamente en las tuberías de distribución por bacterias *Nitrosomonas* durante el estancamiento o si se utiliza cloraminación para proporcionar un desinfectante residual cuando proceso no es suficientemente bien controlado. Los niveles de nitrito en el agua potable son generalmente inferiores a 0,1 mg y el valor máximo de 0,21 mg / l.⁽⁹⁾

1.1.1.3 Parámetros de calidad microbiológica del agua. El papel tradicional de los parámetros microbiológicos indicadores de calidad en el agua de consumo humano, eran como un índice de contaminación por bacterias que, en mayor o menor grado, fueron derivadas de la contaminación fecal, sin embargo, no sólo las bacterias entéricas (*Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter*) pueden ser patógenas sino también otros agentes como virus, hongos (micotoxinas) y protozoos; los cuales tienen comportamiento ambiental y características de supervivencia diferente a las bacterias, lo que significa que las bacterias de origen fecal no son siempre un indicador adecuado de contaminación microbiológica, pero dan un gran indicio de su calidad, además de ser

Una vez que el agua se distribuye, una prueba de coliformes positiva puede indicar la presencia de contaminación fecal, pero también podrían derivar de un origen no – fecal. Sin embargo su ausencia es el indicativo fundamental de un proceso de desinfección de agua bien ejecutado.⁽¹⁰⁾

- **Coliformes totales.** Forman parte de las *Enterobacteriaceae* lactosa-positivas y constituyen un grupo de bacterias que se definen más por las pruebas usadas para su aislamiento que por criterios taxonómicos. Pertenecen a la familia *Enterobacteriaceae* y se caracterizan por su capacidad para fermentar la lactosa con producción de ácido y gas, más o menos rápidamente,

en un periodo de 24 horas y con una temperatura de incubación comprendida entre 30-37°C.

Son bacilos gramnegativos, aerobios y anaerobios facultativos, no esporulados. Del grupo coliforme, forman parte varios géneros: *Escherichia*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Citrobacter*, etc. Se encuentran en el intestino del hombre y de los animales, pero también en otros ambientes: agua, suelo, plantas, cáscara de huevo, etc.

Una elevada proporción de los coliformes que existen en los sistemas de distribución de agua no se debe a un fallo en el tratamiento en la planta, sino a un recrecimiento de las bacterias en las conducciones. Dado que es difícil distinguir entre recrecimiento de coliformes y nuevas contaminaciones, se admite que todas las apariciones de coliformes son nuevas contaminaciones, mientras no se demuestre lo contrario.

Su origen es principalmente fecal y por eso se consideran índices de contaminación fecal. Pero el verdadero índice es *Escherichia coli* tipo I ya que su origen fecal es seguro. Desde el punto de vista metodológico *Escherichia coli* es el Coliforme que presenta mayor motilidad en la prueba del Indol. ⁽¹¹⁾

- **Aerobios mesófilos.** Son microorganismos, como algunas especies de bacterias, hongos, e incluso algunos *Archaea* que son los mejores activos a temperaturas medias que van desde aproximadamente (15°C - 40°C) alcanzando el pico de la reproducción y la actividad de las bacterias mesófilas entre 30-37°C.

Las bacterias mesófilas están involucradas en la degradación y contaminación de los alimentos, tales como en el pan, los granos, las industrias lácteas, y carnes. Ejemplos de bacterias mesófilas comunes son *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas maltophilia*, *Thiobacillus novellus*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Escherichia coli*, y *Clostridium kluyveri*. ⁽¹²⁾

En el recuento de bacterias aerobias mesófilas se estima la microflora total sin especificar tipos de microorganismos. Refleja la calidad sanitaria de un alimento, las condiciones de manipulación y las condiciones higiénicas de la materia prima.

Un recuento bajo de aerobios mesófilos no implica o no asegura la ausencia de patógenos o sus toxinas, de la misma manera un recuento elevado no significa presencia de flora patógena; salvo en alimentos obtenidos por fermentación, no son recomendables recuentos elevados.

Un recuento elevado puede significar:

- Excesiva contaminación de la materia prima.
- Deficiente manipulación durante el proceso de elaboración.
- La posibilidad de que existan patógenos, pues estos son mesófilos.
- La inmediata alteración del producto.

El recuento de mesófilos indica las condiciones de salubridad de algunos alimentos, incluido el agua ⁽¹²⁾

• **Mohos y levaduras:** El grupo grande y diverso de levaduras microscópicas y mohos transmitidos por los alimentos incluye varios cientos de especies. La capacidad de estos organismos para atacar a muchos alimentos se debe en gran parte a sus requisitos ambientales relativamente versátiles. Aunque la mayoría de las levaduras y mohos son aerobios obligados (requieren oxígeno libre para el crecimiento), su requisito ácido / alcalino para el crecimiento es bastante amplio, que va desde pH 2 hasta superior a pH 9. Su rango de temperatura (10-35° C) también es amplio, con unas pocas especies capaces de crecimiento por debajo o por encima de este rango. Los requerimientos de humedad de los mohos transmitidos por los alimentos son relativamente bajos, la mayoría de las especies pueden crecer a una actividad de agua (a_w) de 0,85 o menos, aunque las levaduras generalmente requieren una mayor actividad de agua.

Ambas, levaduras y mohos, causan diferentes grados de deterioro y la descomposición de los alimentos. Pueden invadir y crecer en casi cualquier tipo de alimento y en cualquier momento. También crecen en los alimentos procesados y en las mezclas de alimentos. En ocasiones, un alimento que parece libre de moho existe contaminación en el examen micológico.

La contaminación de los alimentos por levaduras y mohos puede dar lugar a pérdidas económicas sustanciales a productores, procesadores y consumidores. Varios mohos transmitidos por el agua, y posiblemente levaduras, también pueden ser peligrosos para la salud humana debido a su capacidad para producir metabolitos tóxicos conocidos como micotoxinas. La mayoría de las micotoxinas son compuestos estables que no se destruyen durante el procesamiento de alimentos o comida casera. A pesar de que estos microorganismos pueden no sobrevivir a la purificación de agua, la toxina preformada puede estar aún presente.

Ciertos mohos y levaduras transmitidas por los alimentos pueden provocar reacciones alérgicas o pueden causar infecciones. Aunque la mayoría de los hongos transmitidos por el agua no son infecciosos, algunas especies pueden causar infecciones, sobre todo en poblaciones inmunocomprometidas, como lo son los individuos infectados por el VIH, las personas mayores y debilitadas, y las personas que reciben quimioterapia o tratamiento con antibióticos. ⁽¹³⁾

La presencia de mohos y levaduras es un índice de la existencia de materia orgánica en descomposición. ⁽¹⁴⁾

1.2 Microflora del agua

El agua contiene mayor o menor número de microorganismos de la flora microbiana del aire, del suelo, de los desechos de industrias y hogares, residuos de plantas y animales muertos; lo que significa que el agua puede contener microorganismos de casi todas las clases. ⁽¹⁵⁾

1.2.1 Aguas naturales y microorganismos contaminantes. El tipo de microorganismo que se encuentran en el agua dependen de su ubicación en la naturaleza, las cuales se clasifican en: ⁽¹⁵⁾

1.2.1.1 Aguas meteóricas. Se contaminan, sobre todo, con los microorganismos y partículas suspendidas en el aire. Después de una abundante lluvia o nevada, tales aguas pueden estar libres de microorganismos.

1.2.1.2 Aguas superficiales. Contienen microorganismos del aire y los del suelo cuando corren por la superficie terrestre.

1.2.1.3 Aguas embalsadas. Se contaminan con microorganismos del aire y el suelo al descargar en ellas las aguas meteóricas y superficiales.

1.2.1.4 Aguas subterráneas. Pueden contaminarse por infiltración con las aguas cloacales o concebirse los pozos cerca de zonas vertederas y de explotación pecuaria.

1.2.2 Clasificación de las bacterias presentes en aguas naturales de acuerdo a su origen. Las bacterias en las aguas naturales se clasifican en: bacterias naturales o propias del agua, bacterias arrastradas del suelo y bacterias de la flora intestinal. ⁽¹⁵⁾

1.2.2.1 Bacterias naturales o propias del agua. En el agua se pueden encontrar microorganismos de casi todas las clases, pero la mayoría de las bacterias encuentran condiciones desfavorables y mueren pronto. Las especies que se encuentran constantemente en el agua constituyen su flora natural, tales como:

- *Pseudomonas fluorescens.*
- *Chromobacterium violaceum*
- *Serratia plymuthia*
- *Micrococcus luteus*

1.2.2.2 Bacterias arrastradas del suelo. Pocos medios de la tierra están habitados por gran variedad de microorganismos como el suelo fértil, los cuales

alcanzan poblaciones de varios miles y millones de organismos por gramo de suelo y llegan al agua por diversas vías. Entre las especies predominantes están:

- *Bacillus subtilis*
- Bacterias fluorescentes
- Género *Proteus*

1.2.2.3 Bacterias de la flora intestinal. Los microorganismos que se encuentran en las heces fecales y en la orina de personas y animales enfermos, cuando se eliminan pueden llegar a contaminar las aguas de consumo, por lo que su presencia en las aguas significa que éstas contienen uno o varios gérmenes patógenos peligrosos a la salud humana y animal. ⁽¹⁵⁾

Entre las especies predominantes están:

- | | |
|-------------------------------|---------------------------------|
| • <i>Escherichia coli</i> | • <i>Salmonella enteriditis</i> |
| • <i>Aerobacter aerógenes</i> | • <i>Salmonella typhosa</i> |
| • <i>Vibrio comma</i> | • <i>Shigella dysenteriae</i> |

1.2.3 Factores que varían la microflora del agua. Cuando los microorganismos se encuentran en un medio apropiado, los mismos comienzan a dividirse activamente empleando los nutrientes presentes en el agua. Este proceso se da con celeridad si las condiciones físicas y químicas son óptimas, caso contrario se ve afectado. También puede variar el crecimiento por la acumulación de alguna sustancia inhibidora formada por los mismos microorganismos presentes. Entre los factores más importantes tenemos: ⁽¹⁵⁾

- | | |
|----------------------------|-------------------------|
| • <i>Temperatura.</i> | • <i>Dilución</i> |
| • <i>Luz solar.</i> | • <i>Sedimentación.</i> |
| • <i>Materia orgánica.</i> | • <i>Otras causas.</i> |
| • <i>Oxidación</i> | |

1.2.4 Contaminantes y contaminación del agua. El agua al caer con la lluvia por enfriamiento de las nubes arrastra impurezas del aire. Al circular por la

superficie o a nivel de capas profundas, se le añaden otros contaminantes químicos, físicos o biológicos. ⁽²⁾

Hay pues una contaminación natural, pero al tiempo puede existir otra muy notable de procedencia humana, por actividades agrícolas, ganaderas o industriales, que hace sobrepasar la capacidad de autodepuración de la naturaleza. ⁽²⁾

El agua se convierte en un vehículo de agentes infecciosos como hongos, virus, bacterias, protozoarios y helmintos, además de sustancias tóxicas como pesticidas, metales pesados y otros compuestos químicos, orgánicos, que son perjudiciales para la salud.

Los principales contaminantes del agua son:

1.2.4.1 Biológicos. Dentro de esta clasificación se encuentran los microorganismos parásitos, bacterias, hongos, virus, los cuales pueden llegar a ser patógenos causantes de enfermedades como fiebre tifoidea, hepatitis, disenterías, etc. ⁽²⁾

1.2.4.2 Químicos. Como detergentes sintéticos y fertilizantes ricos en fosfatos; pesticidas orgánicos como el DDT, aldrín, dieldrín, etc; productos químicos inorgánicos como los nitratos, nitritos, fluoruros, arsénico, selenio, mercurio; petróleo y sus derivados como el alquitrán, aceites, combustibles. ⁽²⁾

1.2.5 Enfermedades transmitidas por el agua. Existe un gran número de microorganismos implicados en las enfermedades de origen hídrico, incluyendo protozoos, virus y bacterias.

La enfermedad hídrica es normalmente aguda y se caracteriza por síntomas gastrointestinales como: diarrea, fatiga, calambres y dolores abdominales. El tiempo entre la exposición a un agente patógeno y el brote de enfermedad puede variar desde al menos dos días (*Salmonella* y *Shigella*) a una o más semanas (virus de la Hepatitis A, *Giardia*, y *Cryptosporidium*). ⁽¹⁶⁾

El agente causal no se identifica en casi un 50% en los brotes de enfermedad hídrica.

Tabla 1. Parásitos más frecuentes transmitidos por el agua.

Parásito	Enfermedad	Síntomas
<i>Amoeba</i>	Disentería ameboidea	Fuerte diarrea, dolor de cabeza, dolor abdominal, escalofríos, fiebre; si no se trata puede causar abscesos en el hígado, perforación intestinal y muerte
<i>Giardia</i>	Giardiasis	Diarrea, calambres abdominales, flatulencia, eructos, fatiga
<i>Toxoplasma gondii</i>	Toxoplasmosis	Inflamación de las glándulas linfáticas En mujeres embarazadas aborto e infecciones cerebrales

Fuente: World Health Organization, 2013.

Tabla 2. Bacterias más frecuentes transmitidas por el agua.

Bacteria	Enfermedad/infección	Síntomas
<i>Campylobacter jejuni</i>	Campilobacteriosis	Gripe, diarreas, dolor de cabeza y estómago, fiebre, calambres y náuseas
<i>Escherichia coli</i>	Infecciones del tracto urinario, meningitis neonatal, enfermedades intestinales	Diarrea acuosa, dolores de cabeza, fiebre, uremia, daños hepáticos
<i>Salmonella typhi</i>	Fiebre tifoidea	Fiebre
<i>Salmonella</i> sp.	Salmonelosis	Mareos, calambres intestinales, vómitos, diarrea y a veces fiebre leve
<i>Streptococcus</i>	Enfermedad gastrointestinal	Dolores de estómago, diarrea y fiebre, a veces vómitos
<i>Vibrio El Tor (agua dulce)</i>	Cólera (forma leve)	Fuerte diarrea

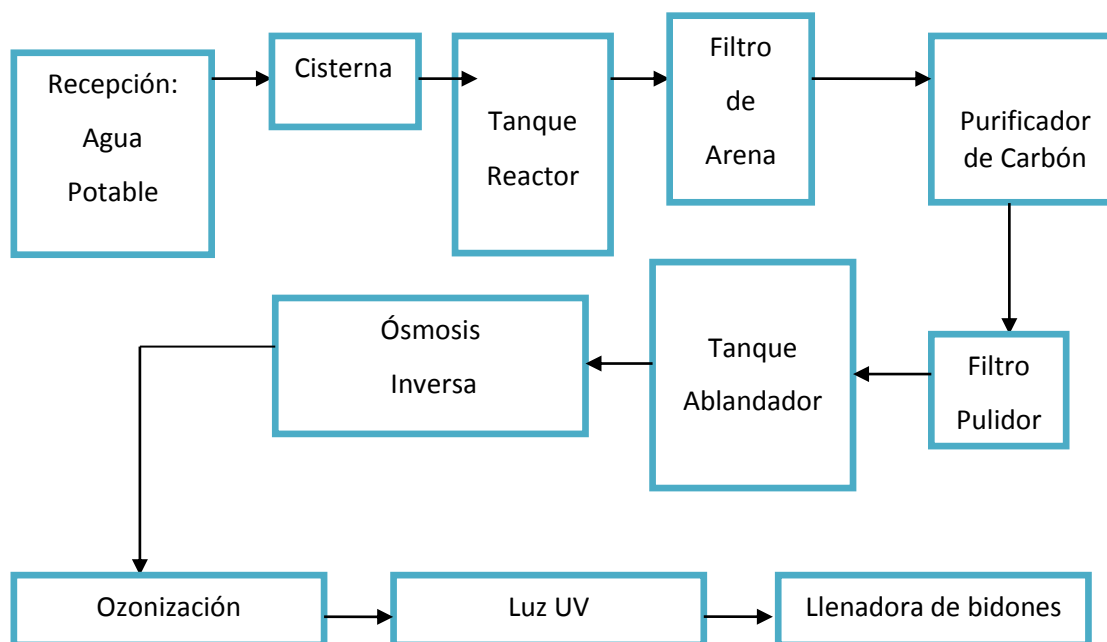
Fuente: World Health Organization, 2013.

1.3 Agua purificada y 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 la norma NTE INEN 2200: 2008 y NTC 813, la cual es envasada en recipientes de cierre hermético e inviolable, fabricados de material grado alimentario. **(Anexo 1 y 2)**

1.3.1 Proceso de purificación del agua. 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 (**Figura 1**), con el objetivo de brindar características organolépticas, físico-químicas y microbiológicas adecuadas para su consumo.

Figura 1. Proceso de purificación de agua de bidón.



Fuente: PURE WATER®, Guide water purification processes, USA; 2009

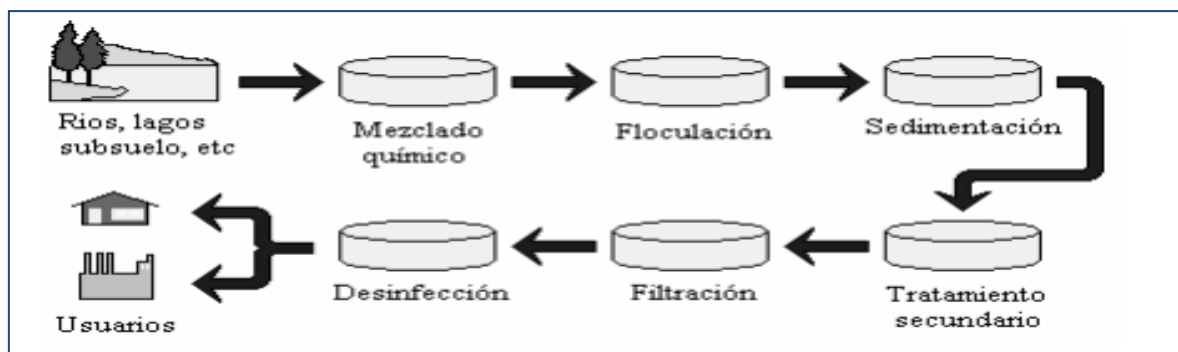
1.3.1.1 Recepción de agua potable. Agua potable es aquella cuyas características físicas, químicas y microbiológicas han sido tratadas a fin de garantizar su aptitud para consumo humano, de acuerdo con la norma NTE INEN 1108:2011.

El agua potable ingresa a la planta de tratamiento *Cuenca Bottling Company* desde la red municipal de ETAPA; en el proceso de potabilización se han aplicado un conjunto de operaciones y procesos, físicos y/o químicos a fin de mejorar la calidad del agua y hacerla apta para uso y consumo humano. (**Figura 2**)

Sin embargo, el agua purificada y envasada debe cumplir otros requisitos, que justifican la purificación del agua de red pública, con el fin de mejorar las

características organolépticas al eliminar la dureza y otros iones suspendidos en el agua como cloruros y sulfatos.

Figura 2. Procedimiento típico de potabilización de agua



Fuente: Tratamiento y Potabilización de agua. [Citado: julio 2013].
<http://www.construsur.com.ar/Noticias-article-sid-109.htm>

1.3.1.2 Cisterna. En esta etapa sucede una supercloración (aprox. 45 ppm de cloro) del agua potable para de esta manera poder eliminar cualquier microorganismo y ocurre también la oxidación de elementos presentes en el agua. El cloro se utiliza para la desinfección y tratamiento del agua y especialmente para la eliminación de virus, bacterias, compuestos inorgánicos, por ejemplo el manganeso y el hierro. ⁽¹⁷⁾

Figura 3. Tanque cisterna en Cuenca Bottling Company; vista externa (izq) y vista interna (der).

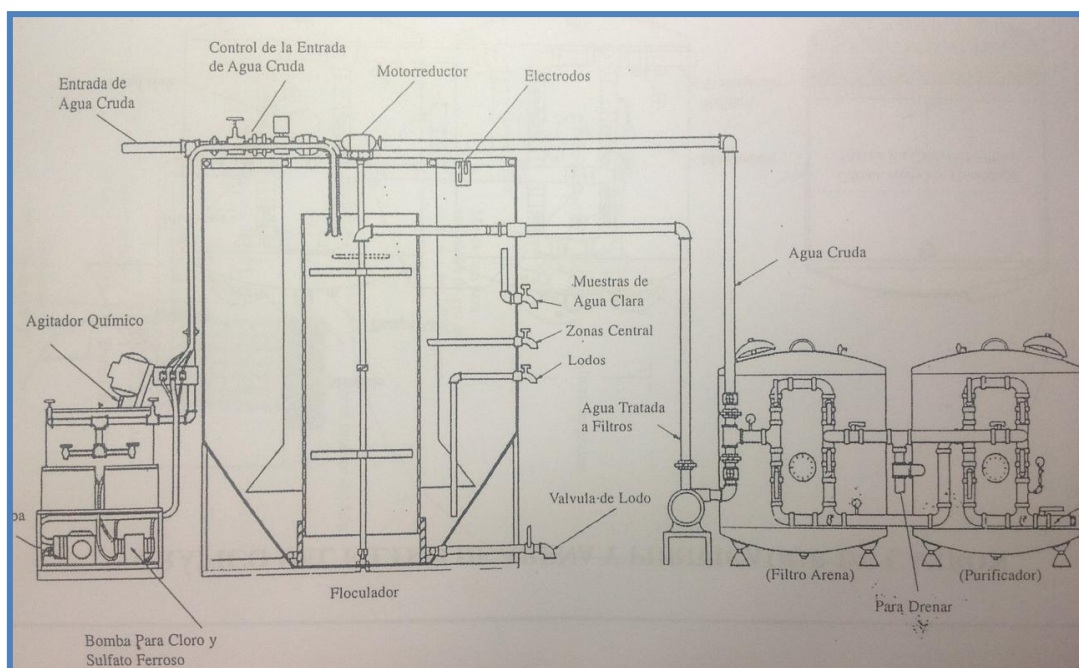


Fuente: Cortesía de Cuenca Bottling Company.

1.3.1.3 Tanque reactor. Este tanque está diseñado para asegurar un mínimo de dos horas de retención, en el que el agua que entra en contacto con el cloro pueda eliminar contaminaciones bacterianas simples y oxidar la materia orgánica presente (**Figura 4**). También debe ser susceptible a ser convertido en un tanque de coagulación en caso de necesidad. La dosis de cloro inicial debe asegurar que a la salida del filtro de arena queden por lo menos 8 ppm de cloro libre residual.

Las impurezas, componentes del color y parte del hierro quedarán retenidos en el filtro de arena posterior. El cloro, así como el sabor y el olor, quedarán en el purificador de carbón. ⁽⁶⁾

Figura 4. Diseño de tanque reactor.



Fuente: PURE WATER®, Guide water purification processes, USA; 2009

1.3.1.4 Filtro de arena. El filtro de arena está alojado en una concha de acero o tanque con una adecuada tubería de conexión, válvulas y aditamentos para regular y dirigir el flujo de agua. La acción de un filtro de arena es esencialmente la de filtrar la materia suspendida que es demasiado grande para pasar a través de las aperturas entre los granos de arena filtrante. Puede ir luego de un tratamiento de coagulación. La superficie de arena puede

cubrirse de coagulante formando así una especie de manta que ayudará a filtrar las pequeñas partículas (**Figura 5**).

La cama del filtro tiene 4 o 5 capas de grava de soporte que disminuye en tamaño hacia arriba con grava de mayor tamaño en la parte de abajo y el más fino en la parte superior. La grava debe consistir de partículas duras, redondeadas, durables, pesando aproximadamente 100 libras el pie cúbico. Debe estar libre de toda suciedad, arena y material extraño. En el tope de esta cama de soporte de cascajo se sitúa una capa especial de arena lavada y filtrada de unas 24 pulgadas de profundidad. La arena usualmente tiene un tamaño de 0.45 a 0.55 milímetros. La arena debe haber sido pasada por malla de manera que el tamaño efectivo esté dentro de éste límite.

En la acción de filtrado, el agua a ser filtrada entra por el tope del filtro y a la entrada hay usualmente una especie de placa deflectora usada para distribuir el agua uniformemente sobre toda el área filtrante. Si el agua se deja entrar por un sitio con gran velocidad, puede dañar el lecho de arena, hacer que se riegue o se amontone reduciendo grandemente la eficiencia de la unidad.

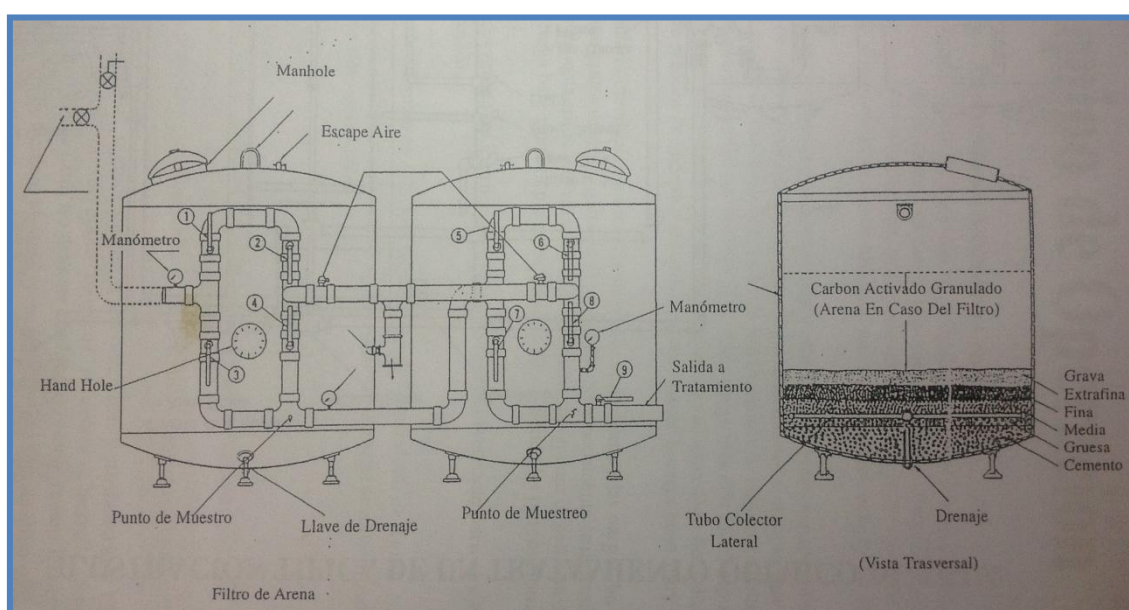
El agua filtrada es recibida en el fondo en un sistema de tubería diseñada para recoger el agua de toda el área del fondo del filtro. Si tal sistema de recoger el agua lateralmente no es usado, entonces el agua puede forzar un canal a través de la arena. El sistema lateral de recoger el agua en el fondo es usado también como un sistema de distribución para distribuir el agua uniformemente a lo largo del fondo del filtro durante el procedimiento de lavado en retroceso o retro lavado. ⁽⁶⁾

1.3.1.5 Purificador de carbón activado. El carbón activado tiene la habilidad de adsorber el cloro, sabor, olores y otros componentes químicos de una naturaleza gaseosa que son disueltos en el agua (**Figura 5**).

El purificador de carbón activado no posee actividad filtrante sino más bien adsorbente. El carbón es activo mientras la superficie este limpia y pueda

funcionar para remover sabor, olor y cloro del agua. Una unidad de carbón activado debe siempre ser precedida por un filtro de arena para remover la materia en suspensión del agua antes que pase dentro del lecho de carbón, protegiendo así la actividad del carbón. La capacidad de filtro y adsorción de las unidades de arena y carbón respectivamente es limitada por su tamaño físico medido por el diámetro a través del lecho de filtración. Dos galones por minuto por pie cuadrado de área de filtro son considerados como una capacidad máxima de seguridad de trabajo. ⁽⁶⁾

Figura 5. Diseño de filtro de arena (izq.) y filtro de carbón (der.).



Fuente: PURE WATER®, Guide water purification processes, USA; 2009

1.3.1.6 Filtros pulidores. Hay una variedad de filtros que han llegado a considerarse dentro de este grupo, estos tienen como medio de filtro: trapo, papel, algodón preparado o materias plásticas conteniendo celulosa, algodón o papel y son diseñados para la filtración fina, pero tal filtración es usualmente secundaria a otros medios de filtración.

La función de este filtro es de detener las impurezas pequeñas (sólidos hasta de 5 micras). Los pulidores son fabricados en polipropileno grado alimenticio (Food and Drugs Administration). Después de este paso se puede tener agua

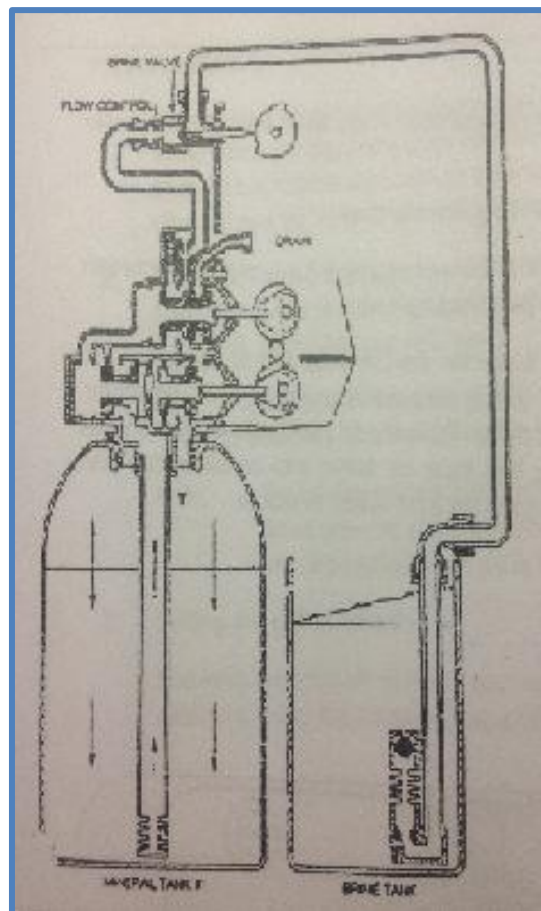
brillante y cristalina. Hay que tomar en cuenta que el cambio del cartucho filtrante se debe hacer cada 4 o 6 meses de uso o cuando el flujo de agua disminuye considerablemente. ⁽⁶⁾

1.3.1.7 Tanque ablandador. La dureza del agua es removida por un ablandador de zeolita. Las zeolitas son estructuras químicas complejas que ocurren naturalmente, frecuentemente conocidas como arena verde, que tienen la propiedad de reaccionar con varios minerales en el agua con la que entran en contacto **(Figuras 6 y 7)**.

La zeolita actúa removiendo ciertos iones de la solución. Las sales de calcio y magnesio (dan al agua una naturaleza alcalina) que forman escamas son cambiadas a sales de sodio que no tienen propiedades de formación de escamas. Las zeolitas tienen una etapa definida de capacidad y pueden ser regeneradas o reactivadas con cloruro de sodio (NaCl) y ácido sulfúrico.

Estas unidades son cuidadosamente escogidas con respecto a la cantidad de sales de dureza en el agua y la capacidad y los requerimientos de agua blanda. El equipo tiene desventajas, ya que realiza sólo una función (remover dureza) y hay ciertos riesgos involucrados, pues tiene la posibilidad operacional de que el ácido sulfúrico llegue al producto terminado lo mismo que las aguas acidificadas recojan impurezas metálicas, por esta razón el cloruro de sodio es el más empleado para la regeneración de la zeolita. ⁽⁶⁾

Figura 6. Diseño de tanque ablandador.



Fuente: PURE WATER®, Guide water purification processes, USA; 2009

Figura 7. Tanque ablandador en Cuenca Bottling Company.



Fuente: Cortesía de Cuenca Bottling Company.

1.3.1.8 Ósmosis inversa. Consiste en separar un componente de otro en una solución, mediante las fuerzas ejercidas sobre una membrana semi-permeable. Su nombre proviene de "ósmosis", el fenómeno natural por el cual se proveen de agua las células vegetales y animales para mantener la vida.

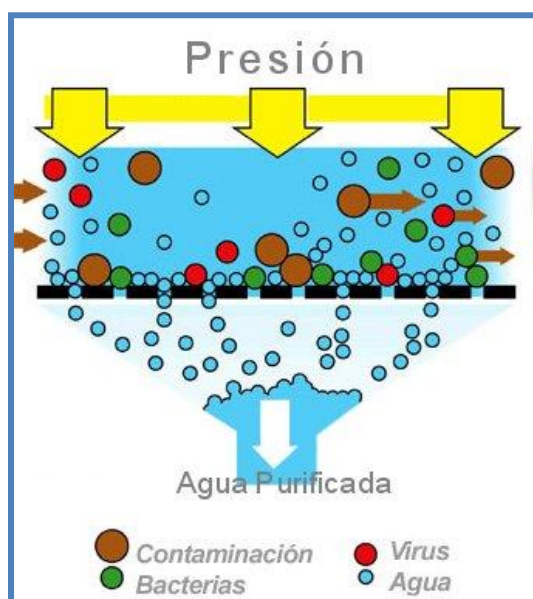
En el caso de la ósmosis, el solvente pasa espontáneamente de una solución menos concentrada a otra más concentrada, a través de una membrana semi-permeable. Entre ambas soluciones existe una diferencia de energía, originada en la diferencia de concentraciones. El solvente pasará en el sentido indicado hasta alcanzar el equilibrio. Si se agrega a la solución más concentrada energía en forma de presión, el flujo de solvente se detendrá cuando la presión aplicada sea igual a la presión osmótica aparente entre las dos soluciones. Esta presión osmótica aparente es una medida de la diferencia de energía potencial entre ambas soluciones. Si se aplica una presión mayor a la solución más concentrada, el solvente comenzará a fluir en el sentido inverso. Se trata

de la ósmosis inversa. El flujo de solvente es una función de la presión aplicada, de la presión osmótica aparente y del área de la membrana presurizada (**Figuras 8 y 9**).⁽⁶⁾

Mediante el procedimiento de ósmosis inversa y dependiendo del tamaño de poro (0,2 micras) pueden ser removidos del agua: bacterias, pirógenos, virus, pesticidas, turbiedad, materia coloidal, cloro, detergentes, desechos industriales, asbestos y sólidos disueltos como: sodio, sulfato, calcio, potasio, nitrato, hierro, zinc, mercurio, fosfato, arsénico, fluoruro, cianuro, cloruro, en un porcentaje de alrededor de 90 por ciento.⁽⁶⁾

De esta manera el agua pasa por los filtros con una calidad excelente para el consumo humano.

Figura 8. Funcionamiento de ósmosis inversa.



Fuente: Reverse osmosis water filter review. [Citado: julio 2013]
<http://homewatersoftenerreviews.org/filter/reverse-osmosis-water-filters>

Figura 9. Ósmosis inversa en Cuenca Bottling Company.



Fuente: Cortesía de Cuenca Bottling Company.

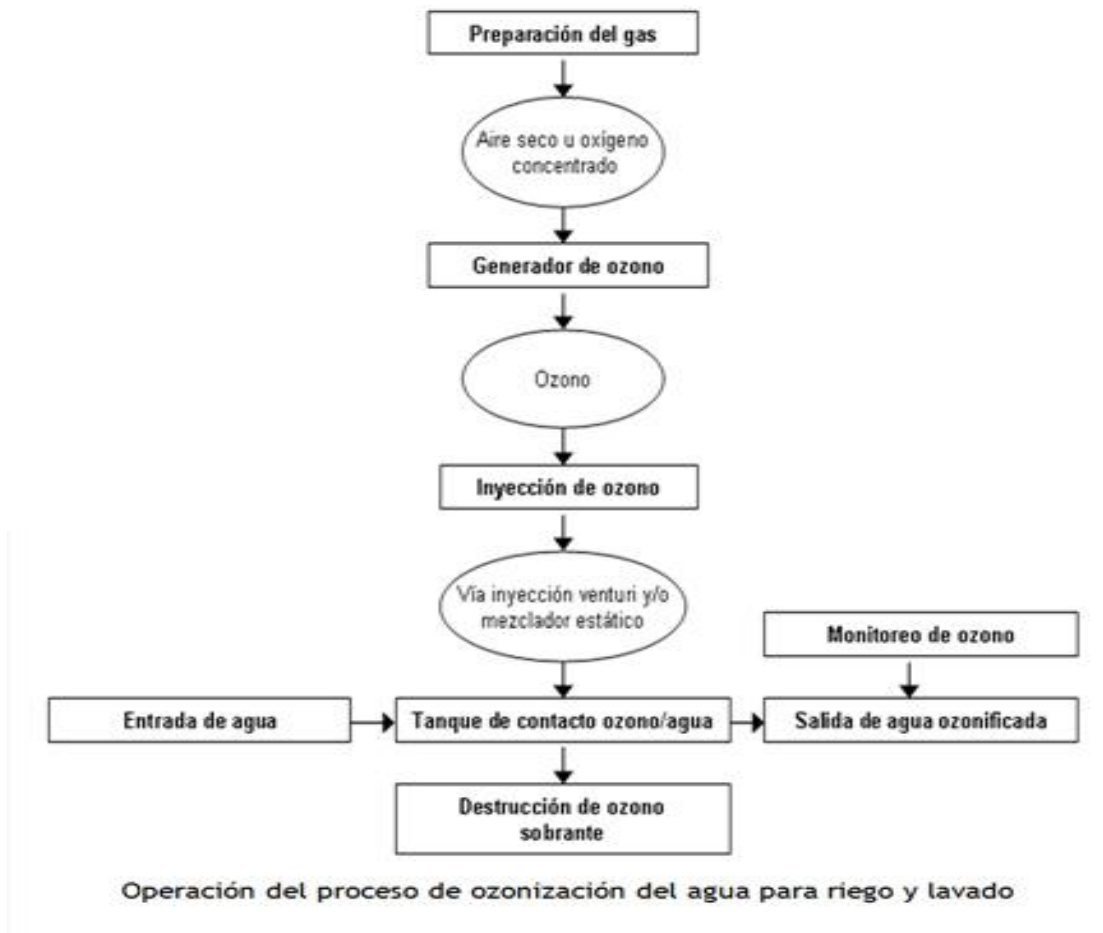
1.3.1.9 Ozonización. Cuando se habla del ozono en el agua, una de las propiedades es que éste es reconocido como el desinfectante más potente y rápido.

Se debe tener en cuenta la demanda de ozono que requiera el agua, es decir, no todo el ozono es consumido en la acción desinfectante, sino también por el contenido de materia orgánica, por lo tanto, se deberá aumentar las concentraciones de ozono en dependencia de esta última.

De igual manera la temperatura del agua, la agitación, los sistemas de aportación de ozono, etc., varían los tiempos de contacto necesarios. Si la temperatura del agua es baja, favorece de una manera importante la acción germicida del ozono (su tiempo de disolución es menor), con temperaturas más altas (la disolución es más rápida).
(6,18)

El sistema de ozonificación consta de 6 componentes básicos para lograr una ozonización óptima (**Figura 10**).

Figura 10. Funcionamiento del proceso de ozonización.



Fuente: PURE WATER®, Guide water purification processes, USA; 2009

- **Preparación del gas.** El propósito de este dispositivo de preparación es secar gas que contiene oxígeno. Los generadores del tipo descarga de corona utilizan aire seco u oxígeno puro como fuente del oxígeno que se va a convertir en ozono. Cuando se utiliza aire, es vital secarlo, a fin de maximizar el rendimiento del ozono y reducir al mínimo la formación de óxidos de nitrógeno, que aceleran la corrosión de los electrodos. Otra opción es entregar oxígeno concentrado al generador de ozono, con esta opción la eficiencia de producción de ozono es mucho más alta. ⁽¹⁸⁾

- **Generadores de ozono.** Los sistemas de ozonización empleados en el tratamiento de agua generan ozono en el sitio de aplicación y casi todos lo hacen por medio de una descarga de corona producida entre dos dieléctricos, a través de las cuales pasa oxígeno o aire seco para producir gas ozono.

- **Inyección de ozono al sistema.** Para que el ozono cumpla su función de desinfección y oxidación, debe entrar en contacto con el agua y dispersarse de la manera más fina posible. Generalmente, esto se realiza a través de difusores de burbujas finas, inyectoros Venturi y mezcladores estáticos, y la mezcla se realiza en un tanque de contacto.
- **Tanque de contacto.** Los sistemas de ozonización utilizan un tanque de contacto para transferir el ozono generado al agua que se va a desinfectar. El volumen del tanque de contacto depende del volumen del agua y concentración de ozono que se desea aplicar.
- **Destrucción del ozono sobrante.** La concentración que alcance el ozono disuelto en el agua será directamente proporcional a la presión parcial del gas de ozono en ésta. Con frecuencia, el gas sobrante de ozono se hace recircular al proceso anterior, para mejorar la oxidación y la desinfección y mantener una concentración de ozono. A pesar de la recirculación, generalmente queda ozono (sobrante) en el escape de los gases, que se debe destruir o diluir. ⁽¹⁸⁾
- **Monitoreo.** No todo el ozono que se dosifica queda como ozono disuelto en el agua, una parte se pierde en el aire que escapa del agua y otra parte se revierte en oxígeno. Al dosificar 1 mg/l, generalmente queda entre 0.3 a 0.4 mg/l de ozono residual en el agua. El residual de ozono es el único indicador directo de la presencia de ozono en el agua y para su determinación existen diferentes tipos de medidores y sensores disponibles en el mercado o mediante análisis de laboratorio. ⁽¹⁸⁾ **(Figura 11)**

Figura 11. Equipo de ozonización en Cuenca Bottling Company (CBC).

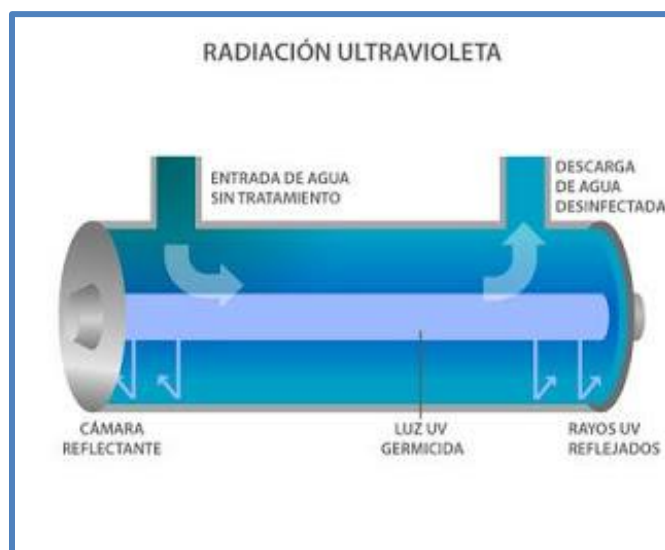


Fuente: Cortesía de Cuenca Bottling Company.

1.3.1.10 Luz ultravioleta. Los sistemas de tratamiento y desinfección de agua mediante luz ultra violeta (UV), garantizan la eliminación de entre el 99,9 y el 99,99% de agentes patógenos. Para lograr este grado de efectividad casi absoluta mediante este procedimiento físico, es totalmente imprescindible que los procesos previos del agua eliminen de forma casi total cualquier turbiedad de la misma, ya que la luz ultravioleta debe poder atravesar perfectamente el flujo de agua a tratar.

Los purificadores de agua por ultravioleta funcionan mediante la radiación o iluminación del flujo de agua con una o más lámparas de silicio cuarzo, con unas longitudes de onda de 200 a 300 nanómetros. Por lo tanto, el agua fluye sin detenerse por el interior de los purificadores, que contienen estas lámparas (**Figura 12**).

Figura 12. Funcionamiento de lámpara UV para desinfección de agua.



Fuente: Ultraviolet Disinfection of Private Water Supplies for Household or Agricultural Uses, Agriculture and Agri-Food, Canada

La luz UV no cambia las propiedades del agua o aire, es decir, no altera químicamente la estructura del fluido a ser tratado. Al contrario de las técnicas de desinfección química, que implican el manejo de sustancias peligrosas y reacciones que da como resultado subproductos no deseados, la luz UV ofrece un proceso de desinfección limpio, seguro, efectivo y comprobado a través de varias décadas de aplicaciones exitosas.⁽⁶⁾

La propiedad que tiene el ADN, presente en el núcleo de las moléculas de todos los microorganismos (bacteria, virus, hongos y quistes) de absorber la radiación UV produce el efecto de rompimiento de las cadenas de los aminoácidos de proteínas, causando una disrupción metabólica afectando su mecanismo reproductivo y logrando así su inactivación, eliminando sus propiedades para producir enfermedades y de crecimiento microbiológico. Uno de los principales beneficios al aplicar luz UV con propósitos de desinfección es que no se utilizan ningún tipo de químico para ello (**Figura 13**).

Figura 13. Lámpara de Luz Ultravioleta germicida.



Fuente: <http://www.aquafilt.com.mx/online/purificador-de-agua-a-base-de-rayos-uv/>

1.3.1.11 Llenadora de bidones .Inmediatamente después del proceso de desinfección con luz ultra violeta el agua pasa a la llenadora de bidones, la cual mediante presión dosifica el agua que ingresa a los bidones (aproximadamente 20 litros), luego de esto es cerrada herméticamente de manera semiautomática (**Figura 14**).

Figura 14. Maquina llenadora de bidones en CBC. Proceso de llenado (izq) y cierre hermético (der).



Fuente: Cortesía de Cuenca Bottling Company.

CAPITULO 2

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Tipo de investigación

Se realizó una investigación observacional, analítica, prospectiva de corte transversal.

2.2 Población de estudio

Se realizó el estudio en la Fábrica Cuenca Bottling Company ubicado en el parque industrial de la ciudad de Cuenca-Ecuador, efectuando análisis de la carga microbiológica del agua de las diferentes etapas de purificación: red pública, cisterna, tanque reactor, filtro de arena, purificador de carbón, filtro pulidor, ablandador, ósmosis inversa, ozonización, luz ultravioleta (agua de llenado) y del agua del producto terminado. Como estudio complementario mediante análisis microbiológicos del producto terminado (bidones), se evaluó la capacidad de desinfección de la concentración inicial de ozono ($0,295 \pm 0,137$ ppm) luego de pasar por la etapa de luz ultravioleta, frente al doble de la misma ($0,623 \pm 0,279$ ppm) sin pasar por la luz UV. **(Anexo 3)**

2.3 Muestreo

Se realizó un muestreo aleatorio simple a conveniencia y se recolectaron 180 muestras por duplicado de las etapas de purificación: agua de red pública, cisterna, tanque reactor, filtro de arena, purificador de carbón, filtro pulidor, ablandador, ósmosis inversa, ozonización, luz ultravioleta (agua de llenado). Del producto terminado se recolectaron muestras de 36 lotes representados por 2 bidones cada uno, para dar un total de 432 análisis microbiológicos. Las muestras se tomaron con una frecuencia de 72 muestras por semana **(Tabla 3)** durante un periodo de seis semanas comprendidos entre los meses de abril y junio del presente año.

El muestreo se efectuó inmediatamente después de cada una de las etapas de purificación así como también del agua de bidones PURE WATER® como producto terminado de la Fábrica Cuenca Bottling Company, de acuerdo con la **Tabla 4:**

Tabla 3. Cronograma de muestreo para el análisis microbiológico.

Día	Muestras recolectadas*	Siembra	
Lunes	24	Col. Totales	✓
		A. mesófilos	✓
		Mohos y levad.	✓
Martes			
Miércoles	24	Col. Totales	✓
		A. mesófilos	✓
		Mohos y levad.	✓
Jueves			
Viernes	24	Col. Totales	✓
		A. mesófilos	
		Mohos y levad.	
Sábado			
Total de muestras recolectadas por semana:			
72			

* El número de muestras recolectadas incluyen los duplicados de cada etapa de purificación y el producto terminado

Tabla 4. Muestreo de las diferentes etapas de purificación y de producto terminado.

Etapas de purificación	# muestras	Duplicado	Total muestras
Red pública	1	1	2
Cisterna	1	1	2
Tanque reactor	1	1	2
Filtro de arena	1	1	2
Purificador de carbón	1	1	2
Filtro pulidor	1	1	2
Filtro ablandador	1	1	2
Osmosis inversa	1	1	2
Ozonificación	1	1	2
Luz UV	1	1	2
Producto terminado	2	2	4
Total muestras recolectadas :			24

2.4 Toma de muestra

El volumen de cada muestra en las etapas de purificación (agua de red pública, cisterna, tanque reactor, filtro de arena, purificador de carbón, filtro pulidor, tanque ablandador, ósmosis inversa, ozonización y agua de llenado) fue de alrededor de 400ml y en el producto terminado se tomó un volumen similar de los bidones seleccionados para el estudio, ésta cantidad representativa se empleó para realizar el estudio de los tres microorganismos indicados (aerobios mesófilos, coliformes totales y mohos y levaduras) en la presente investigación.

2.4.1 Muestras del producto terminado. Las muestras del producto terminado se tomaron de los bidones que fueron llevados al laboratorio de microbiología de la Fábrica Cuenca Bottling Company, rotulados con fecha de recolección, hora y fecha de producción. Se procedió a homogenizar adecuadamente el contenido de cada bidón para luego realizar la desinfección del exterior del pico del envase con alcohol de 70%, luego se tomó la muestra en fundas estériles Whirl-Pak® previamente rotuladas y en condiciones asépticas. Con la finalidad

de conocer las condiciones en las que el producto es expendido al público; los bidones fueron analizados después de 4 días de haber sido producidos, ya que este es el tiempo que el producto tarda en salir al mercado.

2.4.2 Muestras de las etapas de purificación. Se procedió a tomar la muestra por duplicado de manera aséptica en fundas Whirl-Pak® estériles de cierre hermético, inmediatamente después de cada una de las etapas de purificación consideradas en el muestreo. En el caso de la etapa correspondiente a cisterna la toma de muestra se realizó introduciendo la funda estéril aproximadamente a 20 cm de la superficie y, para las demás etapas de purificación se procedió a desinfectar la llave de salida con alcohol de 70% e inmediatamente se dejó fluir el agua por 2 a 3 minutos para permitir la purga de microorganismos de la línea antes de la toma de la muestra.

En las siguientes etapas se realizó un proceso de cloración con una solución estéril de tiosulfato de sodio al 10% P/V, adicionando 4 gotas de esta al agua de red pública cuyo contenido de cloro es en promedio 1 ppm., 9 ml a las etapas de cisterna y tanque reactor por su contenido de 45 ppm de cloro y 4ml a las muestras tomadas del filtro de arena la cual contiene 19 ppm de cloro.

Cada muestra fue rotulada con fecha de recolección, hora y etapa de purificación y llevadas al laboratorio de microbiología de Cuenca Bottling Company para proceder al análisis.

2.5 Recursos Materiales

Para realizar el análisis microbiológico se requirió de los siguientes materiales y equipos:

2.5.1 Materiales y medios de cultivo.

- Medio de cultivo caldo m-Endo MHA000P2E Millipore® para Coliformes Totales.

- Medio de cultivo caldo extracto de glucosa triptona (TGE) MHA000P2T Millipore®, para aerobios mesófilos.
- Medio de cultivo caldo m-Green MHA000P2M Millipore® para mohos y levaduras.
- Membrana de celulosa de 0.45µm y 0.8µm
- Pinza para membrana
- Cajas Petri descartables
- Material de vidrio
- Lámparas de alcohol
- Fundas Estériles Whirl-pak
- Alcohol antiséptico.
- Material de protección personal.

2.5.2 Equipos

- Estufa
- Autoclave
- Filtro de Vacío

2.6 Fundamento de la técnica de Filtración de Membrana

Este método se fundamenta en determinar el número y tipo de microorganismos presentes en una muestra de agua de un proceso o del agua de un bidón como producto terminado, mediante la filtración de volúmenes específicos de la muestra a través de filtros de membrana, compuestos de ésteres de celulosa, típicamente con poros de 0,45 µm (aerobios mesófilos y coliformes totales) y 0,8 µm (mohos y levaduras) de diámetro que retienen dichos microorganismos presentes en la muestra.

Después se incuban las membranas colocadas hacia arriba en un medio selectivo para cada microorganismo. En la práctica, la técnica de filtración de membrana ofrece resultados comparables a los que se obtienen con el método de tubos múltiples.

Una de las ventajas del método de filtración a través de membrana es la prontitud con que pueden obtenerse los resultados y, en consecuencia, se pueden llevar a cabo rápidamente acciones correctivas y operar en la planta de agua de nuevo en forma normal. Esta técnica puede aplicarse en el análisis de casi todos los tipos de agua, también se utiliza en el análisis de leche y otros alimentos líquidos. ⁽¹¹⁾

2.7 Fundamento de los medios de cultivo Millipore® para aerobios mesófilos, coliformes totales, mohos y levaduras

2.7.1 Caldo extracto de glucosa triptona (TGE) MHA000P2T Millipore®.

Medio de cultivo no selectivo usado para evaluar recuentos bacterianos por el método de filtración por membrana (**Anexo 4**).

En este medio de color amarillento permite el crecimiento de todas las bacterias, mohos y levaduras capaces de desarrollarse de 28°C a 35°C, ya que contiene extracto de carne, tripteína y glucosa, a un pH neutro, haciendo factible el desarrollo de los microorganismos sin especificar su tipo. Un recuento bajo de aerobios mesófilos no implica o no asegura la ausencia de patógenos o sus toxinas, de la misma manera un recuento elevado no significa presencia de flora patógena. El recuento de mesófilos nos indica las condiciones de salubridad del agua. ⁽¹⁹⁾

2.7.2 Caldo m-Endo MHA000P2E Millipore®. Se utiliza como medio de cultivo para el recuento de coliformes totales. Este es un medio para el aislamiento selectivo de los coliformes totales pues lleva inhibidores para el resto de microorganismos. El lauril sulfato y desoxicolato que forman parte de la fórmula del medio permite crecer a los coliformes lactosa positivo pero inhibe el crecimiento del resto de bacterias acompañantes. Las colonias lactosa positiva se colorean de rojo por la liberación de fucsina del sulfato de fucsina. Las colonias de *E. coli* y de los coliformes muestran generalmente un brillo metálico (**Anexo 5**).

Se utiliza este medio para la identificación y recuento de coliformes en agua, leche y otros líquidos mediante filtración sobre membrana y está incluido en las recomendaciones de la APHA "American Water Works Association and Water Pollution Control Federation: Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 2004".⁽¹¹⁾

Medio líquido selectivo, que se deposita en placas de cultivo que llevan una almohadilla absorbente (aproximadamente 2 mL por placa).

2.7.3 Caldo m-Green MHA000P2M Millipore®. Este medio de cultivo contiene un alto poder nutritivo, pero el desarrollo bacteriano está inhibido debido al pH ácido (**Figura 15**). El verde de bromocresol es el indicador de pH que facilita la visualización y el recuento de las colonias de hongos, las cuales son verdes debido a la difusión del indicador a la colonia (reacción alcalina). Los productos finales del metabolismo microbiano, difunden en el medio, disminuyen el pH y producen un viraje del indicador del color verde al amarillo (reacción ácida).⁽²⁰⁾ (**Anexo 6**).

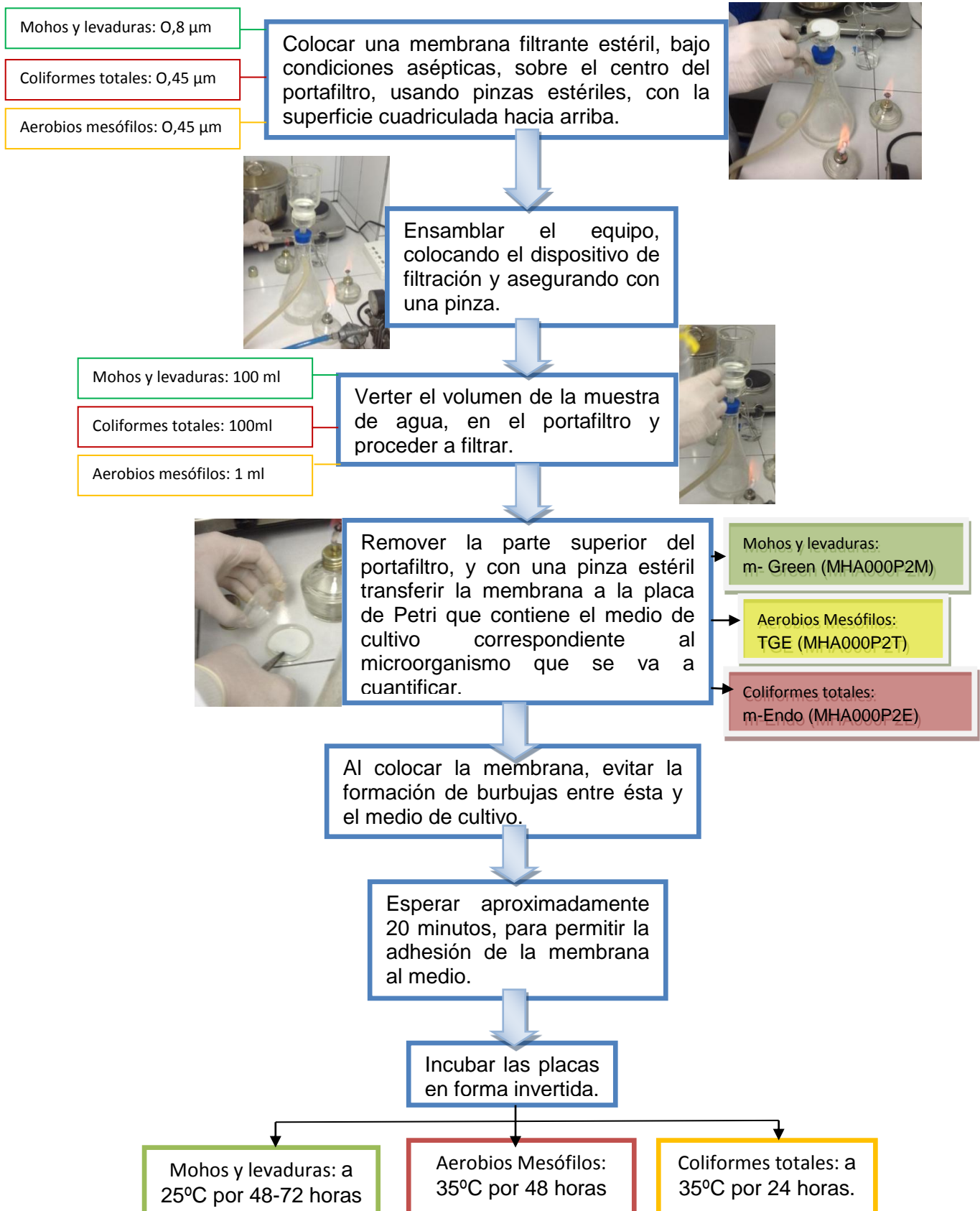
Figura 15. Medios de cultivo empleados para el análisis microbiológico: (de izq. a der.) aerobios mesófilos, mohos y levaduras y coliformes totales.



Fuente: Cortesía de Cuenca Bottling Company.

2.8 Procedimiento para el análisis microbiológico de las muestras.

Flujograma del procedimiento realizado en el análisis microbiológico:



2.9 Medición de Ozono.

Para este estudio es necesario mencionar el papel de la luz ultravioleta como agente microbicida limpio dado su efecto modificador de la estructura química de múltiples biomoléculas como ácidos nucleicos; también que en el proceso de purificación de agua descompone el ozono residual y por lo tanto su acción desinfectante sobre los microorganismos que los bidones reutilizables puedan acarrear. Es posible que la presencia de elevados conteos de microorganismos posteriores a los tratamientos con ozono y luz ultravioleta pueden estar asociados a múltiples variables. En parte el poder microbicida de ambos tratamientos puede verse afectado tanto por la dosis del agente esterilizante, como por el tiempo de exposición y la cantidad de microorganismos presentes en el medio.

Considerando lo anterior, se decidió entonces evaluar el efecto de la etapa de ozonización sobre la calidad microbiológica del agua de bidón. Inicialmente se trabajó con una concentración de ozono de $0,295 \pm 0,137$ ppm y seguido de la luz ultravioleta. Luego se retiró la luz ultravioleta en la etapa final del proceso de purificación y se incrementó al doble la concentración de ozono es decir $0,623 \pm 0,279$ ppm, demostrándose esta última como un proceso de desinfección eficaz para tratamiento de agua.

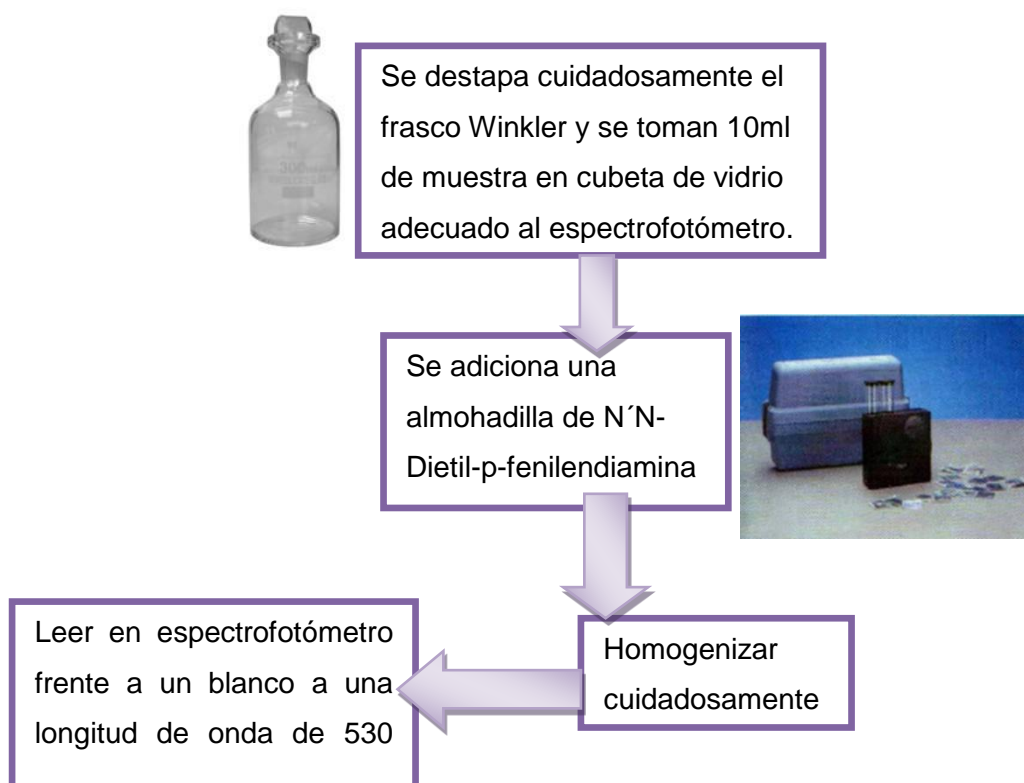
2.9.1 Fundamento de la técnica. Consiste en hacer reaccionar la muestra de agua ozonificada con el compuesto N´N-Dietil-p-fenilendiamina (DPD). Al reaccionar el DPD con el ozono contenido en la muestra de agua, el agua tomará una coloración rosa. La tonalidad adquirida será proporcional a la concentración de ozono residual en la muestra. Esta debe ser comparada contra una escala de ozono residual, que está graduada a distintas tonalidades de rosa, o puede ser leída por espectrofotometría a 530 nm frente a un blanco de agua destilada. ⁽²¹⁾

2.9.2 Toma de Muestra. Se trabajó con muestras de agua ozonizada, tomadas inmediatamente después de su paso por el equipo ozonizador, con la finalidad de valorar la concentración de ozono residual en el agua.

La muestra se procedió a tomar en frasco Winkler a la salida del proceso de ozonización de manera que no quede espacio de aire en el recipiente contenedor para evitar el contacto con el ambiente ya que este disminuye el tiempo de vida media del ozono.

La muestra tomada fue llevada inmediatamente al laboratorio de análisis (cubierta por papel aluminio) evitando alteración de temperatura y el contacto con la luz solar, debido a que los rayos ultravioleta aceleran la descomposición del ozono. ⁽²¹⁾

2.9.3 Procedimiento. El procedimiento para la valoración de ozono mediante espectrofotometría fue el siguiente: ⁽²¹⁾



2.10 Diseño estadístico. Para el análisis estadístico las mediciones fueron codificadas y almacenadas en una base de datos en el programa Microsoft Excel para Windows y posteriormente se procesaron con el paquete SPSS v.16.0. Para evaluar la calidad de los bidones de agua del producto terminado

se empleó el análisis de las proporciones de estos que cumplían con los requisitos de las normas técnicas.

Para los análisis microbiológicos posteriores (aerobios mesófilos, coliformes totales, mohos y levaduras) se consideraron las variables del conteo de las unidades formadoras de colonias microbiológicas como cuantitativas continuas, evaluándose así el grado de concordancia entre la distribución de los resultados microbiológicos del estudio a través de la prueba Ji-cuadrado de Kolmogorov-Smirnov.

Las diferencias entre medias de más de dos grupos se determinaron por un análisis de varianza (ANOVA) de una vía y la prueba *Post Hoc* de Duncan, identificando con letras desiguales los valores diferentes para un error máximo permisible preestablecido. Las medias de dos grupos independientes con distribución normal fueron comparadas mediante el test T de Student, en los demás casos se empleó su homólogo no paramétrico o test U de Mann-Whitney.

La relación entre los conteos de cada microorganismo entre bidones de un mismo lote se determinó mediante el coeficiente de correlación lineal de Pearson. La distribución de los datos sugirió un comportamiento curvilíneo por lo cual se ensayó un modelo matemático de mejor ajuste por el método de los cuadrados como el inverso ($Y=A/X+B$).

En todos los casos se rechazó la hipótesis nula cuando el error cometido fuera inferior al 5 % ($P<0,05$). Los resultados fueron resumidos y presentados en gráficos y tablas de doble entrada.

CAPITULO 3

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

3.1 Control microbiológico en producto terminado

De un total de 72 bidones analizados, aproximadamente 9 de cada 10 presentaron crecimiento microbiano en los medios de cultivo selectivos. Un 25 % del total tuvo conteos de aerobios mesófilos superiores a 100 UFC/ml; el 23 % presentó mohos y levaduras mayores a 20 UFC/100 ml, mientras el 92 % presentaba 1 o más UFC/100 ml de coliformes totales (**Gráfico 1**). (**Anexo 7**)

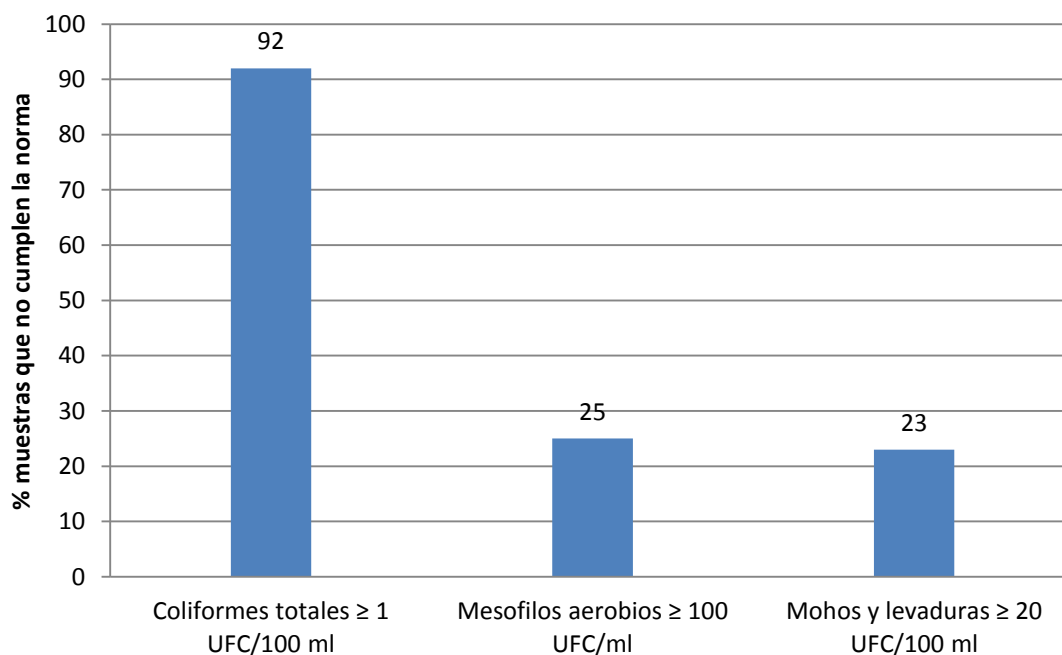


Gráfico 1. Porcentaje de muestras que sobrepasan los valores normales establecidos por la norma técnica ecuatoriana NTE INEN 2200:2008 y norma técnica colombiana NTC 813, para el agua embotellada en la fábrica.

Al no existir diferencia entre las medias y presentarse una estrecha correlación lineal entre los valores de las UFC de los microorganismos identificados en los bidones duplicados (**Tabla 5**), se puede observar que los resultados obtenidos establecen que los bidones no cumplen con la normativa de referencia.

Tabla 5. Comportamiento de la media de los indicadores microbiológicos en los duplicados de los bidones de diferentes lotes.

Microorganismo	N° de Lotes analizados	BIDON	N	Media	DS	ET	P	R	P
MESÓFILOS (UFC/ml)	24	BIDON 1	24	77,5	103,5	21,1	0,955	0,996	<0,001
		BIDON 2	24	75,8	101,3	20,7			
MOHOS Y LEVADURAS (UFC/100 ml)	24	BIDON 1	24	13,8	11,5	2,4	0,890	0,986	<0,001
		BIDON 2	24	14,2	11,3	2,3			
COLIFORMES (UFC/100 ml)	36	BIDON 1	36	9,1	5,9	1,0	0,855	0,932	<0,001
		BIDON 2	36	9,3	5,7	0,9			

DS: Desviación estándar, ET: Error estándar de la media; P: probabilidad de error tipo I; R: Coeficiente de correlación lineal de Pearson.

Varios autores extranjeros han hecho referencia a la falsa percepción de la pureza y buena calidad del agua embotellada en Latinoamérica, por lo que los datos mostrados en este estudio no son nuevos en la literatura científica ^(23, 24,25). En este sentido la mayoría de los estudios reportados al respecto concuerdan con el hecho de que los coliformes totales son los principales contaminantes de este tipo de agua comercial.

Los resultados obtenidos son comparables y coinciden plenamente con otros estudios realizados en países como Colombia y México, ^(23,24) ,donde se muestra que existe un conteo preocupante de coliformes totales en el agua purificada y envasada, por lo que la norma es ampliamente incumplida seguida de aerobios de mesófilos y de los mohos y levaduras.

3.2 Control microbiológico en etapas de purificación.

3.2.1 Contaminación por aerobios mesófilos. Para detectar si existían diferencias entre los valores medios de conteo de aerobios mesófilos se realizó el ANOVA de una vía cuyos resultados se muestran en la **Tabla 6**.

Tabla 6. Análisis de varianza para las medias de las UFC/ ml de aerobios mesófilos en las diferentes etapas del proceso de purificación.

		ANOVA				
AEROBIOS MESÓFILOS		Suma de Cuadrados	gl	Media cuadrática	F	P
	Inter- grupos	30239,127	9	3359,903	9,339	<0,001
	Intra- grupos	39574,354	110	359,767		
	Total	69813,481	119			

Gl: grados de libertad, P: probabilidad de error tipo I.

El ANOVA sugiere que existen diferencias significativas entre las medias, sin embargo esta prueba no identifica cuales son las medias diferentes entre sí, por ello es conveniente realizar una prueba Post-hoc con el fin de identificar grupos homogéneos de medias que no difieran entre sí. Con este sentido se realizó la prueba de Duncan para un nivel de organización $P < 0.05$ para grupos de medias diferentes, cuyos resultados indican al menos 3 grupos homogéneos. **(Gráfico 2) (Anexo 8)**

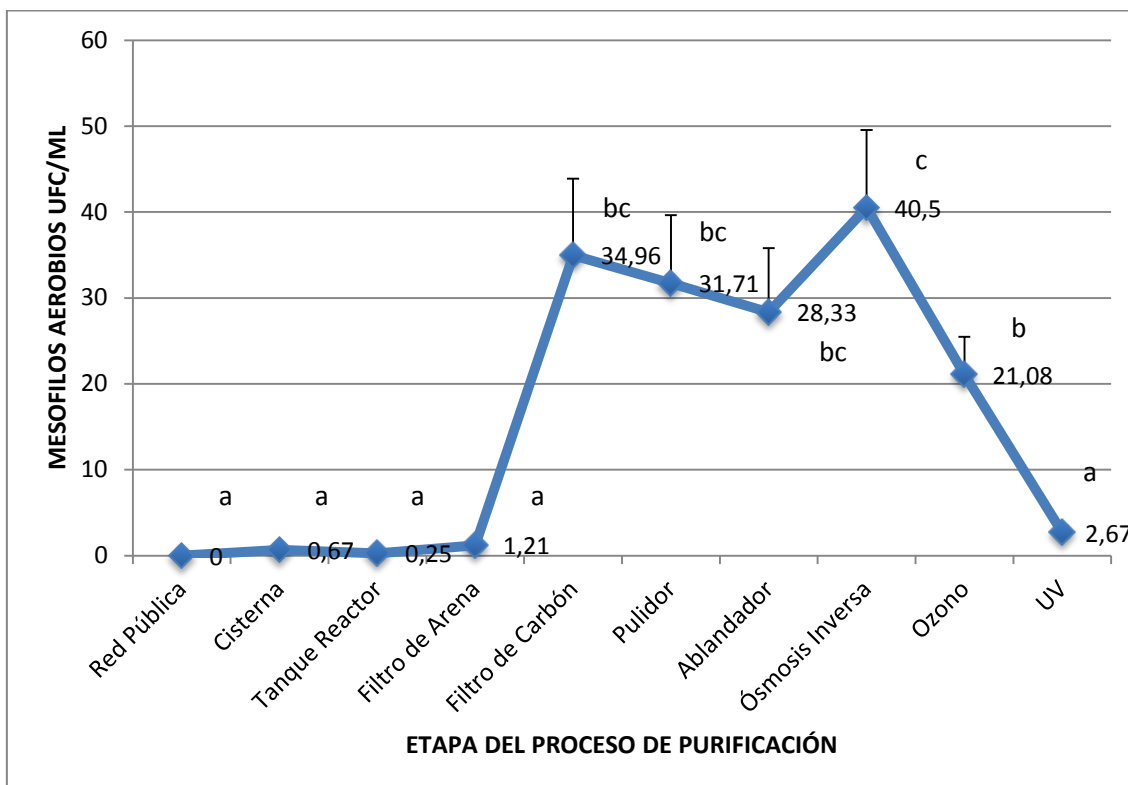


Gráfico 2. Comportamiento de las medias de los recuentos de aerobios mesófilos en las diferentes etapas de purificación.

En la presente gráfica se observa que en las primeras etapas de purificación comprendidas desde la red pública hasta el filtro de arena se encuentran valores mínimos de carga microbiana, pero los puntos de mayor carga microbológica se extienden desde el filtro carbón hasta el tratamiento con ozono.

El test de Duncan agrupa las medias homogéneas para una $P > 0.05$ y de este mismo modo detecta grupos de medias diferentes (letras: a, b, c) entre sí para una $P < 0.05$.

3.2.2 Contaminación por coliformes totales. Para detectar si existían diferencias entre los valores medios de conteo de coliformes totales se realizó el ANOVA de una vía cuyos resultados se muestran en la **Tabla 7**.

Tabla 7. Análisis de varianza para las medias de las UFC/100 ml de coliformes totales en las diferentes etapas del proceso de purificación.

COLIFORMES TOTALES	ANOVA					
		Suma de Cuadrados	GI	Media cuadrática	F	P
	Inter- grupos	3088,918	9	343,213	47,232	<0,001
	Intra- grupos	1235,319	170	7,267		
	Total	4324,238	179			

GI: grados de libertad, P: probabilidad de error tipo I.

El ANOVA sugiere que existen diferencias significativas entre las medias de los recuentos de coliformes totales, sin embargo esta prueba no identifica cuales son las medias diferentes entre sí, por ello es conveniente realizar una prueba Post-hoc con el fin de identificar grupos homogéneos de medias que no difieran entre sí. Con este sentido se realizó la prueba de Duncan para un nivel de organización $P < 0.05$ para grupos de medias diferentes, cuyos resultados indican 4 grupos homogéneos. **(Gráfico 3) (Anexo 7)**

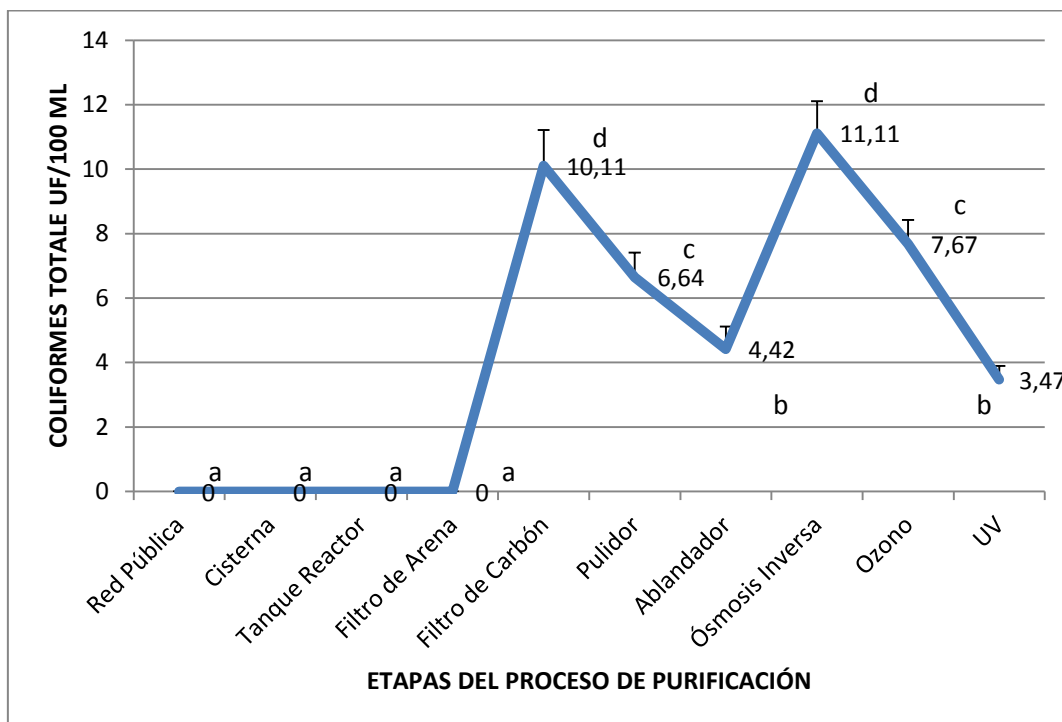


Gráfico 3. Comportamiento de las medias de los recuentos de coliformes totales en las diferentes etapas de purificación.

En este grafico se observa que en las primeras etapas de purificación desde red pública hasta filtro de arena se encuentran valores mínimos de carga microbiana, pero los puntos de mayor carga microbiológica se extienden desde el purificador de carbón hasta el tratamiento con luz UV.

El test de Duncan agrupa las medias homogéneas para una $P > 0.05$ y de este mismo modo detecta grupos de medias diferentes (letras: a, b, c, d) entre sí para una $P < 0.05$.

Con la ayuda de los modelos estadísticos empleados se estableció que existe un punto de partida en la contaminación del agua, que al igual que los aerobios mesófilos ocurren en el purificador de carbón, siendo estos resultados también muy importantes, porque, se comprueba la existencia de coliformes totales incumpliendo la norma con una media en su punto más crítico de 11 UFC/100ml. El análisis de la varianza nos esclarece a su vez que los datos han sido plenamente agrupados y que el margen de error se encuentra dentro de $P < 0.05$. **(Anexo 7).**

3.2.3 Contaminación por mohos y levaduras. Para detectar si existían diferencias entre los valores medios de conteo de mohos y levaduras se realizó el ANOVA de una vía cuyos resultados se muestran en la **Tabla 8**.

Tabla 8. Análisis de varianza para las medias de las UPC/100 ml de mohos y levaduras en las diferentes etapas del proceso de purificación.

	ANOVA					
		Suma de Cuadrados	gl	Media cuadrática	F	P
MOHOS Y LEVADURAS	Inter-grupos	14427,217	9	1603,024	19,995	<0,001
	Intra-grupos	8818,875	110	80,172		
	Total	23246,092	119			

Gl: grados de libertad, P: probabilidad de error tipo I.

El ANOVA sugiere que existen diferencias significativas entre las medias de los recuentos de coliformes totales, sin embargo esta prueba no identifica cuales son las medias diferentes entre sí, por ello es conveniente realizar una prueba Post-hoc con el fin de identificar grupos homogéneos de medias que no difieran entre sí. Con este sentido se realizó la prueba de Duncan para un nivel de organización $P < 0.05$ para grupos de medias diferentes, cuyos resultados indican 5 grupos diferentes conformados por medias homogéneas cada uno. **(Anexo 7)**

El test de Duncan agrupa las medias homogéneas para una $P > 0.05$ y de este mismo modo detecta grupos de medias diferentes (letras: a, b, c, d, e) entre sí para una $P < 0.05$. **(Gráfico 4)**

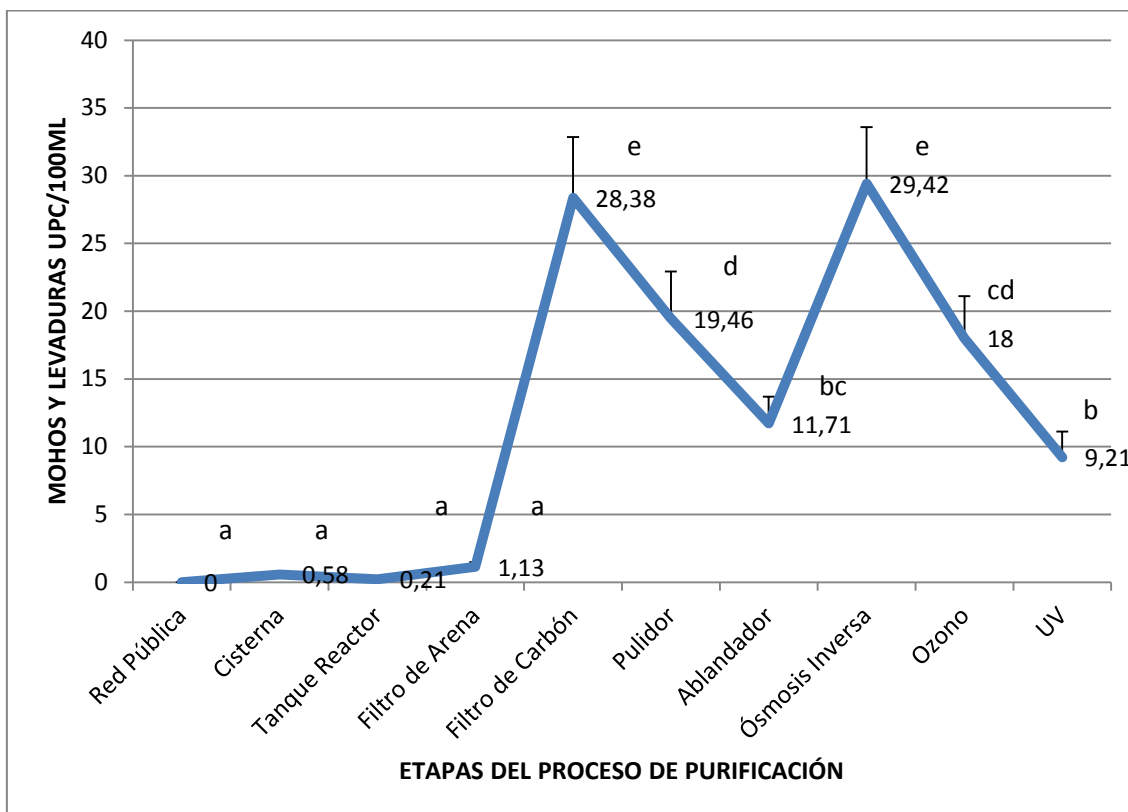


Gráfico 4. Comportamiento de las medias de los recuentos de mohos y levaduras en las diferentes etapas de purificación.

Según los resultados obtenidos, la contaminación por mohos y levaduras ocurre desde la etapa del purificador de carbón en adelante y puede estar asociado a la retención de materia orgánica en las matrices de filtración empleadas. Esta materia orgánica puede constituir el sustrato sobre el cual se desarrolle el crecimiento de estos microorganismos. ⁽²⁵⁾.

Llama la atención de manera preocupante la elevada contaminación microbiológica del agua que sale del proceso de ósmosis inversa, precisamente por las características y el fundamento físico de este proceso. Es probable que una de las causas sea el deterioro de las membranas filtrantes debido al largo período de uso de las mismas.

3.3 Efecto de la concentración de ozono sobre la contaminación microbiana de los bidones comerciales

Tabla 9. Efecto de diferentes concentraciones de ozono sobre la calidad microbiológica de los bidones comerciales. Se representan las medianas y el rango de los datos.

Concentración De Ozono (ppm)	Mesófilos Aerobios (UFC/ml)	Coliformes Totales (UFC/100ml)	Mohos y Levaduras (UFC/100ml)
0,295 ± 0,137 Seguido a esto va luz UV.	37,5 (22-205)	8,00 (7-17)	10,5 (4-24)
0,623 ± 0,279* Sin luz UV.	1,0 (0-3)	0,0 (0-0)	1,5 (0-2)
P	0,020	0,013	0,020

*: Indica diferencias significativas para $P < 0,05$; P: probabilidad de error tipo I obtenido por el *Test U de Mann-Whitney* para muestras independientes.

En el presente estudio se observó que la concentración generada durante el proceso era en promedio $0,295 \pm 0,137$ ppm, y que al exponer este gas a la luz ultravioleta puede acelerarse su descomposición y con ello su nivel residual en los bidones. La significativa mejoría de la calidad microbiológica del agua de los botellones comerciales que se observa al aumentar la dosis de ozono ($0,623 \pm 0,279$ ppm) en aproximadamente dos veces su valor inicial sin pasar por luz ultravioleta, concuerda absolutamente con los planteamientos anteriores.

Según los resultados de la tabla 9, considerando la inmediata descomposición del ozono tras el paso de la luz ultravioleta, su efecto desinfectante depende también en gran medida de la dosis empleada en el proceso de purificación en comparación con el tiempo de exposición. Por ello se sugiere que para una correcta desinfección deben mantenerse residuales de este compuesto a concentraciones de 0,4 a 0,5 ppm por un período de 10 a 20 minutos posteriores al contacto con el agua.

CAPITULO 4

4. CONCLUSIONES

- Con respecto a la calidad microbiológica del agua en etapas de purificación, se concluye que las etapas concernientes a red pública, cisterna, tanque reactor y filtro de arena, no presentan un crecimiento microbiológico o presentan valores por debajo de los establecidos por la norma NTE INEN 2200: 2008 y la norma NTC 813.
- En cuanto a la calidad microbiológica del agua de bidones como producto terminado durante el período de estudio puede evaluarse como deficiente, con 9 de cada 10 bidones contaminados con coliformes totales y 2 de cada 10 bidones contaminados con aerobios mesófilos y mohos y levaduras por lo que existe un incumplimiento de la norma NTE INEN 2200: 2008 y de la norma NTC 813.
- En lo que se refiere a los sitios de contaminación se encontró que los puntos que presentaron crecimiento y contaminación microbiana durante el proceso de purificación fueron observados a partir de la etapa de purificador de carbón, seguido de los procesos de filtro pulidor, tanque ablandador, ósmosis inversa, ozonización y luz ultravioleta (agua de llenado).
- El origen de la contaminación se observó a partir de la etapa de purificador de carbón, ya que este adsorbe el cloro introducido en etapas anteriores, además de olores, sabores y materia orgánica, esta última propiedad brinda condiciones ideales para la proliferación microbiana, por lo cual, se evidenció contaminación en los procesos subsecuentes a esta etapa.
- En los procesos realizados por el filtro pulidor, filtro ablandador, ósmosis inversa, se observó también una carga microbiana elevada debido a que no sufren un proceso de desinfección y limpieza adecuadas, incumpliendo con las recomendaciones del manual PURE WATER. INC.

- En el presente estudio se observó que la concentración de ozono generada durante el proceso, no solo era inferior a la recomendada (0.295 ± 0.137 ppm). sino que también se identificó que el proceso de luz ultravioleta después de la etapa de ozonización inhibe la capacidad desinfectante residual del ozono.
- Se duplicó la concentración de ozono (0.623 ± 0.279 ppm) y se retiró el proceso de luz ultravioleta mejorando considerablemente la calidad microbiológica del agua de bidón como producto terminado.

CAPITULO 5

5. RECOMENDACIONES

- Se recomienda implementar los cambios sugeridos desde el proceso de ozonización para cumplir con los estándares microbiológicos de calidad establecidos por las normas referidas.
- Realizar un estudio más amplio y detallado que evalúe la influencia de otras variables físico-químicas y microbiológicas sobre la calidad del agua purificada y embotellada en la fábrica.
- Realizar un control de la limpieza y desinfección, mediante programas pre-requisito (PPR), de las etapas de purificación con el fin de controlar y optimizar dicha operación.
- Realizar un estudio a profundidad sobre la dosis efectiva del desinfectante empleado en los bidones versus la concentración de ozono empleada con el fin de obtener un equilibrio en ambos procesos que garantice calidad y a su vez rentabilidad.
- Se recomienda la adquisición de una cámara de flujo laminar, con el fin de contar con todos los medios necesarios para realizar un estudio más exacto a fin de evitar la contaminación cruzada y trabajar en un ambiente más controlado.

6. BIBLIOGRAFÍA

1. **Tamagnini , I.m., Gonzalez, R.D.**, Bacteriological stability and growth kinetics of *Pseudomonas aeruginosa* in bottled water, *Appl. Microbiol.*, 83, 91 – 64, 2007.
2. **D. Eisenberg and W. Kauzmann.** Chemical and physical properties of water. Columbia: Columbia University Press. [En línea]. [Citado el: 5 Agosto 2013]. <http://www.infoplease.com/encyclopedia/science/water-chemical-physical-properties.html>
3. **Ministerio de sanidad, servicios sociales e igualdad.** Calidad del agua de consumo humano. España. [En línea] Año 2011. [Citado el: 5 Agosto 2013].
<http://www.msssi.gob.es/profesionales/saludPublica/saludAmbLaboral/calidadAguas/consumoHumano.htm>
4. **López Fernández JJ.** Tecnología del agua embotellada. Presente y futuro de las aguas subterráneas en la provincia de Jaén. IGME, Madrid, 2002; pp:239-246. ISBN: 84-7840-472-4-7.
5. **Kelly Addy, Linda Green, and Elizabeth Herron,** pH acid and alkalinity, University of Rhode Island, 2004
6. **Pure Water®**, Guide water purification processes, USA; 2009
7. **Ozone Solutions Inc.** 451 Black Forest Rd. Hull, IA 51239 USA, 2012
8. **United States Environmental Protection Agency,** Water Parameters Quality. United States [En línea] 2012. [Citado el: 15 de julio del 2013.]
<http://water.epa.gov/type/rsi/monitoring/vms55.cfm>

9. Free drinking water. What Are The Chemical Parameters Of Good Water Quality?

[En línea] 2009. [Citado el: 15 de julio del 2013.]

http://www.freedrinkingwater.com/water_quality/quality1/1-chemical-parameters-good-water-quality.htm

10. World Health Organization. Nitrate and nitrite in drinking-water. [En línea] 2012. [Citado el: 15 de julio del 2013.]

http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/chemicals/nitratenitrite2ndadd.pdf

11. Departamento de microbiología y genética. Recuento de coliformes totales filtración a través de membrana. España: Universidad de Salamanca. [En línea] 2010. [Citado: Agosto del 2013].

http://virus.usal.es/Web/demo_fundacua/demo2/FiltraMembColiT_auto.html

12. Food and Drug Administration . Molds and yeasts in drinking and bottled water. USA. [En línea] 2010. [Citado: Agosto 2013].

<http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm071435.htm>

13. Food and Drug Administration. Aerobic mesophiles in drinking and bottled water. USA. [En línea] 2010. [Citado: Agosto 2013].

<http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm071435.htm>

14. Docente: Ing. Jorge A. Orellana. Características del agua potable 2005 http://www.frro.utn.edu.ar/repositorio/catedras/civil/ing_sanitaria/ingenieria_sanitaria_a4_capitulo_03_caracteristicas_del_agua_potable.pdf

15. Madigan, Martinko, Parker. Biología de los Microorganismos. Décima Edición Editorial Prentice Hall. 2009.

<http://www.laanunciataikerketa.com/trabajos/microorganismos/virus.pdf>

16. World Health Organization. Waterborne diseases. [En línea] 2012. [Citado: Agosto del 2013].

http://www.who.int/water_sanitation_health/diseases/en/

17. H. Dupont, Durst, George W. Gokel. Experimental organic chemistry. McGraw-Hill, 2007.

18. Agua Noticias. El ozono en el agua. [En línea] febrero 2009. [Citado: Agosto 2013]. <http://www.megaozono.com/ozonoagua.htm>

19. Sara Cano Ruera. Métodos de análisis microbiológico. [En línea] Abril 2008. [Citado el: 5 de Agosto del 2013]. <http://es.scribd.com/doc/27307620/metodos-aerobios-mesofilos>

20. Millipore culture. m-Green yeast and mold broth. [En línea] Abril 2008. [Citado el: 5 de Agosto del 2013]. <http://www.britanialab.com.ar/esp/productos/b02/mcaldohonglev.htm>

21. Aenor, antisépticos y desinfectantes químicos. Actividad bactericida básica. Método de ensayo y requisitos. UNE-EN 1040. AENOR. Madrid, 2006

22. Pocket colorimeter™ . Sistemas de análisis manual de instrucciones Cloro <http://www.cenidet.edu.mx/subaca/webmktro/submenus/investigacion/tesis/1920%20Erwin%20Beutelspacher%20Santiago%20%20Jose%20Maria%20Calderon%20Ancona.pdf>

23. Olivas-Enríquez E, Flores-Margez JP. Calidad microbiológica del agua embotellada y de máquinas expendedoras automáticas en Ciudad Juárez, Chihuahua. Ciencia en la Frontera: Revista de Ciencia y Tecnología de la UACJ. 2012;X:7-13.

- 24. Vidal J, Consuegra A, Gomescaceres L et al.** Evaluación de la calidad microbiológica del agua envasada en bolsas producida en Sincelejo-Colombia. Rev MVZ Córdoba 2009;14(2):1736-44.
- 25. Zavalaga Toledo E.** Calidad microbiológica y físico-química del agua embotellada, comercializada en la ciudad de Tacna. Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann. Facultad de Ciencias. Escuela Académico Profesional de Biología y Microbiología. Tesis para optar por el Título Profesional de Biólogo Microbiólogo. Tacna, Perú. 2012;260 págs.
- 26. Trogolo JA.** Carbón activado: avances modernos para una tecnología antigua. Agua Latinoamericana 2001;11(6):4 págs.

7. ANEXOS

Anexo 1



INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN

Quito - Ecuador

NORMA TÉCNICA ECUATORIANA

NTE INEN 2 200:2008
Primera revisión

AGUA PURIFICADA ENVASADA. REQUISITOS.

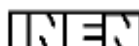
Primera Edición

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

CDU: 614.777.620.113
ICG: 67.160.20



CIU: 4200
AL 04.04-405

Norma Técnica Ecuatoriana Obligatoria	AGUA PURIFICADA ENVASADA. REQUISITOS.	NTE INEN 2 200:2008 Primera revisión 2008-08
<p style="text-align: center;">1. OBJETO</p> <p>1.1 Esta norma establece los requisitos que debe cumplir el agua purificada envasada para consumo humano.</p> <p style="text-align: center;">2. ALCANCE</p> <p>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.</p> <p style="text-align: center;">3. DEFINICIONES</p> <p>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.</p> <p>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.</p> <p style="text-align: center;">4. DISPOSICIONES GENERALES</p> <p>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.</p> <p>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:</p> <p>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;</p> <p>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.</p> <p style="text-align: center;">5. REQUISITOS</p> <p>5.1 Requisitos específicos</p> <p>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.</p> <p>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.</p> <p style="text-align: right;">(Continúa)</p> <p>DESCRIPTORES: Tecnología de los alimentos, bebidas, bebidas no alcohólicas, aguas.</p>		

NTE INEN 2 200

2008-08

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 ₃ , 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)

NTE INEN 2 200

2008-08

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:

- 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".
- Si el envase es retornable o no.
- El tipo de tratamiento al que ha sido sometida el agua para su purificación.

(Continúa)

-3-

2008-505

NTE INEN 2 200

2008-08

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. *IWWA. 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*.

-4-

2008-505

INFORMACIÓN COMPLEMENTARIA

Documento: TÍTULO: AGUA PURIFICADA ENVASADA. REQUISITOS.		Código: AL 04.04.405
NTE INEN 2 200		
Primera revisión		
ORIGINAL: Fecha de iniciación del estudio:	REVISIÓN: 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:		INSTITUCIÓN REPRESENTADA:
Ing. Sergio Vinuesa (Presidente del SCT)		INDUSTRIAL EMBOTELLADORA QUITO S.A.
Ing. Marcelo Maldonado		AGUA PURIFICADA GLUS
Ing. Santiago Gómez		AGUA PURIFICADA GLUS
Ing. Arturo Ordóñez		AGUA MANANTIAL, CERVECERÍA ANDINA, GUAYAQUIL
Ing. Benito Mendoza		UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO
Dra. Alexandra Levoyer		INDUQUITO S.A.
Dra. Elizabeth Uribe		THE TESALIA SPRINGS C.O.
Ing. Roberto Núñez		PURE WATER GAMAPRODU
Ing. Marco Solano		CERVECERÍA ANDINA S.A.
Sr. Eduardo Toral		SUPERAGUA
Ing. Richar Casamen		HIDRO 2S
Dra. Virginia Trujillo		DANDELION ORANGINE S.A.
Ing. Juan José Vaca		REFRESHMENT PRODUCT SERVICES ECUADOR
Dra. Raquel Rodríguez		TRANSPUREZA S.C.C.
Dra. Ma. Esperanza Berrezueta		UNIAGUA – UNIVERSIDAD CENTRAL
Ing. Clara Benavides		SUMESA S.A.
Ing. Fabricio Intriago		AGRICOLA GANADERA REYSAHIWAL
Ing. Marcelo Gallegos		ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL
Dra. Lucía Navas		INSTITUTO NACIONAL DE HIGIENE, QUITO
Dra. Meyra Manzo		INSTITUTO NACIONAL DE HIGIENE, GUAYAQUIL
Dra. Loyde Triana		INSTITUTO NACIONAL DE HIGIENE, GUAYAQUIL
Dra. Margarita Ordóñez		INSTITUTO NACIONAL DE HIGIENE, GUAYAQUIL
Ing. María E. Dávalos (Secretaria Técnica)		INEN - REGIONAL CHIMBORAZO
Otros trámites:		
El Directorio del INEN aprobó este proyecto de norma en sesión de 2008-07-23		
Oficializada como: Obligatoria		Por Resolución No. 086-2008 de 2008-07-24
Registro Oficial No. 403 de 2008-08-14		

Anexo 2

Normas oficiales para la calidad del agua
Colombia**NORMA TECNICA COLOMBIANA****INFORME**

Los Comités Técnicos del ICONTEC son los organismos encargados de realizar el estudio de las normas. Están integrados por representantes del Gobierno Nacional y de los Socios, clasificados en los grupos de Producción, Consumo e Intereses Generales.

Con el fin de garantizar un consenso nacional, los proyectos elaborados por los Comités se someten a un periodo de encuesta pública durante el cual puede formular observaciones cualquier persona.

El estudio de esta norma estuvo a cargo del comité 313402 Agua.

La NTC 813 (Segunda revisión) ha sido ratificada por el Consejo Directivo del Instituto el 94-10-19.

Esta norma está sujeta a permanente revisión con el objeto de que responda en todo momento a las necesidades y exigencias de la técnica moderna. Las solicitudes fundadas para su revisión, merecerán la mayor atención de los organismos técnicos del Instituto.

MIEMBROS PARTICIPANTES (P) DEL COMITE 313402

Ministerio de Salud Pública
Superintendencia de Industria y Comercio
Aceites y Grasas Vegetales, S.A.
Acerías de Colombia, S.A.
Acerías Paz del Río, S.A.
Aga-Fano, S.A.
Angel Laboratorio y Cía Ltda.
Alpina Productos Alimenticios, S.A.
Asociación Colombiana de Técnicos Plomeros
Asociación de Industriales y Comerciantes del Toberin
Barrientos Gómez Asociados Ltda.
BASF Química Colombiana, S.A.
Bavaria, S.A.
Coca-Cola de Colombia, S.A.
Coloma Ltda.
Colombiana Universal de Papeles, S.A.
Colombina, S.A.
Compañía Colombiana de Alimentos
Lácteos, S.A.

Compañía Nacional de Levaduras
Levapan, S.A.
Empresa de Acueducto y Alcantarillado de Bogotá
Empresa de Licores del Caquetá
Empresa de Licores del Chocó
Empresa Licorera del Meta
Empresas Municipales de Cali
Empresas Públicas de Medellín
Enka de Colombia, S.A.
Fábrica de Licores del Tolima
Fábrica de Tornillos Gutemberto, S.A.
Firmenich, S.A.
Gaseosas Posada Tobón, S.A.
Indisa Limitada
Industria Licorera de Boyacá
Industria Licorera de Caldas
Industrial de Gaseosas, S.A.
Ingenio Fichichi, S.A.
Instituto Colombiano de Productores de Cemento
Instituto Nacional de Investigación en Geociencia
Interamericana de Productos Químicos S.A.
Johnson & Johnson de Colombia S.A.
Laboratorio Baxter S.A.
Mac Inalba S.A.
Manantial S.A.
Minipak S.A.
Nulab Ltda.
Oxigenados y Derivados Ltda.
Papeles Nacionales S.A.
Pavco S.A.
Paños Vicuña Santa Fé S.A.
Politécnico Colombiano Jaime
Isaza Cadavid
Pollo Coa S.A.
Productos Familia S.A.
Productos Químicos del Huila Ltda.
Productos Químicos Panamericanos S.A.
Química Nalco de Colombia S.A.
Rica Rondo, Industria Nacional de
Alimentos S.A.
Rohm and Haas Colombia S.A.
Silical Ltda.
Sociedad Hotelera Cien Internacional S.A.
Sulfoquímica Ltda.
Universidad de Antioquia
Universidad Francisco de Paula Santander
Universidad Jorge Tadeo Lozano
Universidad Libre
Vendamos Ltda.

AGUA.**1. OBJETO**

- 1.1 Esta norma tiene por objeto establecer los requisitos físicos, químicos y microbiológicos que debe cumplir el agua potable.
- 1.2 Esta norma también se aplica al agua potable proveniente de cualquier sistema de abastecimiento.

2. DEFINICIONES

Para efectos de esta norma se establecen las siguientes:

- 2.1 Agua Potable: aquella apta para el consumo humano y que cumple con los requisitos físicos, químicos y microbiológicos establecidos en la norma.
- 2.2 Contaminación: alteración de las características físicas, químicas o biológicas del agua, resultante de la incorporación en la misma de productos o residuos que ocasionen o puedan ocasionar molestias directas o indirectas, enfermedades y aún la muerte de seres vivos.
- 2.3 Residuos: sobrantes líquidos, sólidos, gaseosos y distintas formas de energía, provenientes de la actividad humana en general.
- 2.4 Porción normal: en análisis microbiológico, la compuesta de 10 cm³ o de 100 cm³ de agua.
- 2.5 Muestra normal: en análisis microbiológico, la que está constituida por 5 porciones normales iguales.
- 2.6 Grupo coliforme: conjunto de todos los microorganismos aerobios o anaerobios facultativos, gram negativos, no esporógenos, que fermentan la lactosa con formación de gas, en un período de 48 h entre 35°C y 37°C.
- 2.7 Índice coliforme: cantidad estimada de microorganismos del grupo coliforme presente en 100 cm³ de agua. Sus resultados se expresan en términos de número más probable (NMP) para el caso de la colimetría por dilución (técnica de tubos múltiples) y por el número de colonias en el caso de la membrana filtrante.
- 2.8 Unidad formadora de colonia (U.F.C): grupo de microorganismos de la misma especie.
- 2.9 Recuento de microorganismos mesófilos: el indicador más amplio que incluye todos los géneros aerobios y facultativos que crecen en medios simples a una temperatura entre 20°C y 45°C.

3. REQUISITOS**3.1 CARACTERÍSTICAS FÍSICAS**

El agua potable deberá cumplir con los requisitos físicos indicados en la Tabla 1.

3.2 CARACTERISTICAS QUIMICAS

3.2.1 Al agua potable se le permitirán las concentraciones de elementos y sustancias químicas indicadas en la Tabla 4.

3.2.2 El agua potable deberá tener mínimo $0,2 \text{ mg/dm}^3$ y un máximo de $1,0 \text{ mg/dm}^3$ de cloro residual libre en la red, expresado como cloro (Cl_2) y el cloro total deberá tener como máximo una concentración de $1,2 \text{ mg/dm}^3$.

3.2.3 El agua potable deberá tener un intervalo de pH 6,5 a 9,0.

Nota. El acueducto deberá cumplir con su pH de estabilización.

Tabla 1. Características físicas	
Requisitos	Valor
Color, expresado en unidades de la escala Pt-Co, máx	15
Olor y sabor	Inobjetable
Turbiedad, expresada en unidades nefelométricas de turbiedad UNT, máx	2
Sólidos totales, expresado en mg/dm^3 , máx	200

3.3 CARACTERISTICAS MICROBIOLOGICAS

3.3.1 De todas las muestras examinadas en un mes, máximo el 10% podrán mostrar presencia del grupo coliforme confirmado independiente de la serie utilizada.

3.3.1.1 No deberá presentarse el grupo coliforme confirmado en los siguientes casos:

- En dos muestras consecutivas.
- En más de una muestra mensual, cuando en el mismo lapso se examinen menos de veinte (20) muestras.
- En más del 5% de las muestras, cuando mensualmente se examinen veinte (20) o más muestras.

3.3.1.2 En caso de que el número de colonias obtenidas exceda los valores observados anteriormente, de inmediato deberán tomarse muestras diariamente en el mismo punto de recolección inicial hasta obtener resultados negativos en dos (2) muestras consecutivas.

3.3.2 Conteo de placa. Se efectuará a 35°C y durante 48 h. Se permitirá un máximo de 100 colonias por cm^3 .

3.3.3 Independientemente del método de análisis realizado, ninguna muestra de agua potable debe contener escherichia-coli en 100 cm^3 de agua.

3.3.4 El 10% de las muestras analizadas en un mes, para el grupo coliforme, deberán ser complementadas, con las pruebas para el grupo enterococo:

3.3.4.1 No deberá presentarse el grupo enterococo confirmado en los siguientes casos:

- a) En dos muestras consecutivas.
- b) En más de una muestra mensual cuando en el mismo lapso se examinen menos de veinte (20) muestras;
- c) En más del 5% de las muestras cuando mensualmente se examinen veinte (20) o más muestras.

3.3.4.2 Cuando en una muestra normal aislada se presente el grupo enterococo confirmado, de inmediato, deberán tomarse muestras diariamente, en el mismo punto de recolección inicial para análisis, hasta que los resultados de dos (2) muestras consecutivas indiquen ausencia del grupo enterococo.

3.3.4.3 Los resultados deberán registrarse con indicación de la fase hasta la cual se desarrolló la prueba, bien sea presuntiva, confirmativa o completa.

Se anotará, además el número de tubos positivos encontrados, según la serie utilizada.

3.3.4.4 Independientemente del método de análisis realizado, ninguna muestra de agua debe contener estreptococos fecales en 100 cm^3 de agua.

3.3.5 Ninguna muestra de agua potable de las examinadas mensualmente, deberán presentar quistes de amiba ni de giarda lamblia.

3.3.6 De las muestras de agua potable analizadas mensualmente ninguna podrá presentar legionella.

3.3.7 El recuento de hongos y levaduras se efectuará a 20°C durante 48 h a 72h de incubación.

3.3.8 El número de colonias producido por los hongos o levaduras no deberá exceder de:

- 1 colonia (U.F.C.) en 5 cm^3
- 10 colonias (U.F.C) en 50 cm^3
- 20 colonias (U.F.C) en 100 cm^3

3.3.9 Independiente del método de análisis realizado ninguna muestra deberá contener hongos o levaduras patógenas.

3.3.10 Cuando en una muestra normal se aisle algún hongo o levadura patógena se deberán tomar muestras diariamente, en el mismo punto de recolección inicial para análisis, hasta que los resultados de dos muestras consecutivas indiquen ausencia del microorganismo.

4. TOMA DE MUESTRAS

Las muestras para los análisis microbiológicos, físicos y químicos se deberán tomar en recipientes diferentes.

4.1 MUESTRAS PARA ANALISIS QUIMICOS Y FISICOS

4.1.1 Se obtendrán de los tanques de almacenamiento y en puntos representativos de la red de distribución.

4.1.2 El examen para análisis químico y físico deberá iniciarse inmediatamente después o máximo dentro de las 48 h siguiente a la recolección.

4.2 MUESTRAS PARA LOS EXAMENES MICROBIOLOGICOS

4.2.1 El número de muestras para análisis microbiológico que deberá tomarse en todo el sistema de suministro de agua estará de acuerdo con la población servida, tal como se establece en la Tabla 2.

Tabla 2. Población servida para exámenes microbiológicos

Número de habitantes servidos	Número mínimo de muestras para analizar por mes
Menos de 2 500	2
2 501 a 10 000	8
10 001 a 100 000	10 más 1 por cada 1 000 habitantes
100 001 a 500 000	90 más 1 por cada 10 000 habitantes
500 001 a 1 000 000	140 más 2 por cada 100 000 habitantes
Más de 1 000 000	340 más 40 por cada 1 000 000 habitantes

4.2.2 La práctica de los exámenes microbiológicos se sujetará a la Tabla 3.

Tabla 3. Número de muestras por habitantes servidos

Número de habitantes servidos	Intervalo máximo entre muestras consecutivas
Menos de 20 000	1 mes
20 001 a 50 000	2 semanas
50 001 a 100 000	4 días
100 001 a 300 000	2 días
Más de 300 000	1 día

4.2.3 Las muestras de agua analizadas como consecuencia del incumplimiento de los numerales 3.3.1, 3.3.2 y 3.3.5, no formarán parte del programa normal de toma de muestras por lo tanto no se contabilizarán en el número de muestras exigidas como mínimo para el plan mensual de muestreo.

4.2.4 El examen microbiológico deberá iniciarse inmediatamente después o a la hora siguiente de la recolección de la muestra; en ningún caso este tiempo excederá de 24 h.

4.2.5 Durante este tiempo, la muestra se mantendrá a una temperatura comprendida entre 0°C y 10°C hasta el momento del análisis.

4.2.6 Los frascos para la toma de muestras microbiológicas, deberán ser de vidrio inerte o material que resista esterilización y con cierre hermético. La cantidad de muestra tomada será máximo las 3/4 partes de la capacidad del recipiente.

4.2.7 Para los análisis microbiológicos, los envases de las muestras que posean cloro residual deberán contener un agente clorador.

4.2.8 Los recipientes de las muestras deberán ser identificados con la fecha, hora, sitio de recolección y persona que toma la muestra.

5. ENSAYOS

5.1 DETERMINACION DE LA TURBIEDAD

Se efectúa de acuerdo con lo indicado en la GTC 2, p. 13.

5.2 DETERMINACION DEL COLOR

Se efectúa de acuerdo con lo indicado en la GTC 2, p. 12.

5.3 DETERMINACION DEL OLOR Y SABOR

Se efectúa de acuerdo con lo indicado en la GTC 2, p. 14.

5.4 DETERMINACION DEL CLORO RESIDUAL

Se efectúa de acuerdo con lo indicado en la GTC 2, p. 47.

5.5 DETERMINACION DEL PH

Se efectúa de acuerdo con lo indicado en la GTC 2, p. 16.

Tabla 4. Concentración de elementos y sustancias químicas permitidas en el agua potable


Sustancias	Expresada como	Valor permitido (mg/L)	
		mín	máx
Arsénico	As		0,05
Aluminio	Al		0,2
Bario	Ba		1,0
Boro	B		1,0
Cadmio	Cd		0,005
Cianuro	CN		0,1
Cinc	Zn		5,0
Cloruros	Cl		250,0
Cobre	Cu		1,0
Cromo hexavalente	Cr ⁺⁶		0,05
Dureza total	CaCO ₃	30	150
Fenoles	Fenol		0,001
Hierro total	Fe		0,3
Magnesio	Mg		36,0
Manganeso	Mn		0,1
Mercurio	Hg		0,001
Nitratos	NO ₃		45,0
Nitritos	NO ₂		0,01
Plomo	Pb		0,01
Plata	Ag		0,05
SAB	SAB		0,5
Selenio	Se		0,01
Sulfatos	SO ₄		250,0
Grasas y aceites			No detectable

Continúa

Tabla 4. Concentración de elementos y sustancias químicas permitidas en el agua potable

Sustancias	Expresada como	Valor permitido (mg/L)	
		mín	máx.
Productos Agroquímicos			
Aldrín			0,001
Clordano			0,003
Carbaril			0,1
DDT			0,05
Diazinón			0,01
Dieldrín			0,001
Endrín			0,0005
Heptacloro			0,03
Lindano			0,005
Metoxicloro			0,1
Metilparatión			0,007
Paratión			0,035
Carbamatos			0,1
Toxafeno			0,005
Clorofenoxi 2,4D			0,1
2,4,5T			0,002
2,4,5TP			0,03
Radiactividad			
Radio 226-228			5PCi/dm ³
Estroncio 90			2Ci/dm ³





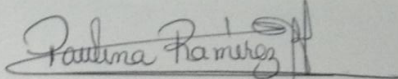
Cuenca, a 2 de septiembre del 2013

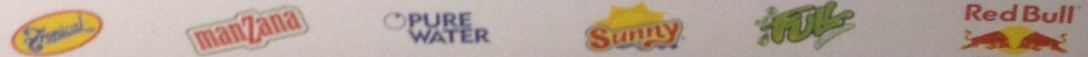
Yo, Dra. Paulina Ramírez, Jefe de Control de Calidad de la Fábrica Cuenca Bottling Company, en mi calidad de responsable del área

CERTIFICO

Que el Señor Jandry Ramiro Neira Sandoya con número de cedula 1104094956 y el señor Henry Geovanny León Bravo con número de cédula 0301601522, estudiantes egresados de la Universidad de Cuenca, Facultad de Ciencias Químicas, Carrera de Bioquímica y Farmacia, realizaron en las instalaciones de Cuenca Bottling Company Co.Ca. la parte práctica de la tesis denominada **"CONTROL MICROBIOLÓGICO EN ETAPAS DE PURIFICACIÓN Y PRODUCTO TERMINADO DE EL AGUA DE BIDONES"**, cumpliendo satisfactoriamente los objetivos planteados inicialmente, así como otros aportes significativos a nuestra Fábrica.

Es todo lo que puedo afirmar en razón a la verdad, pudiendo los estudiantes tesistas dar eso en lo que ellos crean conveniente.


Dra. Paulina Ramírez M.
JEFE DE CONTROL DE CALIDAD
CUENCA BOTTLING Co. Ca.
R.U.C.: 0190003647001.


Av. Carlos Tosi Sirí s/n y Miguel A. Narváez • Teléfonos Conmutadores: 2809093 - 2809095 - 2809098 • Fax: 2809098 Servicio al Cliente 2862450
E-mail: cuencabco@cbc.com.ec • P.O. Box: 01 01 4974 • Cuenca - Ecuador

ANEXO 4

Caldo extracto de glucosa triptona (TGE)

HOJA TÉCNICA

- > 55-Plus Monitor
- > Sistema Milliflex PLUS
- > MicropreSure On-Line Filtration Samplers: Ready-to-use devices sample and test in-process bottled water
- > MicropreSure In-Line Filtration Monitors

Descripción del producto (MHA000P2T): Caldo extracto de glucosa triptona (TGE)

Cant./Env.: 50

Aplicaciones: Se utiliza un medio de cultivo no selectivo para detectar los microorganismos heterotróficos totales en agua y otros líquidos

Aplicaciones claves:

- Cerveza
- Análisis de la carga microbológica
- Agua embotellada
- Laboratorio clínico
- Cosméticos
- Análisis medioambientales
- Alimentos y bebidas
- Filtración de laboratorio
- Refrescos
- Bebidas para deportistas
- Ensayo de esterilidad
- Análisis y control del agua
- Vino

Medios: Extracto de glucosa triptona

Dispositivo aplicable:

- Método MF
- Microfil
- Milliflex
- MicropreSure

Certificado incluido, S/N: Y

Apariencia del organismo: Colonias de color transparente a blanco cremoso, algunas pueden producir pigmentos

Temperatura de incubación, °C: 28–35

Organismos de control de calidad: *E. coli* (ATCC 25922)

Temperatura de almacenamiento, °C: 2–10

Número de ensayos por envase: 50

Forma de presentación de los medios: Líquido

pH a 25 °C: 7.0 ± 0.2

Envase: Ampollas de plástico de 2 ml

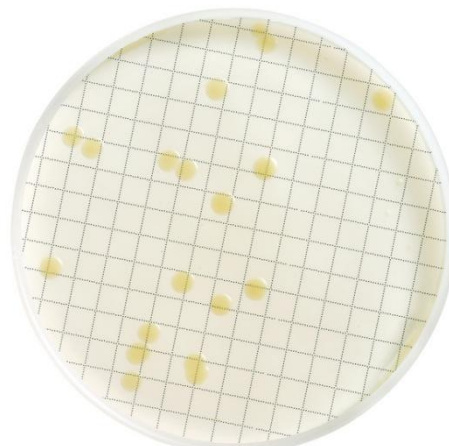
Microorganismos seleccionados: Recuento total

Tipo de ensayo:

- Carga biológica
- Límites microbiológicos

Volumen, ml: 2

Nombre del producto: Caldo extracto de glucosa triptona (TGE)



Fórmula (en gramos por litro)

Extracto de carne	6.0
Triptona	10.0
Glucosa	2.0
pH final: 7.0 ± 0.2	

Vida útil (meses): 12

Color de los medios: Ámbar intermedio, transparente a ligeramente opalescente

Tiempo de incubación, horas: 18–120

ANEXO 5

Caldo m-Endo para coliformes totales

HOJA TÉCNICA

> 55-Plus Monitor

> Sistema Milliflex PLUS

> [MicropreSure On-Line Filtration Samplers: Ready-to-use devices sample and test in-process bottled water](#)

> MicropreSure In-Line Filtration Monitors

Descripción del producto (MHA000P2E): Caldo m-Endo para coliformes totales

Cant./Env.: 50

Aplicaciones: Para la detección de coliformes totales en agua potable.

Aplicaciones claves:

- Cerveza
- Agua embotellada
- Sidra
- Laboratorio clínico
- Cosméticos
- Análisis medioambientales
- Alimentos y bebidas
- CC industrial
- Filtración de laboratorio
- Refrescos
- Bebidas para deportistas
- Análisis y control del agua
- Vino

Cumplimiento de la normativa: Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater

Medios: m-Endo

Dispositivo aplicable: Método MF, Microfil, Milliflex, MicropreSure

Certificado incluido, S/N: Y

Apariencia del organismo: Las colonias de coliformes son de color rojo oscuro con un brillo verde metálico distintivo

Organismos de control de calidad:

- *E. coli* (ATCC 25922)
- mixed culture (*E. coli*, *P. aeruginosa* and *P. vulgaris*)

Temperatura de incubación, °C: 35 ± 0,5

Temperatura de almacenamiento, °C: 2–10

Número de ensayos por envase: 50

Forma de presentación de los medios: Líquido

pH a 25 °C: 7.2 ± 0.2

Envase: Ampollas de plástico de 2 ml

Tipo de ensayo: Carga biológica, Límites microbiológicos

Volumen, ml: 2

Nombre del producto: Caldo m-Endo para coliformes totales

Vida útil (meses): 12

Color de los medios: Rosa a púrpura claro con ligeros precipitados



Fórmula (en gramos por litro)

Ingredientes	gr / Litro
triptosa	10.000
Hidrolizado enzimático de caseína	5.000
Peptona, especial	5.000
extracto de levadura	1.500
lactosa	12.500
cloruro de sodio	5.000
fosfato dipotásico	4.375
fosfato monopotásico	1.375
Lauril sulfato de sodio	0.050
desoxicolato de sodio	0.100
El sulfito de sodio	2.100
fucsina básica	1.050
Etanol 95°	20,0 ml

Tiempo de incubación, horas: 24 ± 2

ANEXO 6

Caldo m-Green

HOJA TÉCNICA

- > 55-Plus Monitor
- > Sistema Milliflex PLUS
- > MicropreSure On-Line Filtration Samplers: Ready-to-use devices sample and test in-process bottled water
- > MicropreSure In-Line Filtration Monitors

Descripción del producto (MHA000P2M): Caldo m-Green para levaduras y mohos

Cant./Env.: 50

Aplicaciones: Para analizar el crecimiento de levaduras y mohos en refrescos y otras bebidas

Aplicaciones claves:

- Cerveza
 - Análisis de bebidas
 - Agua embotellada
 - Sidra
 - Laboratorio clínico
 - Cosméticos
 - Análisis medioambientales
 - Alimentos y bebidas
 - CC industrial
 - Filtración de laboratorio
 - Refrescos
 - Bebidas para deportistas
 - Vino
- Medios:** Caldo m-Green para levaduras y mohos
- Dispositivo aplicable:**
- Método MF
 - Microfil
 - Milliflex
 - MicropreSure

Certificado incluido, S/N: Y

Apariencia del organismo: Las levaduras forman colonias grandes opacas de color verde. Las colonias de mohos son verdes y filamentosas

Temperatura de incubación, °C: 28–32

Organismos de control de calidad:

- *S. cerevisiae* (ATCC 9763)
- *A. niger* (ATCC 16404)

Temperatura de almacenamiento, °C: 2–10

Número de ensayos por envase: 50

Forma de presentación de los medios: Líquido

pH a 25 °C: 4.6 ± 0.2

Envase: Ampollas de plástico de 2 ml

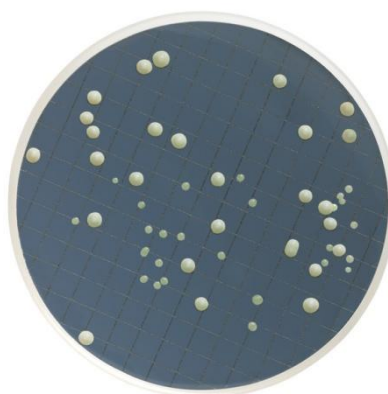
Tipo de ensayo: Alimentos y bebidas

Volumen, ml: 2

Nombre del producto: Caldo m-Green

Vida útil (meses): 12

Color de los medios: Verde



Fórmula (en gramos por litro)

Extracto de levadura	9.0
Glucosa	50.0
Triptéina	5.0
Peptona de carne	5.0
Sulfato de magnesio	2.1
Fosfato monopotásico	2.0
Diastasa	0.05
Tiamina	0.05
Verde de bromocresol	0.026
pH final: 4.6 ± 0.2	

Tiempo de incubación, horas: 48–72

ANEXO 7

Historial de resultados de las diferentes etapas de purificación y producto terminado recopilados en Microsoft Excel 2007, durante el periodo de práctica abril - junio del 2013.

F. de siembra	F. de Lectura	1		2		3		4		5		6		7		8		9		10	
22/04/2013	24/04/2013	0	0	2	2	1	0	1	1	54	51	43	45	23	25	50	51	29	28	13	15
24/04/2013	26/04/2013	0	0	1	1	0	0	0	0	8	12	10	7	6	5	15	14	11	7	6	5
29/04/2013	01/05/2013	0	0	0	1	1	1	4	2	36	39	27	29	18	20	41	43	36	38	21	20
01/05/2013	03/05/2013	0	0	0	0	1	1	0	0	13	17	8	9	5	7	15	15	12	10	4	4
06/05/2013	08/05/2013	0	0	0	0	0	0	0	0	29	27	21	23	17	14	33	35	22	25	11	11
08/05/2013	10/05/2013	0	0	0	1	0	0	2	2	14	15	9	11	6	6	18	17	10	10	3	5
13/05/2013	15/05/2013	0	0	0	1	0	0	2	2	47	36	26	25	12	14	49	43	28	29	12	15
15/05/2013	17/05/2013	0	0	3	1	0	0	3	3	21	23	14	17	8	9	25	17	12	13	5	3
20/05/2013	22/05/2013	0	0	0	0	0	0	0	0	53	52	35	32	15	18	49	47	30	29	18	23
22/05/2013	24/05/2013	0	0	0	0	0	0	0	0	11	13	8	8	5	4	14	16	6	7	2	4
27/05/2013	29/05/2013	0	0	0	0	0	0	2	1	36	39	25	23	18	19	32	35	14	15	9	7
29/05/2013	31/05/2013	0	0	0	1	0	0	1	1	17	18	7	5	4	3	16	16	6	5	3	2

Historial de datos recopilado de aerobios mesófilos en etapas de purificación. abril- junio 2013 (UFC/ml)

Historial de datos recopilado de aerobios mesófilos en producto terminado, abril- junio 2013 (UFC/ml)

Lote	Fecha de Análisis/Siembra	Fecha De lectura	Bidón 1	Bidon 2
L1535ELB220413C	26/04/2013	29/04/2013	7	6
L1540ELB220413C	26/04/2013	29/04/2013	18	15
L1525ELB240413C	29/04/2013	02/05/2013	212	198
L1532ELB240413C	29/04/2013	02/05/2013	255	217
L1507ELB290413C	03/05/2013	06/05/2013	0	0
L1512ELB290413C	03/05/2013	06/05/2013	0	0
L1448ELB010513C	06/05/2013	08/05/2013	>300	>300
L1453ELB010513C	06/05/2013	08/05/2013	>300	>300
L1432ELB060513C	10/05/2013	13/05/2013	1	0
L1435ELB060513C	10/05/2013	13/05/2013	15	17
L1428ELB080513C	13/05/2013	15/05/2013	3	3
L1437ELB080513C	13/05/2013	15/05/2013	15	11
L1417ELB130513C	17/05/2013	20/05/2013	200	210
L1426ELB130513C	17/05/2013	20/05/2013	215	224
L1438ELB150513C	20/05/2013	22/05/2013	42	40
L1446ELB150513C	20/05/2013	22/05/2013	37	41
L1426ELB200513C	27/05/2013	29/05/2013	5	8
L1432ELB200513C	27/05/2013	29/05/2013	8	13
L1438ELB220513C	27/05/2013	29/05/2013	19	24
L1446ELB220513C	27/05/2013	29/05/2013	27	25
L1402ELB270513C	31/05/2013	03/06/2013	25	22
L14156ELB270513C	31/05/2013	03/06/2013	42	36
L1412ELB290513C	03/06/2013	05/06/2013	52	50
L1416ELB290513C	03/06/2013	03/06/2013	61	59

Historial de datos recopilada de coliformes totales en etapas de purificación y producto terminado (UFC/100ml) abril-junio 2013

F. de siembra	F. de Lectura	1		2		3		4		5		6		7		8		9		10	
22/04/2013	23/04/2013	0	0	0	0	0	0	0	0	23	20	12	11	8	8	15	15	10	10	4	5
24/04/2013	25/04/2013	0	0	0	0	0	0	0	0	8	7	5	4	4	3	9	8	5	7	2	3
26/04/2013	27/04/2013	0	0	0	0	0	0	0	0	6	5	4	4	2	1	7	5	4	2	1	2
29/04/2013	30/04/2013	0	0	0	0	0	0	0	0	10	10	8	7	5	5	12	14	9	9	4	4
01/05/2013	02/05/2013	0	0	0	0	0	0	0	0	7	7	6	5	4	4	8	10	6	5	4	2
03/05/2013	04/05/2013	0	0	0	0	0	0	0	0	5	4	3	2	1	0	7	5	4	4	2	1
06/05/2013	07/05/2013	0	0	0	0	0	0	0	0	11	9	8	8	6	5	13	12	8	9	5	3
08/05/2013	09/05/2013	0	0	0	0	0	0	0	0	8	8	5	5	3	2	10	11	6	8	3	4
10/05/2013	11/05/2013	0	0	0	0	0	0	0	0	5	5	2	3	0	1	6	7	4	4	2	0
13/05/2013	14/05/2013	0	0	0	0	0	0	0	0	15	15	11	13	9	9	18	17	13	15	7	5
15/05/2013	16/05/2013	0	0	0	0	0	0	0	0	11	12	6	8	4	3	7	9	5	8	4	1
17/05/2013	18/05/2013	0	0	0	0	0	0	0	0	6	7	3	4	2	2	11	10	7	9	1	3
20/05/2013	21/05/2013	0	0	0	0	0	0	0	0	18	19	14	13	10	12	24	20	16	12	10	6
22/05/2013	23/05/2013	0	0	0	0	0	0	0	0	14	13	8	8	7	6	12	14	10	8	5	3
24/05/2013	25/05/2013	0	0	0	0	0	0	0	0	10	11	6	5	3	4	10	13	9	7	4	4
27/05/2013	28/05/2013	0	0	0	0	0	0	0	0	12	13	10	9	6	8	13	15	11	10	4	7
29/05/2013	30/05/2013	0	0	0	0	0	0	0	0	8	8	5	7	4	5	9	10	6	8	3	4
31/05/2013	01/06/2013	0	0	0	0	0	0	0	0	7	7	4	3	2	1	7	7	4	4	1	2

Lote	Fecha de Análisis/Siembra	Fecha De lectura	Bidón 1	Bidón 2
L1535ELB220413C	26/04/2013	27/04/2013	8	6
L1540ELB220413C	26/04/2013	27/04/2013	7	7
L1525ELB240413C	29/04/2013	30/04/2013	18	16
L1532ELB240413C	29/04/2013	30/04/2013	17	17
L1547ELB260413C	30/04/2013	01/05/2013	10	13
L1551ELB260413C	30/04/2013	01/05/2013	9	12
L1507ELB290413C	03/05/2013	04/05/2013	0	1
L1512ELB290413C	03/05/2013	04/05/2013	0	0
L1448ELB010513C	06/05/2013	07/05/2013	20	21
L1453ELB010513C	06/05/2013	07/05/2013	25	19
L1457ELB030513C	07/05/2013	08/05/2013	8	9
L1500ELB030513C	07/05/2013	08/05/2013	11	9
L1432ELB060513C	10/05/2013	11/05/2013	4	3
L1435ELB060513C	10/05/2013	11/05/2013	5	7
L1428ELB080513C	13/05/2013	14/05/2013	6	3
L1437ELB080513C	13/05/2013	14/05/2013	5	4
L1446ELB100513C	14/05/2013	15/05/2013	0	0
L1452ELB100513C	14/05/2013	15/05/2013	0	2
L1417ELB130513C	17/05/2013	18/05/2013	15	18
L1426ELB130513C	17/05/2013	18/05/2013	19	19
L1438ELB150513C	20/05/2013	21/05/2013	9	7
L1446ELB150513C	20/05/2013	21/05/2013	8	8
L1501ELB170513C	21/05/2013	22/05/2013	3	8
L1506ELB170513C	21/05/2013	22/05/2013	6	6
L1426ELB200513C	24/05/2013	25/05/2013	8	8
L1432ELB200513C	24/05/2013	25/05/2013	6	7
L1438ELB220513C	27/05/2013	28/05/2013	7	7
L1446ELB220513C	27/05/2013	28/05/2013	8	9
L1445ELB240513C	28/05/2013	29/05/2013	7	5
L1449ELB240513C	28/05/2013	29/05/2013	6	8
L1402ELB270513C	31/05/2013	01/06/2013	10	7
L14156ELB270513C	31/05/2013	01/06/2013	11	12
L1412ELB290513C	03/06/2013	04/06/2013	11	13
L1416ELB290513C	03/06/2013	04/06/2013	10	12
L1428ELB310513C	04/06/2013	05/06/2013	14	17
L1435ELB310513C	04/06/2013	05/06/2013	15	15

Historial de datos recopilada de mohos y levaduras en producto terminado (UFC/100ml) abril-junio 2013

Lote	Fecha de Análisis/Siembra	Fecha De lectura	Bidón 1	Bidon 2
L1535ELB220413C	26/04/2013	29/04/2013	12	15
L1540ELB220413C	26/04/2013	29/04/2013	14	17
L1525ELB240413C	29/04/2013	02/05/2013	42	40
L1532ELB240413C	29/04/2013	02/05/2013	45	47
L1507ELB290413C	03/05/2013	06/05/2013	3	1
L1512ELB290413C	03/05/2013	06/05/2013	0	2
L1448ELB010513C	06/05/2013	08/05/2013	6	7
L1453ELB010513C	06/05/2013	08/05/2013	9	11
L1432ELB060513C	10/05/2013	13/05/2013	11	12
L1435ELB060513C	10/05/2013	13/05/2013	14	13
L1428ELB080513C	13/05/2013	15/05/2013	3	4
L1437ELB080513C	13/05/2013	15/05/2013	6	8
L1417ELB130513C	17/05/2013	20/05/2013	24	23
L1426ELB130513C	17/05/2013	20/05/2013	26	27
L1438ELB150513C	20/05/2013	22/05/2013	7	9
L1446ELB150513C	20/05/2013	22/05/2013	12	10
L1426ELB200513C	27/05/2013	29/05/2013	19	22
L1432ELB200513C	27/05/2013	29/05/2013	24	21
L1438ELB220513C	27/05/2013	29/05/2013	3	5
L1446ELB220513C	27/05/2013	29/05/2013	5	6
L1402ELB270513C	31/05/2013	03/06/2013	13	11
L14156ELB270513C	31/05/2013	03/06/2013	16	14
L1412ELB290513C	03/06/2013	05/06/2013	8	9
L1416ELB290513C	03/06/2013	03/06/2013	8	7

F. de siembra	F. de Lectura	1		2		3		4		5		6		7		8		9		10	
22/04/2013	24/04/2013	0	0	3	2	0	0	1	0	90	83	72	67	53	55	67	63	36	33	7	5
24/04/2013	26/04/2013	0	0	1	1	0	0	0	0	4	7	3	5	2	3	21	26	18	15	2	4
29/04/2013	01/05/2013	0	0	2	1	1	1	4	2	56	52	38	38	35	35	42	47	20	18	3	7
01/05/2013	03/05/2013	0	0	0	0	1	0	0	0	8	5	8	9	7	7	16	14	11	12	1	0
06/05/2013	08/05/2013	0	0	0	0	0	0	0	0	48	49	41	43	37	41	53	50	29	28	4	2
08/05/2013	10/05/2013	0	0	1	0	0	0	1	2	8	9	9	11	14	13	16	18	9	9	0	1
13/05/2013	15/05/2013	0	0	1	0	0	0	2	1	62	65	37	35	31	28	35	36	17	16	1	0
15/05/2013	17/05/2013	0	0	2	1	0	1	3	1	5	6	19	20	16	15	26	29	14	10	0	0
20/05/2013	22/05/2013	0	0	0	0	0	1	3	0	85	81	75	82	85	79	110	117	55	48	8	10
22/05/2013	24/05/2013	0	0	0	0	1	0	2	0	14	17	3	2	0	1	5	8	3	2	0	0
27/05/2013	29/05/2013	0	0	0	0	0	0	2	4	33	29	67	63	56	58	72	75	41	46	4	3
29/05/2013	31/05/2013	0	0	0	1	0	0	1	0	10	13	6	8	4	5	14	12	11	5	1	1

Historial de datos recopilada de mohos y levaduras en etapas de purificación (UFC/100ml) abril-junio 2013

ANEXOS 8. PRUEBAS POST HOC PARA LA COMPARACIÓN DE MÚLTIPLES MEDIAS POR EL TEST DE DUNCAN.

TABLA A3.I. Diferencias entre las medias de las UFC/100ml de mohos y levaduras de cada etapa del proceso de purificación.

MOHOSLEV

Duncan^a

PROCESO	N	Subconjunto para alfa = .05				
		1	2	3	4	5
1	12	,00				
3	12	,21				
2	12	,58				
4	12	1,13				
10	12		9,21			
7	12		11,71	11,71		
9	12			18,00	18,00	
6	12				19,46	
5	12					28,38
8	12					29,42
Sig.		,783	,495	,088	,691	,776

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 12,000.

TABLA A5.II. Diferencias entre las medias de las UFC/100ml de coliformes totales de cada etapa del proceso de purificación.

COLIFORM

Duncan^a

PROCESO	N	Subconjunto para alfa = .05			
		1	2	3	4
1	18	,00			
2	18	,00			
3	18	,00			
4	18	,00			
10	18		3,47		
7	18		4,42		
6	18			6,64	
9	18			7,67	
5	18				10,11
8	18				11,11
Sig.		1,000	,295	,254	,267

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 18,000.

Tabla A5.III. Análisis de los subconjuntos homogéneos de las medias de las UFC/ ml de los mesófilos aerobios por etapa del proceso de purificación.

MESOFILO

Duncan^a

PROCESO	N	Subconjunto para alfa = .05		
		1	2	3
1	12	,00		
3	12	,25		
2	12	,67		
4	12	1,21		
10	12	2,67		
9	12		21,08	
7	12		28,33	28,33
6	12		31,71	31,71
5	12		34,96	34,96
8	12			40,50
Sig.		,765	,105	,156

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 12,000.